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

18+

ACTA BIOMEDICA SCIENTIFICA

East Siberian Biomedical Journal

2020

Том 5 № 5

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

18+

ACTA BIOMEDICA SCIENTIFICA

East Siberian Biomedical Journal

Том 5 **№5** **2020**

ИРКУТСК

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

Зам. главного редактора
Рычкова Л.В., член-корр. РАН (Россия, Иркутск)
Сороковиков В.А., д.м.н., профессор (Россия, Иркутск)
Щуко А.Г., д.м.н., профессор, (Россия, Иркутск)

Ответственный секретарь
Карпова Т.Г. (Россия, Иркутск)

Редакционная коллегия
Балахонов С.В., д.м.н., профессор (Россия, Иркутск)
Григорьев Е.Г., член-корр. РАН (Россия, Иркутск)
Колесникова Л.И., академик РАН (Россия, Иркутск)
Мадаева И.М., д.м.н. (Россия, Иркутск)
Малов И.В., д.м.н., профессор (Россия, Иркутск)
Муамар Аль-Джефут, доктор медицины, профессор (Иордания, Карак)
Никитенко Л.Л., д.б.н. (Великобритания. Оксфорд)
Нямдаваа П., академик Монгольской академии медицинских наук (Монголия, Улан-Батор)
Савилов Е.Д., д.м.н., профессор (Россия, Иркутск)
Такакура К., доктор наук, профессор (Япония, Токио)
Шпрах В.В., д.м.н., профессор (Россия, Иркутск)
Юрьева Т.Н., д.м.н., профессор (Россия, Иркутск)
Янагихара Р. доктор наук, профессор (США, Гавайи)

Редакционный совет

Агаджанян В.В., д.м.н., профессор (*Россия, Ленинск-Кузнецкий*); Айзман Р.И., д.б.н. (*Россия, Новосибирск*); Атшабар Б.Б., д.м.н., профессор (*Казахстан, Алматы*); Белов А.М., д.м.н., профессор (*Россия, Москва*); Белокриницкая Т.Е., д.м.н., профессор (*Россия, Чита*), Бохан Н.А., академик РАН (*Россия, Томск*); Данчинова Г.А., д.б.н. (*Россия, Иркутск*); Дзятковская Е.Н., д.б.н.. профессор (*Россия, Москва*); Дубровина В.И., д.б.н. (*Россия, Иркутск)*; Дыгай А.М. академик РАН (*Россия, Томск*); Колосов В.П., академик РАН (Россия, Благовещенск); Константинов Ю.М., д.б.н., профессор (*Россия, Иркутск*); Кожевников В.В., д.м.н., профессор (*Россия, Улан-Удэ*); Кривошапкин А.Л., член-корр. РАН. (*Россия, Москва*); Мазуцава Т., доктор наук, профессор (*Япония, 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 приведенных фактов, цитат, статистических данных и прочих сведений, а также за то, что в материалах не содержится данных, не подлежащих открытой публикации.

Мнение автора может не совпадать с мнением редакции.

Адрес издателя и редакции: 664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16. ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ.
Тел. (3952) 20-90-48.
http://actabiomedica.ru E-mail: journalirk@gmail.com

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

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

Основан в 1993 году.

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

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

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

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

Подписной индекс 24347. Цена издания свободная.
ISSN 2541-9420 (Print)
ISSN 2587-9596 (Online)

Ключевое название: Acta Biomedica Scientifica

© ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», 2020 г.
© Оригинал-макет РИО ИНЦХТ, 2020 г.

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

18+

ACTA BIOMEDICA SCIENTIFICA

East Siberian Biomedical Journal

Vol. 5 №5 2020

IRKUTSK

Chief Editor
Kolesnikov S.I., Academician of RAS (Russia, Irkutsk – Moscow)
Deputy Chief Editor
Rychkova L.V., Corresponding Member of RAS (Russia, Irkutsk)
Sorokovikov V.A., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Irkutsk)
Shchuko A.G., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Irkutsk)
Executive secretary
Karpova T.G. (Russia, Irkutsk)
Editorial board
Balakhonov S.V., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Irkutsk)
Grigoryev E.G., Corresponding Member of RAS (Russia, Irkutsk)
Kolesnikova L.I., Academician of RAS (Russia, Irkutsk)
Madaeva I.M., Dr. Sc. (Med.) (Russia, Irkutsk)
Malov I.V., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Irkutsk)
Moamar Al-Jefout, MD, Professor (Jordan, Karak)
Nikitenko L.L., Dr. Sc. (Biol.) (UK, Oxford)
Nyamdavaa P., Academician of Mongolian Academy of Sciences (Mongolia, Ulaanbaatar)
Savilov E.D., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Irkutsk)
Takakura K., MD, Professor (Japan, Tokyo)
Shprakh V.V., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Irkutsk)
Iureva T.N., Dr. Sc. (Med.), Professor (Russia, Irkutsk)
Yanagihara R., MD, Professor (USA, Hawaii)
Editorial Council
Agadzhanyan V.V., Dr. Sc. (Med.), Professor (*Russia, Leninsk-Kuznetskiy*); Aizman R.I., Dr. Sc. (Biol.) (*Russia, Novosibirsk*); Atshabar B.B., Dr. Sc. (Med.), Professor (*Kazakhstan, Almaty*); Belov A.M., Dr. Sc. (Med.), Professor (*Russia, Moscow*); Belokrinitskaya T.E., Dr. Sc. (Med.), Professor (*Russia, Chita*); Bokhan N.A., Academician of RAS (*Russia, Tomsk*); Danchinova G.A., Dr. Sc. (Biol.) (*Russia, Irkutsk*); 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 presented facts, quotations, historical data and other information; the authors are also responsible for not presenting data which are not meant for open publication.

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

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

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

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

Acta Biomedica Scientifica has been founded in 1993.

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

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

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

Two-year impact factor by Russian Science Citation Index in 2018 – 0,384.

Subscription index 24347. Free price.
ISSN (Print) 2541-9420
ISSN (Online) 2587-9596

Key title: Acta Biomedica Scientifica

© Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems, 2020
© Compart performed by Publishing Department of ISCST, 2020

СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

АКУШЕРСТВО И ГИНЕКОЛОГИЯ

Анализ структуры и динамики гинекологической заболеваемости и экстрагенитальной патологии среди сельских женщин. *Человечкова К.Д., Жербаков А.Ю., Комарова А.Е., Мануева Р.С.* 7

ДИСКУССИОННЫЕ СТАТЬИ, ЛЕКЦИИ, НОВЫЕ ТРЕНДЫ МЕДИЦИНСКОЙ НАУКИ

Происхождение митохондрий и их роль в эволюции жизни и здоровья человека. *Панов А.В., Голубенко М.В., Даренская М.А., Колесников С.И.* 12

ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ

Изучение гуморального иммунного ответа при лёгкой и бессимптомной формах проявления COVID-19. *Балахонов С.В., Дубровина В.И., Чеснокова М.В., Войткова В.В., Пятидесятникова А.Б., Брюхова Д.Д., Киселева Н.О., Корытов К.М., Кузнецова Т.Г., Маркевич Ж.В.* 26

МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ И ПАТОФИЗИОЛОГИЯ

Особенности морфометрических изменений тромбоцитов и эритроцитов у женщин с различными формами гипертензивных расстройств в III триместре беременности. *Садов Р.И., Баев Т.О., Панова И.А., Назаров С.Б., Кузьменко Г.Н.* 31

Эффекты взаимодействия белковых компонентов мембраны эритроцитов у здоровых лиц и больных язвенным колитом. *Сергеева А.С., Пивоваров Ю.И., Дмитриева Л.А., Сай О.В.* 39

НЕВРОЛОГИЯ И НЕЙРОХИРУРГИЯ

Геморрагический инсульт: нейрофизиологические предикторы острого периода. *Курепина И.С. , Зорин Р.А., Жаднов В.А., Сорокин О.А.* 47

Клинический случай хирургического лечения смежного сегмента позвоночника при спондилодезе. *Животенко А.П., Потапов В.Э., Кошкарева З.В., Сороковиков В.А.* 53

Черепно-мозговая травма и нейровоспаление: обзор основных биомаркеров. *Зудова А.И., Сухоросова А.Г., Соломатина Л.В.* 60

Электронейромиографические показатели у больных со стенозирующим процессом позвоночного канала на шейном уровне. *Ипполитова Е.Г., Дамдинов Б.Б., Кошкарева З.В., Верхозина Т.К.* 68

ОФТАЛЬМОЛОГИЯ

Кросслинкинг тонких роговиц: современное видение проблемы. Обзор литературы. *Бикбов М.М., Русакова Ю.А., Усубов Э.Л., Рахимова Э.М.* 73

OBSTETRICS AND GYNECOLOGY

Analysis of the Structure and Dynamics of Gynecological Morbidity and Extragenital Pathology in Rural Women. *Chelovechkova K.D., Zherbakov A.Yu., Komarova A.E., Manueva R.S.* 7

DISCUSSION PAPERS, LECTURES, NEW TRENDS IN MEDICAL SCIENCE

The Origin of Mitochondria and their Role in the Evolution of Life and Human Health. *Panov A.V., Golubenko M.V., Darenskaya M.A., Kolesnikov S.I.* 12

INFECTIOUS DISEASES

Studying Humoral Immune Response at Mild and Asymptomatic COVID-19 Forms. *Balakhonov S.V., Dubrovina V.I., Chesnokova M.V., Voitkova V.V., Pyatidesyatnikova A.B., Bryukhova D.D., Kiseleva N.O., Korytov K.M., Kuznetsova T.G., Markevich Zh.V.* 26

MORPHOLOGY, PHYSIOLOGY AND PATHOPHYSIOLOGY

Features of Morphometric Changes in Platelets and Red Blood Cells in Women with Various Forms of Hypertensive Disorders in the Third Trimester of Pregnancy. *Sadov R.I., Baev T.O., Panova I.A., Nazarov S.B., Kuzmenko G.N.* 31

Effects of Interaction of Protein Components of Erythrocyte Membrane in Healthy Individuals and Patients with Ulcerative Colitis. *Sergeeva A.S., Pivovarov Yu.I., Dmitrieva L.A., Sai O.V.* 39

NEUROLOGY AND NEUROSURGERY

Hemorrhagic Stroke: Neurophysiological Predictors of the Acute Period. *Kurepina I.S., Zorin R.A., Zhadnov V.A., Sorokin O.A.* 47

A Clinical Case of Surgical Treatment of the Adjacent Segment of the Spine during Fusion. *Zhivotenko A.P., Potapov V.E., Koshkareva Z.V., Sorokovikov V.A.* 53

Traumatic Brain Injury and Neuroinflammation: Review of the Main Biomarkers. *Zudova A.I., Sukhorosova A.G., Solomatina L.V.* 60

Electroneuromyographic Parameters in Patients with Stenosing Process of the Cervical Spinal Canal. *Ippolitova E.G., Damdinov B.B., Koshkareva Z.V., Verhozina T.K.* 68

OPHTALMOLOGY

Crosslinking of Thin Corneas: a Modern Vision of the Problem. Literature Review. *Bikbov M.M., Rusakova Iu.A., Usubov E.L., Rakhimova E.M.* 73

ПЕДИАТРИЯ

Оценка питания школьников и его влияние на физическое развитие и заболеваемость. *Кудреватых М.А., Шатханова Н.А.* 81

ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА

Влияние обезвоживания на развитие дисфункции эндотелия у юных спортсменов: сравнительный анализ эффективности нового медового изотонического напитка и общепринятых средств восстановления водно-электролитного баланса . *Ким В.Н., Кривулина Г.Б., Просекин Г.А.* 86

ТРАВМАТОЛОГИЯ

Восстановление функции первого пальца посредством последовательного эндопротезирования трапециепястного и пястно-фалангового суставов. *Прохоренко В.М., Александров Т.И., Симонова Е.Н.* 99

Малоинвазивный метод лечения посттравматических нарушений костного сращения большеберцовой кости. *Лебедев В.Ф., Дмитриева Л.А., Шурыгина И.А., Хазиев П.Н.* 107

PEDIATRICS

Assessment of School Nutrition and Its Impact on Physical Development and Morbidity. *Kudrevatykh M.A., Shatkhanova N.A.*

PREVENTIVE MEDICINE

The Effect of Dehydration on the Development of Endothelial Dysfunction in Young Athletes: a Comparative Analysis of the Effectiveness of a New Honey Isotonic Drink and Standard Means of Restoring Hydro-Electrolytic Balance. *Kim V.N., Krivulina G.B., Prosekin G.A.*

TRAUMATOLOGY

The Restoration of the Function of the Thumb using Sequential Arthroplasty of the Trapeziometacarpal and Metacarpophalangeal Joints. *Prokhorenko V.M., Aleksandrov T.I., Simonova E.N.*

A Minimally Invasive Method for the Treatment of Post-Traumatic Disorders of the Bone Union of the Tibia. *Lebedev V.F., Dmitrieva L.A., Shurygina I.A., Khaziev P.N.*

АКУШЕРСТВО И ГИНЕКОЛОГИЯ
OBSTETRICS AND GYNAECOLOGY

DOI: 10.29413/ABS.2020-5.5.1

Анализ структуры и динамики гинекологической заболеваемости и экстрагенитальной патологии среди сельских женщин*

Человечкова К.Д., Жербаков А.Ю., Комарова А.Е., Мануева Р.С.

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

Автор, ответственный за переписку: Человечкова Карина Дмитриевна, e-mail: karina.chelovechkova@mail.ru

Резюме

Обоснование. *Репродуктивное здоровье женщин является важным аспектом здоровья, влияющим на воспроизводство населения и его качество и имеющим первостепенное значение в поддержании стабильного развития общества, нормальной рождаемости и демографического прироста населения. Неблагоприятная ситуация в сфере репродуктивного здоровья сельских женщин требует большего внимания и углублённого социально-гигиенического и медико-демографического изучения.*

Цель исследования. *Изучить структуру и динамику гинекологической заболеваемости сельских женщин на примере Эхирит-Булагатского района Иркутской области за 2015–2019 гг., а также экстрагенитальной патологии среди беременных женщин.*

Материалы и методы. *Проведён анализ структуры и динамики гинекологической заболеваемости женщин (n = 1044), а также экстрагенитальной патологии беременных (n = 1314) в ОГБУЗ «Областная больница № 2» посёлка Усть-Ордынский за 2015–2019 годы. Статистическая обработка данных осуществлялась с использованием стандартных методик.*

Результаты. *Гинекологическая заболеваемость женского населения в данном сельском районе за период с 2015 по 2019 гг. имела тенденцию к повышению. Была исследована связь между данным ростом и полнотой охвата населения диспансеризацией. Так, корреляционная связь между гинекологической заболеваемостью и охватом диспансеризацией женского населения прямая, сильная и статистически значимая (r_{xy} = 0,963; p > 99 %). В структуре экстрагенитальной патологии беременных женщин особое место занимают анемии, заболевания эндокринной системы.*

Заключение. *Чем больше процент охвата диспансеризацией женского населения, тем выше показатель гинекологической заболеваемости. В структуре гинекологической заболеваемости сельских женщин на первом месте стоят эрозии, на втором – эндометриоз, на третьем – миома матки. В структуре экстрагенитальной патологии среди беременных преобладают анемии, заболевания щитовидной железы, сахарный диабет. Полученные данные свидетельствуют о необходимости дифференцированного лечебно-диагностического подхода к ведению беременности, а также о разработке и внедрении комплексных программ, направленных на формирование репродуктивного здоровья.*

Ключевые слова: *гинекологическая заболеваемость, эктрагенитальная патология, структура, динамика, сельские женщины*

Для цитирования: Человечкова К.Д., Жербаков А.Ю., Комарова А.Е., Мануева Р.С. Анализ структуры и динамики гинекологической заболеваемости и экстрагенитальной патологии среди сельских женщин. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(5): 7-11. doi: 10.29413/ABS.2020-5.5.1

Analysis of the Structure and Dynamics of Gynecological Morbidity and Extragenital Pathology in Rural Women

Chelovechkova K.D., Zherbakov A.Yu., Komarova A.E., Manueva R.S.

Irkutsk State Medical University (Krasnogo Vosstaniya str. 1, Irkutsk 664003, Russian Federation)

Corresponding author: Karina D. Chelovechkova, e-mail: e-mail: karina.chelovechkova@mail.ru

Abstract

Background. The reproductive health of women is an important aspect of health that affects the reproduction of the population and its quality and is of great importance in maintaining the stable development of society, normal fertility and demographic growth of the population. The unfavorable situation concerning reproductive health of rural women requires more attention and detailed socio-hygienic and medico-demographic study.

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

Aim of the research. *To study the structure and dynamics of gynecological morbidity in rural women on the example of women living in Ekhirit-Bulagatsky district of the Irkutsk region over a period of 2015–2019, and of extragenital pathology in pregnant women.*

Materials and methods. *The analysis of the structure and dynamics of gynecological morbidity in women (n = 1044), and of extragenital pathology in pregnant women (n = 1314) was carried out in the Regional Hospital N 2 of the Ust-Ordynsky settlement in 2015–2019. Statistical data processing was carried out using standard techniques.*

Results. *Gynecological morbidity in the female population in this rural area over a period from 2015 to 2019 tended to increase. The relationship between this growth and the coverage of the population with preventive medical examination was studied. The correlation between these factors is direct, strong and statistically significant (r_{xy} = 0.963; p > 99 %). In the structure of extragenital pathology of pregnant women, anemias and diseases of the endocrine system occupy a special place.*

Conclusion. *The greater the percentage of female population covered by preventive medical examination, the higher the rate of gynecological morbidity. In the structure of gynecological morbidity in rural women, erosion is in the first place, endometriosis is in second, and uterine myoma is in third. In the structure of extragenital pathology among pregnant women, anemia, thyroid diseases, and diabetes mellitus prevail. The results indicate the need for a differentiated treatment and diagnostic approach to the management of pregnancy, as well as the development and implementation of comprehensive programs aimed at the formation of reproductive health.*

Key words: *gynecological morbidity, extragenital pathology, structure, dynamics, rural women*

For citation: Chelovechkova K.D., Zherbakov A.Yu., Komarova A.E., Manueva R.S. Analysis of the Structure and Dynamics of Gynecological Morbidity and Extragenital Pathology in Rural Women. *Acta biomedica scientifica.* 2020; 5(5): 7-11. doi: 10.29413/ABS.2020-5.5.1

АКТУАЛЬНОСТЬ

Репродуктивное здоровье женщин является важным аспектом здоровья, влияющим на воспроизводство населения и его качество и имеющим первостепенное значение в поддержании стабильного развития общества, нормальной рождаемости и демографического прироста населения. Болезни репродуктивной системы женщин представлены в основном воспалительными заболеваниями, расстройствами менструаций, бесплодием [1].

Причинами снижения рождаемости могут являться гинекологические заболевания, подростковые беременности, а на рождение недоношенных детей может повлиять возраст матери и особенности некоторых социально-бытовых факторов [2]. Состояние здоровья женщин имеет свои отличительные черты, связанные с их репродуктивной функцией, особенностями быта, труда, семейного и социального статуса, а также физиологическими и иммунологическими особенностями организма [3].

Проблема гинекологических заболеваний широко распространена во всём мире, что не может не волновать акушеров-гинекологов разных стран и людей, исследующих заболеваемость женщин. Например, в зарубежном журнале «Journal of Women›s Health Care» была исследована распространённость гинекологических заболеваний в мире среди женщин репродуктивного возраста. Распространённость пролапса тазовых органов составила 13 %, бесплодия – 8 %, инфекций половых путей – 38 %, нарушений менструального цикла – 28 %. Распространённость общей гинекологической заболеваемости составила 22 % [4].

На рост гинекологической заболеваемости могут влиять раннее начало половой жизни, недостаточное сексуальное просвещение населения, игнорирование средств контрацепции [1]. Также актуальным является сохранение здоровья девочек-подростков, так как нарушения специфических функций организма взрослой женщины во многом формируются в подростковом и детском возрастах [5].

Не менее важное значение имеют экстрагенитальные патологии беременных женщин, такие как анемия, сахарный диабет, гипертензия, которые могут негативно повлиять на развитие плода и течение беременности [6].

В подавляющем большинстве случаев во время беременности течение уже имеющихся экстрагенитальных патологий ухудшается и прогрессирует. Это связано с иммунной перестройкой материнского организма и изменениями в эндокринной регуляции, а также с увеличением потребления железа женским организмом. У 14–32 % женщин экстрагенитальные патологии являются причиной осложнённого течения беременности и родов [7].

Известно, что на вероятность развития врождённой патологии у плода может влиять возраст матери. В современной России процент позднего деторождения растёт: если менее 20 лет назад процент деторождения среди женщин до 25 лет составлял 60 %, то к 2017 г. он упал на 45 %. Данная неблагоприятная ситуация в сфере репродуктивного здоровья населения требует большего внимания и углублённого социально-гигиенического и медико-демографического изучения [6, 8].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить структуру и динамику гинекологической заболеваемости сельских женщин на примере Эхирит-Булагатского района Иркутской области за период с 2015 по 2019 гг., а также экстрагенитальной патологии среди беременных женщин.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Использовался метод выкопировки данных из амбулаторных карт (ф. 025/у) пациенток ОГБУЗ «Областная больница № 2» посёлка Усть-Ордынский за 2015–2019 годы (n = 1044). Проведён анализ структуры и динамики гинекологической заболеваемости. Также были использованы сведения о диспансеризации определённых групп женского населения. При анализе структуры и динамики экстрагенитальной патологии беременных использовались «Индивидуальные карты беременной и родильницы» (ф. 111/у) за 2017–2019 год (n = 1314).

Статистическая обработка данных осуществлялась с использованием стандартных методик. Расчёт коэффициента линейной корреляции проводился по Пирсону (метод квадратов). Статистическая значимость коэффициента корреляции оценивалась по таблице «Стандартные коэффициенты корреляции» (по Л.С. Каминскому). Также применялся параметрический метод (t-критерий Стьюдента). Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез в данном исследовании $p < 0{,}01$. Статистическая обработка данных проводилась с помощью программы Microsoft Office Excel 2010.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Гинекологическая заболеваемость женского населения в Эхирит-Булагатском районе Иркутской области за период с 2015 по 2019 годы имела тенденцию к повышению. Выявлена прямая корреляционная зависимость между полнотой диспансеризации женщин в исследуемом районе и частотой встречаемости гинекологических нозологических форм, что свидетельствует о том, что данная мера необходима для сохранения женского здоровья, своевременного выявления и лечения различных патологий.

При анализе структуры и динамики заболеваемости по отдельным, наиболее встречающимся нозологическим формам выявлено следующее: наиболее встречающейся патологией, определяющейся у женщин, стали эрозии. Их причиной являются увеличение распространённости инфекционных заболеваний, гормональный дисбаланс, несоблюдение правил личной гигиены. Частота встречаемости с каждым годом увеличивалась: так, с 2015 по 2018 гг. она выросла на 96 %, затем к 2019 г. незначительно снизилась на 8 % (рис. 1).

Второй по встречаемости патологией является эндометриоз, главной причиной которого является рост нарушений гормонального фона у женщин. На протяжении всех пяти лет прослеживаются высокие темпы роста данной патологии, достигая своего максимального значения в 2019 году.

На третьем месте по встречаемости находится миома матки – доброкачественная опухоль, которая развивается в результате нарушения соотношения эстрогена и прогестерона, в обнаружении которой важную роль играют профилактические осмотры женщин. В течение 5 лет рост данной патологии также вырос: в 2015 г. зарегистрировано 30 случаев, в 2019 г. – 45 случаев.

Рост каждой описанной нами патологии подчиняется определённой закономерности – с каждым годом (с 2015 по 2019 гг.) её частота растёт. Нами была исследована связь между данным ростом и полнотой охвата населения данного района диспансеризацией. Так, корреляционная связь прямая, сильная и статистически значимая (r_{xy} = 0,963; p > 99 %), что соответствует высокой тесноте связи между гинекологической заболеваемостью и охватом женщин диспансеризацией. Критическое значение t-критерия находили по таблице «Критические значения t-критерия Стьюдента», где при числе степеней свободы f = 3 и уровне значимости p = 0,01 значение $t_{крит}$ = 5,84. Таким образом, рассчитанное значение t_r (5,95) больше $t_{крит}$ (5,84), следовательно, данная корреляционная связь является статистически значимой (p < 0,01).

В структуре экстрагенитальной патологии беременных женщин в Эхирит-Булагатском районе Иркутской области лидирующее положение занимали анемии (рис. 2). Частота обнаружения данной патологии достигла максимального значения в 2018 г. (38,8 на 100 беременных), а к 2019 г. снизилась лишь на 9,54 %. Возрастание случаев заболевания анемией может быть связано с утилизацией железа на нужды фетоплацентарного комплекса, а также повышенным расходом железа, направленным на увеличение массы циркулирующих эритроцитов. Также имеют значение: снижение содержания железа в пище; недостаток витаминов, необходимых для усвоения железа; частые роды с короткими интервалами между беременностями; ранние гестозы, препятствующие всасыванию в ЖКТ элементов, необходимых для кроветворения; загрязнение окружающей среды химическими веществами; пестициды; высокая минерализация питьевой воды, препятствующая усвоению железа из пищевых продуктов [9]. В качестве профилактики беременные должны полноценно питаться и своевременно принимать препараты железа и поливитаминные комплексы, оплачиваемые по родовым сертификатам.

Немаловажную роль в патологиях беременных играет дисфункция щитовидной железы, достигающая максимального значения (19,8 на 100 беременных) в 2017 г. Повышение заболеваемости эндокринной системы происходит за счёт соблюдения приказа МЗ РФ № 572н у беременных, вставших на учёт: 100% обследование на гормоны щитовидной железы, а при отклонениях от нормативных значений – УЗИ щитовидной железы, консультация эндокринолога с назначением лечения. Это очень важно, так как Иркутская область относится к территориям, эндемичным по дефициту йода. В очагах зобной эндемии развитие железодефицитной анемии имеет причинную связь с дефицитом йода, при этом отме-

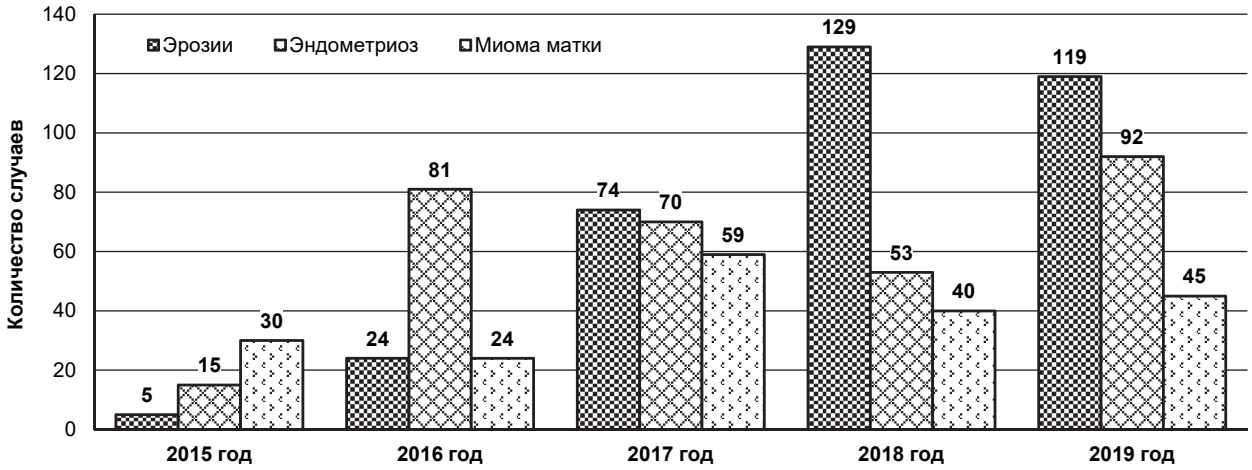


Рис. 1. Динамика гинекологической заболеваемости.
Fig. 1. Dynamics of gynecological morbidity.

Рис. 2. Экстрагенитальная патология женщин в период беременности (на 100 беременных).
Fig. 2. Extragenital pathology in pregnant women (per 100 pregnant women).

чено, что сочетание анемии с дисфункцией щитовидной железы наиболее неблагоприятно как для матери, так и для плода [6].

Частота обнаружения сахарного диабета у беременных достигла максимального значения 17,5 на 100 беременных в 2018 г. Важно, что риски и осложнения для плода и будущей матери можно предупредить, если поддерживать сахар в пределах нормы, поэтому для всех беременных женщин обязательно проведение глюкозотолерантного теста (ГТТ).

Также к наиболее часто встречающимся экстрагенитальным патологиям у беременных относятся заболевания почек (максимальное значение – 12,1 на 100 беременных в 2018 г.) и сердечно-сосудистой системы (максимальное значение – 0,8 на 100 беременных в 2017 г.).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в ходе нашего исследования показано следующее: чем больше процент охвата диспансеризацией женского населения, тем больше и информативнее показатель гинекологической заболеваемости. Именно путём увеличения охвата диспансеризацией активно выявляются и лечатся гинекологические заболевания, так как не каждая женщина обращается за помощью к врачу, и большинство патологий протекают в бессимптомной форме. В структуре гинекологической заболеваемости женщин Эхирит-Булагатского района первое место занимают эрозии, второе – эндометриоз, третье – миома матки. В структуре экстрагенитальной патологии среди беременных женщин преобладают (по мере убывания) анемии, заболевания щитовидной железы, сахарный диабет. Важно своевременно выявлять данные заболевания и лечить их, так как состояние здоровья женщины во время беременности во многом определяет здоровье ребёнка. Полученные данные свидетельствуют о необходимости дифференцированного лечебно-диагностического подхода к ведению беременности у женщин, а также о разработке и внедрении комплексных медико-социальных программ, направленных на формирование репродуктивного здоровья.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Боева А.В. Заболеваемость населения Иркутской области, влияющая на становление и реализацию репродуктивной функции и здоровье потомства. *Сибирский медицинский журнал (Иркутск)*. 2014; (7): 90-94.

2. Мамедова У.К. *Распространенность и структура гинекологический заболеваний у детей и подростков республики Дагестан:* автореф. дис. …. канд. мед. наук. 2011.

3. Низамова Э.Р. Медико-социальные факторы, влияющие на возможность рождения недоношенного ребенка. *Социальные аспекты здоровья населения*. 2017; (1). URL: http://*vestnik*.mednet.ru/content/view/808/30/lang,ru. doi: 10.21045/2071-5021-2017-53-1-9

4. Dheresa M, Assefa N, Berhane Y, Worku A, Mingiste B, Dessie Y. Gynecological morbidity among women in reproductive age: A systematic review and meta-analysis. *J Womens Health*. 2017; 6: 1-11. doi: 10.4172/2167-0420.1000367

5. Курбатова А.В., Егорова А.Т. Репродуктивное здоровье девочек-подростков. *Сибирское медицинское обозрение*. 2009; (2): 9-13.

6. Ведищев С.И., Жирняков А.И., Иванова А.А. Аспекты репродуктивного здоровья женщин. *Вестник Тамбовского университета. Серия: Естественные и технические науки*. 2013; 18(6-2): 3289-3291.

7. Шехтман М.М. *Руководство по экстрагенитальной патологии у беременных*. М.: Триада-Х; 2007.

8. Стародубов В.И., Суханова Л.П. *Репродуктивные проблемы демографического развития России*. М.: ИД «Менеджер здравоохранения»; 2012.

9. Протопопова Т.А. Железодефицитная анемия и беременность. *Русский медицинский журнал*. 2012; 20(17): 862-866.

REFERENCES

1. Boeva AV. Morbidity of the population of the Irkutsk region, affecting the formation and implementation of reproductive function and health of the offspring. *Siberian Medical Journal (Irkutsk)*. 2014; (7): 90-94. (In Russ.)

2. Mamedova UK. *Prevalence and structure of gynecological diseases in children and adolescents of the Republic of Dagestan*: Abstract of the Dissertation of Cand. Sc. (Med.). 2011. (In Russ.)

3. Nizamova ER. Medical and social factors affecting possibility of preterm baby birth. *Social Aspects of Population Health*. 2017; (1). doi: 10.21045/2071-5021-2017-53-1-9. (In Russ.)

4. Dheresa M, Assefa N, Berhane Y, Worku A, Mingiste B, Dessie Y. Gynecological morbidity among women in reproductive age: A systematic review and meta-analysis. *J Womens Health*. 2017; 6: 1-11. doi: 10.4172/2167-0420.1000367

5. Kurbatova AV, Egorova AT. Reproductive health of adolescent girls. *Sibirskoe meditsinskoe obozrenie*. 2009; (2); 9-13. (In Russ.)

6. Vedishchev SI, Zhirnyakov AI, Ivanova AA. Aspects of female reproductive health. *Tambov University Reports. Series: Natural and Technical Sciences*. 2013; 18(6-2): 3289-3291. (In Russ.)

7. Shekhtman MM. *Guide to extragenital pathology in pregnant women*. Moscow: Triada-X; 2007. (In Russ.)

8. Starodubov VI, Sukhanova LP. *Reproductive problems of the demographic development of Russia*. Moscow: ID «Menedzher zdravookhraneniya»; 2012. (In Russ.)

9. Protopopova TA. Iron deficiency anemia and pregnancy. *Russian Medical Journal*. 2012; 20(17): 862-866. (In Russ.)

Сведения об авторах

Человечкова Карина Дмитриевна – студентка, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: karina.chelovechkova@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-1512-7509

Жербаков Александр Юрьевич – студент, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: zherbakovs@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-6136-0067

Комарова Александра Евгеньевна – студентка, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: sashagame1989@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-8283-0467

Мануева Руслана Сократовна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры общей гигиены, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: manueva-r@mail.ru, https://orcid.org/ 0000-0002-5937-1469

Information about the authors

Karina D. Chelovechkova – student, Irkutsk State Medical University, e-mail: karina.chelovechkova@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-1512-7509

Alexander Yu. Zherbakov – student, Irkutsk State Medical University, e-mail: zherbakovs@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-6136-0067

Alexandra E. Komarova – student, Irkutsk State Medical University, e-mail: sashagame1989@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-8283-0467

Ruslana S. Manueva – Cand. Sc. (Med), Associate Professor at the Department of General Hygiene, Irkutsk State Medical University, e-mail: manueva-r@mail.ru, https://orcid.org/ 0000-0002-5937-1469

Статья получена: 10.06.2020. Статья принята: 02.10.2020. Статья опубликована: 26.10.2020.
Received: 10.06.2020. Accepted: 02.10.2020. Published: 26.10.2020.

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

DOI: 10.29413/ABS.2020-5.5.2

Происхождение митохондрий и их роль в эволюции жизни и здоровья человека

Панов А.В. [1], Голубенко М.В. [2], Даренская М.А. [1], Колесников С.И. [1]

[1] ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16, Россия); [2] Научно-исследовательский институт медицинской генетики ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук» (634050, г. Томск, ул. Набережная реки Ушайки, 10, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Панов Александр Васильевич, e-mail: alexander.panov55@gmail.com

Резюме

Изучение многих медико-биологических проблем характеризуется явной недооценкой фундаментальной роли митохондрий в эволюции практически всех эукариотических организмов на планете, включая грибы, растения и животный мир. Тем более важно учитывать фундаментальные и разносторонние функции митохондрий при изучении физиологии и патологии человека, механизмов старения. В данной лекции мы коротко рассматриваем происхождение митохондрий, их роль в возникновении растений, которые появились на планете на 1–1,5 миллиарда лет позднее эукариот с митохондриями, и послужили пищевой основой для бурной эволюции всех видов животного мира. В ходе превращения протобактерии в митохондрию примерно 1000–1500 генов было передано в ядро эукариот, а оставшиеся в мтДНК 37 генов присутствуют практически у всех видов животных. Появление митохондрий у эукариот привело к повышению продукции активных форм кислорода и ускорению мутаций мтДНК. Предполагается, что появление полового размножения в ходе эволюции явилось способом защиты от накопления вредных мутаций в популяции. При этом у всех видов животных мтДНК наследуется только по материнской линии. У человека материнская наследуемость мтДНК привела к более частому проявлению, особенно в малых, или инбредных популяциях, ряда болезней по мужской линии, мужскому бесплодию, а также ускоренному старению и более короткой продолжительности жизни, в сравнении с женщинами. Эти негативные следствия наследуемости мтДНК по материнской линии привели к появлению термина «материнское проклятие». Недавние исследования показали, что мутации мтДНК не являются причиной старения человека. Кризис митохондриальной радикальной теории старения связан с тем, что долгое время не учитывалась роль протонированной формы супероксидного радикала – пергидроксильного радикала, который активирует перекисное окисление полиненасыщенных жирных кислот в составе фосфолипидов. Это сопровождается образованием разнообразных биологически активных молекул и токсинов. Поэтому старение может не сопровождаться специфической симптоматикой именно из-за постепенного накопления самых разных нарушений и повреждений структуры и функций митохондрий. В конце концов это приводит к развитию явных патологий в первую очередь в тех органах, которые имеют большой диапазон функциональной активности и высокую зависимость от потребления кислорода, а именно в сердце, мозге, скелетных мышцах и в эндотелии сосудов.

Ключевые слова. *митохондрии, старение, эволюция, митохондриальная ДНК, «материнское проклятие», гендерные различия, метаболизм*

Для цитирования: Панов А.В., Голубенко М.В., Даренская М.А., Колесников С.И. Лекция 2. Происхождение митохондрий и их роль в эволюции жизни и здоровья человека. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 12-25. doi: 10.29413/ABS.2020-5.5.2

The Origin of Mitochondria and their Role in the Evolution of Life and Human Health

Panov A.V. [1], Golubenko M.V. [2], Darenskaya M.A. [1], Kolesnikov S.I. [1]

[1] Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (Timiryaseva str. 16, Irkutsk 664003, Russian Federation); [2] Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center of the Russian Academy of Sciences (Naberezhnaya Ushaiki str. 10, Tomsk 634050, Russian Federation)

Corresponding author: Alexander V. Panov, e-mail: alexander.panov55@gmail.com

Abstract

In studies of many medical and biological problems, there is a clear underestimation of the fundamental role of mitochondria in the evolution of eukaryotic organisms on the planet, including fungi, plants and fauna. It is important

to take into consideration numerous fundamental functions of mitochondria when studying the human physiology and pathology, aging mechanisms. In this lecture, we briefly discuss the origin of mitochondria and their importance in the emergence of plants, which appeared on the planet 1–1.5 billion years later than eukaryotes with mitochondria, and served as the food basis for the rapid evolution of all species of the animal world. In the course of transformation of protobacteria into mitochondria, approximately 1000–1500 genes were transferred to the nucleus of eukaryotes, and the remaining 37 mitochondrial genes (mtDNA) exist in all types of animals. The presence of mitochondria in eukaryotes led to increased production of reactive oxygen species and accelerated mutations in mtDNA. The spread of sexual reproduction may have been the way of protection against the accumulation of harmful mutations in mtDNA. At the same time, in all animal species mtDNA is inherited only maternally. In humans, the maternal inheritance of mtDNA led to uneven distribution, in small or inbred populations in particular, of a number of diseases with large prevalence in men, as well as male infertility, and in general accelerated aging and shorter lifespan in men, as compared with women. These negative consequences of the maternal inheritance of mtDNA were termed as "mother's curse". Recent studies have shown that mtDNA mutations are not the cause of human aging. The crisis of the mitochondrial free radical theory of aging is largely associated with the neglect of the protonated form of the superoxide radical, the perhydroxyl radical, which activates the peroxidation of polyunsaturated fatty acids in mitochondrial phospholipids. This results in production of various biologically active molecules and toxins. Therefore, initially aging may lack the manifestation of specific symptoms because of gradual accumulation of a wide variety of disorders and damages to the structure and functions of mitochondria and cells that finally lead to the development of diseases. The pathologies appear primarily in those organs that have a wide range of functional activity and a high dependence on oxygen consumption, namely the heart, brain, skeletal muscles and vascular epithelium.

Key words: *mitochondria, aging, evolution, mitochondrial DNA, mother's curse, gender differences, metabolism*

For citation: Panov A.V., Golubenko M.V., Darenskaya M.A., Kolesnikov S.I. Lecture 2. The Origin of Mitochondria and their Role in the Evolution of Life and Human Health. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(6): 12-25. doi: 10.29413/ABS.2020-5.5.2

ВВЕДЕНИЕ

Изучение молекулярной биологии митохондриальной ДНК (мтДНК) играет огромную роль в понимании эволюции жизни на Земле, включая грибы, растения и другие формы жизни, и, естественно, метаболических процессов в организме животных и человека, его старении и возникновении большинства болезней.

В этой лекции в качестве путеводной нити мы будем во многом опираться на работы известного учёного Дугласа Валласа (Douglas C. Wallace) – одного из создателей митохондриальной медицины и во многом первооткрывателя многих аспектов генетики митохондрий [1, 2, 3, 4, 5, 6]. Работы Валласа отличаются очень глубоким, даже философским пониманием роли мтДНК не только в медицинском аспекте, но и роли митохондрий в адаптации человека к окружающей среде, и как с помощью изучения мтДНК можно проследить пути миграций древних людей по планете.

Именно этим фундаментальным аспектам мы уделим больше внимания, особенно описанию роли мтДНК в приспосабливаемости, или адаптации (в англоязычной литературе для этого понятия часто используется слово «fitness», которое в данном контексте имеет значение «во всех отношениях соответствовать условиям среды обитания и поддержания здоровья») человека к разным климатическим регионам Земли. Климатические зоны отличаются друг от друга не только температурой и сезонными изменениями климата, но и определяют состав и доступность пищи, определяющей метаболические и даже психологические аспекты адаптации. Например, людоедство, в течение долгого времени распространённое на островах тропической зоны, могло быть вызвано не злобным характером аборигенов, а недостатком белковой пищи.

Такая адаптация может быть обусловлена в том числе и мутациями мтДНК, в результате которых группы генов мтДНК коренного населения разных климатических зон планеты приобрели ряд устойчивых отличий, отражённых в филогении мтДНК человека в виде «гаплогрупп». Мы также обсудим такой фундаментальный вопрос, как и почему протомитохондрии передали свои гены в хромосомы ядра, и почему мтДНК у эукариот и большинства видов животного мира, включая млекопитающих, и даже у растений передаётся потомству по женской линии. Эти вопросы не просто академические, они имеют огромное значение для понимания физиологии человека, возникновения болезней и механизмов старения. К сожалению, в наше время многие исследователи недооценивают фундаментальную роль митохондрий для феномена многоклеточной жизни и эволюции. Обычно считается, что митохондрии, это просто источник аденозинтрифосфат (АТФ), многие добавляют такие функции, как апоптоз и митофагию. Но это далеко не всё. Без митохондрий не было бы вообще никакой эволюции сложной жизни на Земле, включая растительную. Мы ещё не всё знаем о митохондриях, особенно их роли в физиологии человека. Доказано, что митохондрии являются главным источником в организме не только энергии в разных её формах, но и активных форм кислорода (АФК), которые вызывают старение и дисфункции митохондрий. Мутации митохондриальной ДНК приводят к развитию тяжёлых наследственных болезней и болезней старческого возраста [1, 2, 3, 4, 5, 6]. При этом патологии, связанные с дисфункциями митохондрий, имеют значительный половой перекос [3, 4, 5]. И даже само появление полового размножения может быть связано с наличием в клетках митохондрий. Недавно была выдвинута гипотеза, что образование свободных радикалов митохондриями было одной из важных причин возникновения полов [7]. А без секса не было бы любви, и жизнь в любом виде была бы не такой интересной.

В этой и последующих лекциях мы попытаемся ознакомить читателя, хотя бы коротко, с самыми последними событиями, которые произошли и продолжают происходить в митохондриологии. Однако начнём мы «от печки», то есть вкратце рассмотрим происхождение митохондрий. Это необходимо по нескольким причинам. Во-первых, многие белки, исполняющие роль ферментов или мембранных переносчиков, были почти без изменений не только уже у самых первых протобактерий, и в наше время они работают во всех живых организмах, имеющих митохондрии. Во-вторых, многие свойства ми-

тохондрий, такие как чувствительность к антибиотикам, состав фосфолипидов и их образование, напоминают о бактериальном прошлом митохондрий. Это важно помнить, поскольку более чем в 90 % всех публикаций о свойствах культивируемых клеток, авторы использовали и продолжают использовать антибиотики, обычно смесь пенициллина и стрептомицина, которые «убивают» главную дыхательную функцию митохондрий. Поэтому не понятно, что эти авторы изучают. В-третьих, многие свойства, такие, как наследуемость митохондриальной ДНК по женской линии, есть не только у человека и животных, но и у растений. И, наконец, это нужно для того, чтобы понять, как и почему митохондрии играют фундаментальную роль во всех процессах, происходящих в клетке, включая метаболизм, старение и смерть клетки. Ведь митохондрии обмениваются с ядром генетическим материалом, образуя псевдогены [8]; в цикле трикарбоновых кислот (ЦТК), или цикле Кребса, происходит пересечение основных метаболических путей: катаболизм или анаболизм углеводов, анаплеротическое образование аминокислот и липидов; митохондрии постоянно образуют АФК, что приводит к нарушениям функции самих митохондрий, мутациям мтДНК и нарушениям функциям клеток, и инициируют процесс старения.

ПРОИСХОЖДЕНИЕ МИТОХОНДРИЙ

Жизнь возникла на нашей планете несколько миллиардов лет назад, хотя есть указания и на то, что она могла быть «занесена» с метеоритами задолго до появления атмосферы с достаточно высоким содержанием кислорода. В пользу этого говорят сравнительно недавние открытия, которые показали, что многие ферменты представляют собой молекулярные машины, структура которых сложна и настолько совершенна, что невозможно удалить ни одного элемента без потери функции. Появилось понятие «несократимая сложность» (irreducible complexity) [9, 10]. Существование таких машин исключает, только в данном случае, эволюцию от простого к сложному. Кроме того, эти машины могут работать, только будучи встроенными в фосфолипидные мембраны. Оказалось, что многие фосфолипиды мембран, например, кардиолипин, фосфатидилсерин, очень древние. Эти машины, а их сотни, и фосфолипиды существовали уже у самых первых организмов на едва остывшей планете, которыми были хемотрофы и несколько позднее протобактерии. Более того, многие молекулярные машины, например, АТФ-синтаза, практически без изменений со времени самых первых организмов, существуют в наше время абсолютно во всех аэробных организмах и растениях, а фосфолипиды – абсолютно во всех организмах, включая анаэробные бактерии и дрожжи. Впрочем, хотя и существует достоверная научная литература, в России и за рубежом официальная наука об эволюции жизни на планете старательно обходит эту тему.

Примерно 3,7–3,8 миллиарда лет назад, когда Земля немного остыла, небо прояснилось от дыма вулканов, а вода сконденсировалась в мелкие океаны и моря, в тёплой воде океанов появились фотосинтезирующие организмы. Кислородный фотосинтез возник у цианобактерий около трёх миллиардов лет назад. Колонии нитчатых сине-зелёных водорослей формировали большие, похожие на кораллы, образования – строматолиты. Кстати, похожие процессы происходят и в наше время. В поисковиках на слово «строматолит» можно найти много интересного.

Содержание O_2 в атмосфере росло очень медленно, поскольку первые сотни миллионов лет бóльшая часть его расходовалась на окисление железа и других металлов, находившихся на поверхности суши и в воде океанов. Жизнь существовала только в воде из-за того, что на суше всё живое погибало от жёсткого ультрафиолетового излучения солнца. Со временем, в воде океанов появились органические соединения, бактерии и одноклеточные водоросли и протоклетки, которые стали началом пищевой цепочки для более сложных организмов. Среди этой «живности» появились α-протобактерии, которые получали энергию путём окисления органики с помощью кислорода, и протоклетки, которые имели, возможно ещё не сформировавшееся полностью, ядро. Некоторые авторы полагают, что протокариоты получали энергию за счёт гликолиза. Но откуда появлялась глюкоза? Очевидно, что протокариоты использовали органические молекулы, водоросли и протобактерии в качестве пищи. Они были хищниками и/или скавенджерами, и энергию получали, по-видимому, за счёт переваривания поглощённых эндоцитозом бактерий и клеток, живых и мёртвых. Примерно 2–3 миллиарда лет назад некоторые из протоклеток не смогли быстро «переварить» α-протобактерию, и они начали «жить» вместе, то есть произошёл симбиоз. Так возникли эукариоты [11].

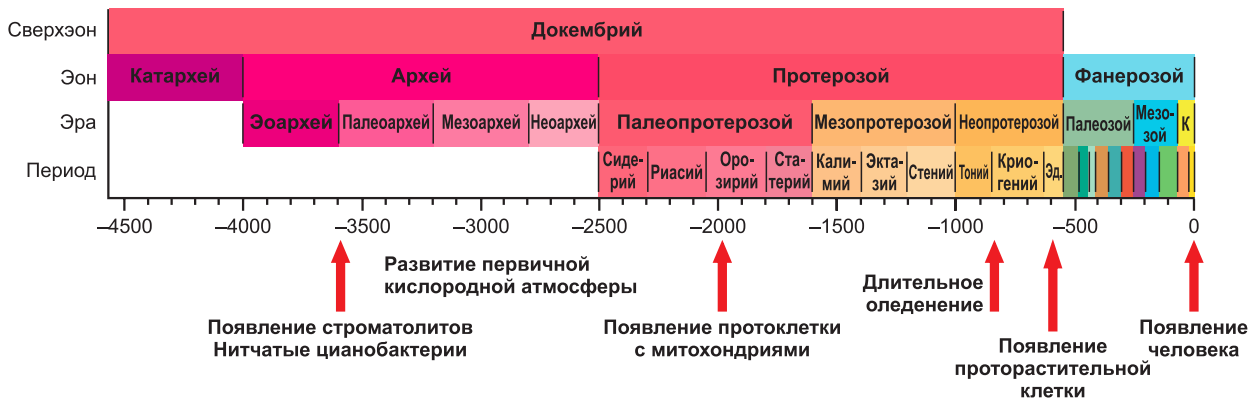


Рис. 1. Временная шкала эволюции жизни на Земле.
Fig. 1. Timeline of evolution of life on the Earth.

Эта теория сериального эндосимбиоза долгое время оставалась наиболее популярной гипотезой возникновения митохондрий. Она была основана на предположении, что альфа-протобактериальный симбионт был захвачен протоэукариотом с ядром. Однако данные секвенирования, полученные в конце прошлого века, предположили несколько другой сценарий возникновения митохондрий. B.F. Lang et al. (1999) исследовали геномы протистов, то есть современных эукариот, которые не входят в состав животных, грибов и растений, и которых относят к наиболее близким потомкам общего предка (так называемая парафилетическая группа одноклеточных организмов). Авторы пришли к выводу, что у различных линий протистов наблюдается чрезвычайно большое разнообразие митохондриального генома со значительно бóльшим числом генов, чем у современных эукариот. Одновременно эти данные указывают на то, что митохондрии, наследники эндосимбиоза α-протобактерии, в ходе эволюции возникли только единожды.

Скорее всего, возникновение митохондрий совпало по времени с началом образования ядра и способствовало возникновению у эукариотной клетки-хозяина ядерного и митохондриального геномов [12, 13, 14]. Эти данные проливают свет на возможные механизмы того, каким образом за сотни миллионов лет симбиоза α-протобактерия под влиянием отбора «передала» в хромосомы клетки-хозяина примерно 1000–1500 генов, оставив себе около 37 генов, и стала митохондрией [3, 15]. Симбиоз протоклетки и α-протобактерии оказался намного эффективнее в получении энергии и возможностях метаболизма, чем у других протоклеток. Это позволило эукариотам не только выживать, но и стимулировало эволюцию многоклеточных организмов, которая происходила исключительно в водной среде и была сравнительно медленной. Главная причина была в недостатке пищи, что было связано, скорее всего, с низким содержанием кислорода в атмосфере, хотя в воде концентрация кислорода несколько выше. Взрыв эволюции начался, когда появилась растительная клетка – примерно через 1–1,5 миллиарда лет от момента появления эукариот с митохондриями. Генетические исследования протистов показали, что это, второе, эпохальное событие в эволюции жизни, видимо также произошло только один раз.

В ходе изучения генетики живущих в наше время глаукофитов (glaucophyte) – одной из 13 групп микроскопических пресноводных зелёных водорослей, называемых «живые ископаемые», международной группой учёных под руководством молекулярного биолога Dana Price была изучена эволюционная история растений [16].

Глаукофит *Cyanophora paradoxa* до наших дней сохранил версию изначальной цианобактерии. Согласно анализу, геном *C. paradoxa* состоит из 70 миллионов пар оснований, и, по-видимому, «захват» произошёл только однажды, поскольку все современные растения содержат гены, которые делают возможным слияние фотосинтезатора и более крупной клетки-хозяина. Этот союз потребовал кооперации не только «хозяина» и прежнего свободного фотосинтезатора, но очевидно также бактериального паразита, типа хламидии, жившего в клетке-хозяине, и все три участника предоставили гены, которые обеспечили передачу пищевых молекул от доместицированной цианобактерии, ставшей пластидами и хлоропластами, в клетку-хозяина [16]. Хотя хлоропласты также относят к пластидам растений, но их выделяют, поскольку только они способны к фотосинтезу.

Это событие произошло примерно 800 миллионов лет назад, когда свободно живущая цианобактерия, которая умела усваивать энергию солнечных лучей, попала в клетку с митохондриями и стала, подобно протомитохондриям, эндосимбионтом [17, 18]. В результате цианобактерии в клетках трансформировались в хлоропласты и другие пластиды, сохранив свою ДНК, и, подобно митохондриям, имеют двойную мембрану. Примечательно, что «взрыв» эволюции начался только после появления эукариот, содержащих и хлоропласты, и митохондрии, то есть с появлением растительной клетки, способной за счёт энергии солнца продуцировать много сложных молекул, которые в буквальном смысле послужили «пищей» для «взрыва» эволюции на планете. Митохондрии позволили растительной клетке резко повысить энергетическую стоимость АТФ, поскольку она отбирала из цитоплазмы АДФ и «накачивала» АТФ в цитоплазму, используя энергию мембранного потенциала и, тем самым, поддерживать синтетические процессы даже в тёмное время суток, а также производить тепло в условиях холода.

Вполне закономерен вопрос, почему же «взрыв» эволюции не произошёл раньше? Можно предположить, что в условиях недостатка пищи эукариоты с митохондриями слишком быстро «переваривали» захваченные цианобактерии. И так случилось, что «больная» клетка, заражённая паразитом, да ещё в условиях пониженной температуры, не смогла быстро «переварить» захваченную цианобактерию. Примерно 800 миллионов лет назад планета Земля долгое время находилась полностью под властью льда. Практически вся поверхность планеты была покрыта снегом и льдом в течение примерно 10 миллионов лет. По-видимому, всё живое погибло, и только на экваторе жизнь сохранялась в жидкой воде или под сравнительно тонким слоем льда, куда проникали лучи солнца. Именно в это время, по-видимому, и произошло появление клетки, которая содержала митохондрию и хлоропласт. Только такая клетка могла выжить в этих условиях потому, что могла улавливать кванты света и с помощью митохондрий эффективно использовать энергию окисления образованных фотосинтезом углеводов для построения более сложных молекул и производства тепла, необходимого для выживания. В конце концов, в результате вулканической активности, сопровождавшейся выбросом огромного количества углекислоты и парникового повышения температуры атмосферы до +50 °C, льды и снег очень быстро растаяли. Геологи нашли убедительные доказательства глобальности и быстроты этого перехода.

Через миллионы лет после драматических для планеты событий – глобального оледенения и таяния ледников – примерно 650 миллионов лет назад на Земле начался «взрыв» эволюции жизни. Практически почти заново. Можно предположить, что, имея митохондрии и хлоропласты, древние проторастения оказались намного эффективнее в энергетическом аспекте, поскольку могли выживать при низких температурах и синтезировать более сложные соединения, такие как жиры и клетчатку. Такие клетки-растения были весьма успешными в выживании и стали распространяться и эволюционировать в разные виды растительного мира. В результате, в окружающей среде стало накапливаться больше кислорода,

в атмосфере появился озон, который стал защищать планету от жёсткого ультрафиолетового облучения и жизнь, сначала в виде растений, выплеснулась на сушу.

Главным условием для начала эволюции животного мира стало наличие большого количества разнообразного органического материала, производимого растениями, что стало началом пищевой цепочки для клеток-эукариот с митохондриями, которые эволюционировали в разные виды животного мира. Очень важно помнить, что животный мир и растительный мир неразделимы. Только при сохранении разнообразия растений может поддерживаться разнообразие животного мира. Митохондрии являются фундаментальными органеллами для существования не только животного мира, но и растительного мира, грибов и протистов, которые существуют издревле сами по себе. Последние исследования показывают, что растительные митохондрии во многих отношениях ведут себя подобно митохондриям животных [19, 20]. Это понятно, ведь митохондрии произошли намного раньше самих растений.

СТРОЕНИЕ МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ ДНК ЧЕЛОВЕКА

Функции митохондрий зависят от согласованного взаимодействия примерно 1000 генов, из которых подавляющее большинство представлены в ядерном геноме, в то время как мтДНК животных кодирует обычно только 37 генов [15, 21]. Практически все митохондриальные белки синтезируются на цитоплазменных рибосомах и должны импортироваться и встраиваться во внутреннюю и внешнюю мембраны митохондрий. Такое разделение экспрессии митохондриальных белков между двумя типами геномов требует существования сигнальных механизмов от ядра к митохондриям (антероградная сигнализация) и от митохондрий к ядру (ретроградная сигнализация) для подержания функций митохондрий в соответствии с потребностями клетки и для адаптации к меняющимся условиям среды [22, 23].

В целом полипептиды дыхательных комплексов и АТФ-синтазы кодируются 85 генами [1]. Однако сюда не включены гены таких белков, как переносчики аденин-нуклеотидов, неорганического фосфата и других белков, без которых невозможно окислительное фосфорилирование. Из примерно 37 генов мтДНК (есть небольшие межвидовые различия), 13 генов кодируют субъединицы белков, участвующих непосредственно в окислительном фосфорилировании (ОФ). 7 из 13 кодируемых мтДНК полипептидов являются частью комплекса I, состоящего из 45 полипептидов (ND1, -2, -3, -4L, -4, -5, -6), 1 из 11 полипептидов комплекса III (cytochrome b), 3 из 13 полипептидов комплекса IV (COI, -II, -III), и 2 из 15 полипептидов АТФ-синтазы, или комплекса V (ATP6 и ATP8). Все остальные белки, связанные с функцией митохондрий, кодируются ядерным геномом и включают, в том числе, митохондриальную ДНК полимеразу (POLG), РНК полимеразу, рибосомальные белки, сукцинатдегидрогеназу (комплекс II) и другие метаболические ферменты и транспортные белки мембран митохондрий [5].

Возникает вопрос: если перенос примерно 1500 генов от α-протобактерии в ядро оказался выгодным для эволюции, то зачем нужно было оставлять последние 13 генов, кодирующих полипептиды белков, осуществляющих окислительное фосфорилирование? Как отмечает D.C. Wallace (2008), перенос последних 13 митохондриальных генов позволил бы клетке полное устранение всей избыточной митохондриальной генетической информации. Тем не менее, у каждого аэробного организма на планете содержится мтДНК. Фактически у всех животных сохраняются одни и те же гены. Следовательно, сохранение этих генов в мтДНК должно быть очень важным для жизни организмов и эволюции [4, 5]. Но такая «простая» картина взаимоотношений между мтДНК и яДНК просуществовала сравнительно недолго. В следующей лекции мы рассмотрим феномен, обнаруженный сравнительно недавно, когда часть, а иногда и полный геном мтДНК транспортируется в ядро, образуя сотни митохондриальных псевдогенов в последовательности ядерного генома человека [24].

СТРУКТУРА И ОРГАНИЗАЦИЯ мтДНК МЛЕКОПИТАЮЩИХ

У всех млекопитающих мтДНК представляет собой спиралевидную молекулу из двух цепей, содержащую примерно 16,6 тыс. пар оснований. Две цепи мтДНК не идентичны, одна цепь была названа «тяжёлой» (H), другая – «лёгкой» (L), исходя из соотношения различных нуклеотидов в каждой цепи. Тяжёлая цепь содержит 2 рибосомальных РНК и все гены, кодирующие белки, исключая ND6 (рис. 2). Есть также некодирующая область размером примерно 1 кб (т. н. контрольный регион), содержащая регуляторные элементы для инициации и окончания транскрипции на обеих цепях мтДНК [25]. Петля смещения, или Д-петля (D-Loop, displacement loop), находится внутри некодирующей области и содержит OriH (heavy strand origin of replication), где начинается репликация мтДНК. Существует и второе место начала репликации для лёгкой нити (OriL), но уже вне некодирующей области [25, 26] (рис. 2).

Уровень организации и особенно упаковки мтДНК намного меньше, чем у ядерной ДНК. Молекулы мтДНК локализованы на внутренней (матриксной) стороне внутренней мембраны митохондрий и упакованы в нуклеоиды, представляющие собой динамичные структуры, образованные самой мтДНК и белками, которые участвуют в репликации и транскрипции [25]. В состав нуклеоидов входят ДНК-полимераза-γ (ДНК-полимераза, реплицирующая мтДНК), mtSSB (белок, связывающий одноцепочечную ДНК), хеликаза Twinkle, Phb (прогибитин) и TFAM (митохондриальный фактор транскрипции А) [27]. При репликации мтДНК сначала синтезируется одна из цепей, а вторая достраивается к ней с запозданием (Lagging strand – запаздывающая цепь). В процессе репликации ДНК расплетается, цепи разъединяются, и синтезируется одна цепь, а вторая вытесняется (displaced). Образуется трёхцепочечная структура, именно её и называют D-петлёй – Displacement loop.

Среди мтДНК-кодируемых белков, для которых функции известны (cytochrome b, COI, COII, COIII, ATP6, и ATP8), белки являются или переносчиками электронов, или протонов. Кроме того, все эти белки взаимодействуют между собой для создания или использования электрохимического градиента, создаваемого на внутренней мембране митохондрий [5]. То есть полипептиды генов мтДНК кодируют единую функциональную систему, которая является важнейшей для митохондрий и клетки. По этой причине, мутации в любом гене мтДНК, кодирующем полипептид

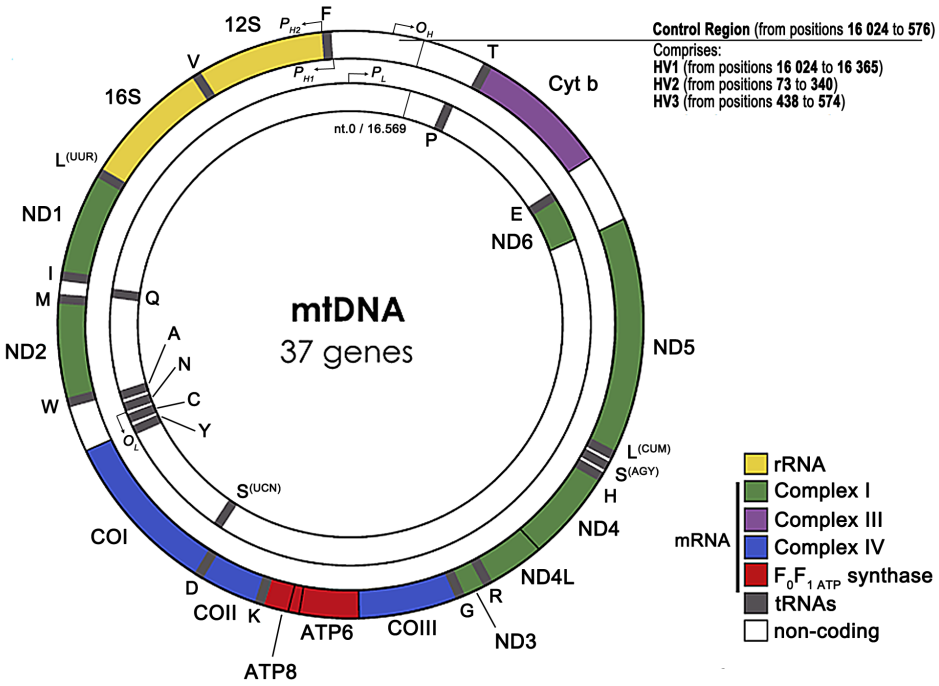


Рис. 2. Строение митохондриальной ДНК человека. Митохондриальный геном человека состоит из 16,569 п.н., кодирующих 13 белковых субъединиц, 2 рибосомальных РНК и 22 транспортных РНК. Отдельные буквы указывают положение соответствующих РНК. Все кодируемые белки встроены во внутреннюю мембрану митохондрий и включены в структуры дыхательных комплексов I, III, IV и АТФ-синтазы (комплекс V). Рисунок заимствован из [25].

Fig. 2. Human mitochondrial DNA structure. The human mitochondrial genome consists of 16,569 bp encoding 13 respiratory complex subunits, 2 ribosomal RNAs and 22 transfer RNAs. Single letters indicate the positions of the corresponding tRNA genes. The encoded proteins are all localized in the inner mitochondrial membrane and are some of the core subunits of respiratory complexes I, III, IV and V. The figure is borrowed from [25].

системы ОФ, могут иметь физиологические последствия для всех других полипептидов в данной мтДНК и сдвигать энергетический баланс во всей метаболической системе клетки. Это новое метаболическое состояние клетки и организма будет проходить испытание на выживание в условиях окружающей среды. Под влиянием естественного отбора накопление мутаций мтДНК будет приводить к дивергенции последовательностей мтДНК и появлению новых метаболических стратегий для выживания в меняющихся условиях внешней среды [5].

Вследствие функциональной коэволюции генов индивидуальной мтДНК, все генетические различия (полиморфизмы) для белков данной мтДНК должны быть совместимы, то есть они должны структурно и функционально совпадать между собой. Поэтому беспорядочное смешение белковых полиморфизмов между двумя разными родословными мтДНК могло бы привести к несовместимым комбинациям генетических элементов и к метаболическим проблемам. Это кажется особенно важным на фоне быстро растущих сведений о различиях в энергетическом и других видах метаболизма не только между разными гаплотипами мтДНК, но и между полами, которые находят отражения в разных скоростях старения и реакции на физические нагрузки [28, 29, 30]. Очевидно, что в ходе эволюции появились механизмы для того, чтобы избегать подобного случайного смешения несовместимых функциональных элементов. Генам разных родословных мтДНК и пола должно быть запрещено подвергаться рекомбинации [5]. Это достигается за счёт того, что мтДНК наследуется только от одного родителя. У человека мтДНК наследуется по материнской линии и проявляет поразительную изменчивость в разных регионах планеты [3, 31].

Митохондриальная ДНК кодирует гены, которые необходимы для образования энергии. Гены белков, которые участвуют в метаболических процессах, кодируются ядерной ДНК. D.C. Wallace (2005) предположил, что позднее проявление симптомов многих наследственных болезней и прогрессирующее развитие болезней, связанных со старением, можно объяснить накоплением соматических мутаций мтДНК в пост-митотических тканях [3]. Но эта точка зрения не отражает полностью те процессы, которые происходят в митохондриях в ходе нормального онтогенеза и старения организма, вызванного окислительным стрессом, и которые также могут стимулировать проявление наследственных и возрастных патологий с возрастом.

Тот факт, что D.C. Wallace делал упор на накопление мутаций мтДНК как главную причину старения и появления болезней старости, объясняется тем, что в 2005 г. не существовало убедительных альтернативных гипотез старения и причин мутаций мтДНК. Открытие изопростанового пути перекисного аутоокисления липидов (ИППОЛ) [32, 33], в основном полиненасыщенных жирных кислот, находящихся в составе мембранных фосфолипидов, и гипотеза о том, что ИППОЛ активируется протонированной формой супероксидного радикала – пергидроксильным радикалом – значительно расширили понимание возможных механизмов дегенеративных патологий и собственно механизма старения [34, 35].

Согласно D.C. Wallace [5], тканевая специфичность дегенеративных болезней может быть результатом различных энергетических нагрузок и активности разных функций в органах. Наблюдается также вариабельность на уровне индивидов и географического распределения

заболеваемости дегенеративными заболеваниями и раком. Мы предполагаем, что возрастные патологии могут быть также следствием несоответствия современного потребления калорий, характера пищи (мясная или углеводная) и возникшими в древности митохондриальными генетическими полиморфизмами [36]. Можно говорить, что варианты мтДНК (полиморфизм) позволяли нашим предкам адаптировать свой энергетический обмен к древним условиям обитания. Сегодня результаты этих древних адаптаций продолжают оказывать на нас влияние [3].

Характер питания и образ жизни играют роль в возникновении мутаций мтДНК. Наиболее часто мутации мтДНК и митохондриальная дисфункция встречаются в тех органах, которые имеют широкий диапазон функциональных нагрузок. К ним относятся в первую очередь сердце, скелетные мышцы и мозг. К ним следует отнести также сосудистый эндотелий, поскольку образование вазодилататора ·NO требует большого количества кислорода. Именно эти органы стареют намного быстрее, чем органы с более-менее постоянной физиологической нагрузкой, например, почки и печень [35, 36]. Кроме того, недавно появились указания на то, что дисфункция митохондрий и органов в бóльшей мере связана не с мутациями мтДНК, а с непосредственным повреждением различных белков и фосфолипидов мембран митохондрий в результате активации изопростанового аутоокисления полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК). Основной причиной этих процессов являются радикалы кислорода. Однако конкретные механизмы могут быть разными в разных тканях даже одного органа [35, 37]. Разная скорость старения органов может также быть связана с разным набором субстратов и наличием эндогенного торможения оксалоацетатом сукцинатдегидрогеназы (комплекс 2), который по-разному работает в разных органах и у разных индивидов [38].

КРИЗИС МИТОХОНДРИАЛЬНОЙ СВОБОДНОРАДИКАЛЬНОЙ ТЕОРИИ СТАРЕНИЯ

В истории науки неоднократно происходило «внезапное» крушение «общепринятых» научных теорий. То же самое случилось недавно с митохондриальной теорией старения, предложенной Харманом ещё в середине XX столетия [39, 40] и окончательно утвердившейся к его концу [41]. Так получилось, что долгое время не было известно специфических маркеров старения организма человека, кроме мутаций мтДНК, которые накапливались параллельно с процессом старения. По этой причине считалось, что именно постепенное накопление мутаций и делеций мтДНК и является причиной старения. Однако на самом деле всё происходит наоборот: мутации мтДНК являются не причиной, а следствием старения организма. Это тем более вероятно в виду того, что нуклеоиды, образованные мтДНК, прикреплены к внутренней мембране со стороны матрикса [42], где наиболее высока концентрация пергидроксильного радикала, вызывающего старение [34, 37]. Это объясняет строгий параллелизм между продукцией АФК и мутациями мтДНК. Недавно A.P. Anderson et al. [43] показали, что экзонуклеазный домен полимеразы pol γ, реплицирующей мтДНК, намного более чувствителен к окислительному повреждению, чем полимеразный домен. Поэтому в условиях окислительного стресса активность экзонуклеазного домена снижается намного быстрее, чем полимеразная активность. Экзонуклеазная активность полимеразы отвечает за коррекцию ошибок репликации. Окисленная pol γ начинает делать ошибки редактирования, и количество мутаций увеличивается в 20 раз по сравнению с нормальным ферментом [43, 44].

Во второй декаде XXI в. до многих учёных наконец-то «дошли» в общем-то давно известные факты, что ни один из широко обсуждаемых радикалов кислорода или азота не может вызвать мутаций мтДНК по нескольким причинам. Во-первых, в таких органах, как сердце, почки, скелетные мышцы и мозг, матрикс митохондрий представляет собой плотный гель, что весьма сильно ограничивает диффузию радикалов и метаболитов. Во-вторых, большинство радикалов являются гидрофильными, в то время, как ключевые процессы старения – аутоокисление ПНЖК и кардиолипина во внутренней мембране митохондрий – происходят в гидрофобном окружении [12, 37, 45].

Долгое время считалось, что кольцевая мтДНК находится в матриксе митохондрий в «голом» виде, то есть не защищена и потому подвержена внешним воздействиям, прежде всего радикалов кислорода [1, 2, 3]. Это служило объяснением того факта, что мутации мтДНК происходят в 20 раз чаще, чем мутации ядерной ДНК [46]. Однако было доказано, что молекулы мтДНК заключены в белковую оболочку, которая препятствует непосредственным контактам мтДНК с радикалами, образуя нуклеоид [47]. Это новая область исследований, поэтому все белки и функции нуклеоидов ещё не до конца изучены. Тем не менее уже установлено, что митохондриальные нуклеоиды располагаются с матриксной стороны внутренней мембраны митохондрий, и один из ключевых белков нуклеоида, прогибитин, встроен во внутреннюю мембрану в непосредственной близости к полиферментным комплексам переноса электронов и образования АТФ [48], а также к местам образования пергидроксильного радикала и освобождения продуктов ИППОЛ [34]. Поскольку эта новая область исследований митохондрий быстро развивается и требует глубокого обсуждения, более подробно свойства нуклеоидов будут рассмотрены в отдельной лекции.

Чтобы понять роль митохондрий в адаптации человека к окружающей среде, условиям питания, в процессах старения и возникновении патологий человека, нам необходимо рассмотреть результаты недавних исследований, которые открыли неизвестные ранее взаимоотношения между геномами митохондрий и ядра, причины и последствия передачи мтДНК по материнской линии.

ЗНАЧЕНИЕ ПЕРЕДАЧИ В ХОДЕ ЭВОЛЮЦИИ ГЕНОВ ОТ α-ПРОТОБАКТЕРИИ ЯДРУ И НАСЛЕДОВАНИЯ мтДНК ПО МАТЕРИНСКОЙ ЛИНИИ

Для лучшего понимания терминологии, используемой в литературе при описании следствий материнского наследования мтДНК, мы приводим таблицу терминов, заимствованную из обзора [49]. Словарик терминов приводится в таблице 1.

После того, как осуществился симбиоз протоэукариот и α-протобактерии, гены, необходимые для «независимой» жизни α-протобактерии, были быстро делетированы, что можно увидеть, если сравнить мтДНК и внутриклеточную ДНК современной паразитической α-протобактерии *Rickettsia prowazekii* [50]. Большая

Таблица 1

Список терминов, используемых при обсуждении мтДНК [49]

Table 1

List of terms used when discussing mtDNA [49]

Термин	Объяснение
Эффективный размер популяции (Ne)	Размер идеальной (воображаемой) популяции, которая теряет гетерозиготность со скоростью, равной в наблюдаемой популяции.
Генетическая нагрузка	Уменьшение приспособленности членов популяции из-за наличия вредных генов или комбинации генов в популяции.
Приспособленность (Fitness)	В биологии термин «приспособленность» означает индивидуальное совершенство особи, выражающееся в успехе передачи генетической информации потомкам. Биологическая приспособленность определяется как врождёнными характеристиками особи, так и её физическим состоянием и особенностями поведения в конкретных условиях окружающей среды.
Генетическое спасение (Genetic rescue)	Восстановление генетического разнообразия путём миграции, которая противодействует снижению разнообразия вследствие инбридинга.
Гетероплазмия	Наличие в клетке более одного типа молекул мтДНК.
Гетерога́мия	Тип полового процесса, при котором мужские и женские гаметы, сливающиеся при оплодотворении, различны по форме и размеру.
Linkage disequilibrium	Неравновесие по сцеплению.
Храповик Мюллера (Muller's ratchet)	Необратимое накопление вредных мутаций в небольшой популяции, приводящее к повышению генетической (мутационной) нагрузки и потере здоровых генов в результате генетического дрейфа.
Мутационный груз (Mutational meltdown)	Снижение средней приспособленности членов популяции вследствие непрерывного накопления вредных мутаци.
Выживаемость популяции (Population viability)	Вероятность того, что достаточно большое количество индивидов выживет до репродуктивного возраста для сохранения популяции организмов.
Половой антагонизм приспособленности (Sexually antagonistic fitness)	Ситуация, когда ген имеет сильное положительное влияние на приспособленность одного из полов и в то же время негативно влияет на другой пол.
Сперматозоидная конкуренция (Sperm competition)	У видов, когда самка копулирует с более чем одним самцом, происходит конкуренция между эякулятами внутри репродуктивного тракта или сперматозоидами разных самцов при наружном оплодотворении.
Подвижность спермы (Sperm motility)	Пропорция подвижных сперматозоидов в эякуляте.
Пороговый эффект (Threshold effect)	Определённый уровень мутантной мтДНК, необходимый в данной ткани для возникновения заболевания с явными нарушениями окислительного метаболизма.

мтДНК, кодирующая много генов, представляла бы большую опасность для последующих поколений из-за деградации по механизму Мюллеровского храповика (Muller's ratchet). Поэтому под давлением отбора большинство важных генов α-протобактерии были перенесены в ядерную ДНК. Если принять гипотезу, что симбиоз произошёл до окончания формирования ядра протоэукариота, то переход генов от α-протобактерии в ядерную ДНК мог произойти на раннем этапе эволюции эукариотов и ускорил формирование ядра [12]. Это было важно, поскольку исключало Мюллеровский храповик и защищало важные гены путём половой репродукции и рекомбинации [51].

По ходу передачи важных генов от мтДНК в яДНК, митохондриальные гены ядра становились общими для всех митохондрий в клетках, и время репликации мтДНК становилось пропорциональным длине молекулы мтДНК. Поэтому короткие мтДНК реплицировались быстрее, чем мтДНК с более длинной молекулой. Это также способствовало отбору «зрелых» мтДНК с маленькой молекулой. Подобный процесс однонаправленной передачи генов от органеллы в ядро был документирован помимо мтДНК и для ДНК хлоропластов после возникновения растительной клетки [1].

Давление отбора со стороны внешней среды привело к тому, что оставшиеся митохондриальные гены в основном передавались потомству по материнской линии. Согласно D.C. Wallace [4], если бы мтДНК наследовалась от обоих родителей, то это способствовало бы появлению повреждающих мутаций, которые передавались бы всей популяции и приводило бы к её ослаблению. Ядерные мутации в клетках организмов, которые осуществляют передачу геномов органелл только одним родителем, имеют ограничения для такой возможности [52]. Количество вариантов мтДНК, передаваемых от матери потомкам, также должно быть ограничено. Это необходимо для того, чтобы в смешанной популяции молекул мтДНК (гетероплазмия) мутация мтДНК, имеющая преимущество в репликации, но которая вредна для носителя, не могла стать доминирующей. Каждая последующая вредная мутация с репликативным преимуществом вытесняла бы предыдущий здоровый ген. То есть, происходило бы накопление мутаций, и это происходило бы до тех пор, пока данная линия не вымрет. Этот процесс, известный генетикам под названием «храповик Мюллера» (Muller's ratchet), является одной из форм эволюционной деградации [53].

Ограничение числа вариантов мтДНК, передаваемых из поколения в поколение, снижает вероятность накопления вредных мутаций и гибель всей линии. Это достигается увеличением скорости удаления мутированной мтДНК, то есть очищения материнской зародышевой клетки с помощью генетического дрейфа. У матери, при образовании гамет яйцеклеток, имеется «бутылочное горлышко» («bottleneck»), ограничивающее число митохондрий, попадающих в ооцит человека и млекопитающих. Таким

образом, новые мутации мтДНК быстро сегрегируются до гомоплазмии и поэтому могут быть проверены естественным отбором, а делеционные мутации удаляются из материнской популяции, чем предотвращается их дальнейшее распространение среди потомков [54, 55]. Сегрегация осуществляется путём случайного генетического дрейфа в раннем периоде оогенеза, и у мышей эффективное число сегрегированных единиц для мтДНК равно примерно 200 [54].

В целом, почти исключительное наследование мтДНК по материнской линии является результатом естественного отбора в течение весьма длительного процесса эволюции. Во всяком случае это произошло так давно, что даже у растений при половом размножении мтДНК передаётся также по материнской линии [19]. У человека и животных материнская наследственность мтДНК достигается сначала путём разбавления мтДНК спермы мтДНК яйцеклетки. Во время оплодотворения у сперматозоида митохондрии содержат сотни мтДНК, в то время как в яйцеклетке содержится примерно 200 000 молекул мтДНК [56, 57]. У человека количество мтДНК в ооцитах может меняться в очень больших пределах даже у одного и того же индивида. Так, исследование 113 неоплодотворённых яйцеклеток, полученных от 43 женщин, обнаружило в среднем 193 000 (с пределами от 20 000 до 598 000) митохондриальных геномов на один ооцит. При этом оказалось, что уменьшение количества мтДНК в ооците снижает её способность к оплодотворению [57].

Помимо разбавления отцовской мтДНК существует также активный механизм удаления мтДНК сперматозоидов. У млекопитающих митохондрии сперматозоидов имеют на наружной мембране белок «prohibitin» («запретитель»), который подвергается убиквинации (ubiquination), что, по-видимому, позволяет яйцеклетке узнавать отцовские митохондрии как «чужие», и избавиться от них в течение 24 часов после оплодотворения [58, 59]. Прогибитин – широко распространённый белок, он представляет собой комплекс, состоящий из двух субъединиц – PHB1 и PHB2 [60]. Эти маленькие белки образуют структурный блок, обвиваясь вокруг друг друга по большей части своей длины, и каждый блок содержит трансмембранную спираль PHB2. Функциональный белковый комплекс, содержащий примерно 14 таких строительных блоков, образует что-то вроде круглого цилиндра, пронизывающего внутреннюю мембрану и выступающего в мембранное пространство [48]. Он является важнейшим белком нуклеоида митохондрий и, будучи встроен во внутреннюю мембрану, после убиквинации работает, как метка, которая сигнализирует, что данная органелла должна быть направлена для уничтожения протеасомой. Таким образом, наследование мтДНК только по материнской линии является консервативным генетически закреплённым видоспецифичным механизмом [4, 60].

«МАТЕРИНСКОЕ ПРОКЛЯТИЕ»

В ходе эволюции получилось так, что у большинства организмов митохондриальный геном передаётся следующим поколениям по материнской линии. Со временем, после открытия этого явления, обнаружилось, что материнская наследственность мтДНК имеет важные следствия, а именно асимметрию между мужчинами и женщинами в частоте и тяжести митохондриальных болезней [61]. Это явление было впервые отмечено в проявлении некоторых митохондриальных болезней. Например, 85 % пациентов, имеющих наследственную зрительную невропатию Лебера (Leber's hereditary optic neuropathy) – мужчины [2]. При этом эта невропатия у пациентов мужского пола возникает намного раньше по возрасту, чем у пациентов женского пола. Сначала думали, что это смещение соотношения полов связано каким-то образом с Х-хромосомой, но полученные в последнее время данные показывают, что зрительная невропатия связана с тем, что люди мужского пола более чувствительны к дефектам мтДНК. Есть и другие примеры полового смещения патологий в сторону мужского пола, вызванных дефектами митохондриального генома [60].

Вредные мутации мтДНК, которые оказывают действие только на мужчин, не подвергаются естественному отбору. Поэтому независимо от давления отбора на мужскую часть популяции, мутации мтДНК, которые являются нейтральными или близкими к нейтральным для женщин, могут достигать высокой частоты в популяции в целом [49, 61]. Возможно, это является одной из причин меньшей продолжительности жизни стареющих мужчин в сравнении со стареющими женщинами в большинстве популяций, исключая, конечно, внешние причины: травмы, алкоголизм и др. При этом нужно отметить, что мужчины начинают стареть раньше женщин, что было отмечено нами при обсуждении метаболического синдрома в Лекции 1.

Другим важным следствием наследуемости мтДНК по материнской линии было обнаружение того, что генетические изменения мтДНК могут быть также ответственны за дисфункцию сперматозоидов, и таким образом приводить к мужскому бесплодию, и являются основным фенотипическим следствием мутаций в мтДНК. Эти мутации могли быть зафиксированы в стабильных вариантах мтДНК, поскольку они наследуются по женской линии. Данные предположения были доказаны экспериментально. У белых мужчин с астенозооспермией чаще встречается гаплогруппа Т мтДНК, у мужчин с нормальной подвижностью сперматозоидов – гаплогруппа Н, и это сопровождается различиями в активности ферментов ОФ в митохондриях сперматозоидов [62].

Справка: Астенозооспермия – снижение подвижности сперматозоидов. Полное отсутствие подвижности носит название акиноспермия, или акинозооспермия. Астено(зоо)спермия является одной из частых причин мужского бесплодия. Исходя из их подвижности, все сперматозоиды подразделяются на 4 категории: А – быстрое, поступательное движение, у здорового мужчины на долю этих сперматозоидов должно приходиться не менее 25 % (по новым рекомендациям ВОЗ – 32 %); В – медленное поступательное движение (эта категория учитывается, если выявляется снижение концентрации категории А); С – непоступательное движение; D – неподвижные сперматозоиды.

Таким образом, результатом накопления вредных мутаций в мужской части популяции может быть снижение общей приспособляемости мужчин, бесплодие и, в конечном итоге, деградация небольших популяций и даже сравнительно больших популяций с высокой инбредностью [63]. По этим причинам, вредному влиянию материнской наследуемости мтДНК на мужскую часть популяции, было дано образное название – «материнское проклятие» [49].

Высокая частота вредных аллелей мтДНК внутри видов является результатом четырёх главных особенностей митохондриального генома: 1) высокой скорости мутаций, 2) отсутствия рекомбинаций, 3) уменьшенного размера эффективных популяций и 4) наследуемости по материнской линии.

Высокая скорость мутаций, как было общепринято до недавнего времени, связана с окислительным стрессом и недостаточно эффективным исправлением повреждённой мтДНК. По этим причинам новые аллели мтДНК образуются непрерывно [64]. Хотя мы уже упоминали о том, что «свободно-радикальная» гипотеза мутаций мтДНК была поставлена под сомнение, она была «спасена» данными о том, что супероксидный радикал в митохондриях может подвергаться протонированию с образованием гидрофобного пергидроксильного радикала ($HO_2^{\cdot}$), который активирует в мембранах митохондрий аутоокисление ПНЖК (ИППОЛ) с образованием огромного количества продуктов, многие из которых обладают высокой токсичностью. Очевидно, что некоторые из таких продуктов, например, изолевугланидины, могут повреждать экзодомен мтДНК репликазы (pol γ), которая намного более чувствительна к окислительному повреждению, чем полимеразный домен (pol domain), что в десятки раз ускоряет накопление мутаций в мтДНК [43]. Это тем более возможно вследствие того, что один из белков нуклеоида мтДНК, прогибитин, непосредственно встроен во внутреннюю мембрану митохондрий, удерживая мтДНК в непосредственной близости от внутреннего липидного слоя внутренней мембраны. Именно в этом микропространстве матрикса митохондрий может быть самая высокая концентрация продуктов ИППОЛ.

Аллели, вызывающие даже небольшие повреждения, становятся устойчивыми, поскольку в мтДНК отсутствует рекомбинация генов, что приводит к неизбежному накоплению неслучайных связей между вариантами (linkage disequilibrium). Это приводит к снижению приспособленности на уровне отдельных локусов, чем уменьшает эффективность естественного отбора [65]. Кроме того, эффективный размер популяции для митохондриального генома обычно составляет только 25 % от ядерного генома вследствие гаплоидности и материнской наследственности. По этой причине мутации мтДНК намного более чувствительны к генетическому дрейфу и «бутылочному горлышку» для популяции в сравнении с мутациями ядерной ДНК. Поэтому естественный отбор будет намного менее эффективен в удалении вредных мутаций мтДНК [49]. Эти процессы особенно опасны для небольших и/или инбредных популяций.

Примером «материнского проклятия» и отбора на уровне замкнутой популяции является инбридизация и высокий уровень бесплодия у американских меннонитов. Кстати, проблема рождаемости в малых и инбредных популяциях, по-видимому, сыграла свою роль в исчезновении неандертальцев. Их популяции были небольшими, и они жили в полном численном согласии с окружающим животным миром по крайней мере сто тысяч лет до прихода современного человека, *Homo sapiens*. При этом не происходило значительного прогресса в орудиях охоты, что привело к консервированию ситуации. Время шло, мутации митохондрий накапливались и постепенно рождаемость снижалась. А когда пришли кроманьонцы, то, скорее всего, не более высокий интеллект пришельцев, как предполагают некоторые западные учёные, а низкая рождаемость у неандертальцев сыграла если не решающую, то заметную роль в полном исчезновении неандертальцев.

Возникает вопрос, почему же все перечисленные опасности наследования мтДНК по материнской линии не привели к полной деградации высокоорганизованных аэробных организмов в ходе эволюции? Ответы на этот вопрос обсуждаются в следующем разделе.

МИТОХОНДРИИ ЦИТОПЛАЗМЫ КАК ПОПУЛЯЦИЯ

R.C. Lewontin [66] отметил, что на любом уровне биологической организации естественный отбор может влиять на единицы наследственности (ядерные или цитоплазматические), которые проявляют три основных свойства: 1) наличие фенотипических изменений, 2) разная способность фенотипов к выживаемости в данных условиях, то есть, разная приспособляемость, и 3) возможность передачи новых фенотипов потомкам. Митохондриальная ДНК в биологической популяции находится во встроенной иерархии, последовательно: внутри митохондрий, митохондрии – в клетках, клетки – в тканях и органах, и органы – в индивидуальных организмах, которые в свою очередь, находятся в группах индивидов (популяциях) (рис. 3).

Например, фенотипические варианты на уровне клетки могут быть новым возникающим свойством, связанным с гетероплазмическим составом мтДНК индивидуальных клеток, фенотипические варианты на уровне индивидуального организма могут представлять возникающие свойства гетероплазмического состава в разных органах и тканях, каждые из которых могут иметь разное влияние на приспосабливаемость организма к данным условиям. Более того, материнская наследуемость и отсутствие рекомбинации мтДНК обеспечивают понятный контекст действия факторов популяционной динамики (мутаций, отбора и дрейфа) по всей иерархии популяций (рис. 3) [64].

Классическим примером отбора на нескольких уровнях является мутация p (petite) у дрожжей. Дрожжи с этой мутацией потеряли гены, необходимые для окислительного фосфорилирования, но способны размножаться в присутствии глюкозы, получая энергию за счёт гликолиза. Они могут временно «победить» (out-compete) нормальную мтДНК путём эгоистичной репликации в гетероплазмической цитоплазме, но в конечном итоге избирательно удаляются из клетки вследствие медленного роста в присутствии кислорода [67]. Похожая система многоуровневой селекции мутантных мтДНК с делециями была описана для некоторых клеток сетчатки и мозга [68].

Однако Lewontin [66] считал, что естественный отбор на надорганизменном уровне вряд ли оказывает влияние на эволюцию, отчасти потому что единицы на более высоком, чем индивид, уровне не приводят к наследуемости приспособляемости (fitness). Эволюция естественного отбора долгое время изучалась экспериментально на уровне индивидов, а искусственная селекция столетиями использовалась для изменения свойств индивидуальных организмов, давая Дарвину основания для поддержки его теории естественного отбора. При этом было общепринято, что селекция работает эффективно только на нижних уровнях биологической иерархии [66]. Однако в конце XX в. эта догма была под-

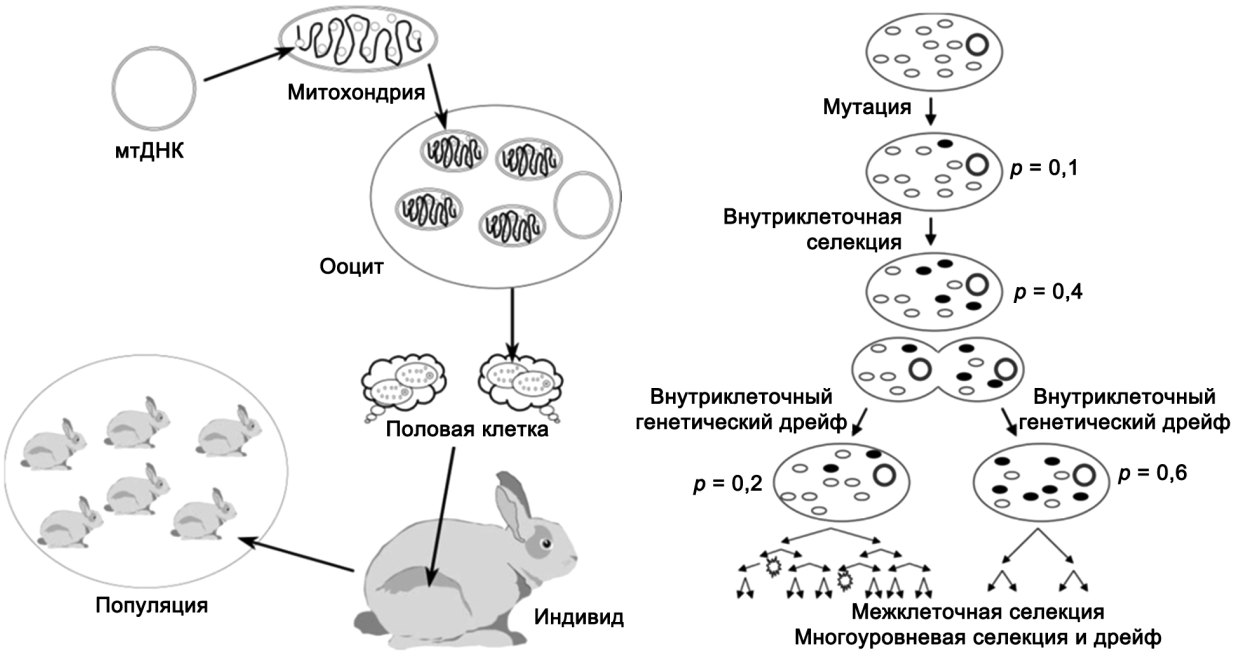
вергнута сомнению на основании исследований отбора на уровнях выше индивидуальных организмов, а именно, селекции на уровне групп [69, 70] и даже экосистем [71].

Анализ экспериментальных исследований группового отбора показал, что он действует на те компоненты изменчивости, которые не могут влиять на приспособляемость на более низких уровнях [70]. У видов, размножающихся половым путём, индивидуальная селекция может иметь только усреднённое влияние на индивидуальные гены. Внутри групп взаимодействия генов (эпистаз) и генетически обусловленные взаимодействия между индивидами также могут вносить свой вклад в селекцию. Зависящие от генетических свойств взаимодействия между отдельными членами групп представляют особенный интерес, поскольку они являются компонентами реакций на уровне группы, которые не могут существовать на индивидуальном уровне [72].

W. Swenson et al. [71] привели данные, которые ещё больше поколебали утверждение о том, что селекция эффективна только на нижних уровнях биологической иерархии. Эти авторы показали, что естественный отбор на уровне экологических систем также может менять эволюцию видов [71]. Примером отбора на уровне выше, чем индивиды, и даже не просто на уровне групп или экосистем, а на уровне планеты, является происходящая в настоящее время история с коронавирусом COVID-19 [73]. Если подтвердится его (вируса) эволюция вследствие взаимодействия человека и окружающих биосистем, или искусственное происхождение, то это показывает уже на отбор популяций людей на самом высоком социальном и даже видовом (*Homo sapience*) уровне [74]. Структура гибели людей от SARS-CoV-2 в Нью Йорке и других американских городах чётко на это указывает: 70 % умерших – люди из бедных и плотно населённых районов. Применение ядерного, химического или биологического оружия может иметь непоправимые последствия для человечества, особенно вследствие высокой чувствительности мтДНК к мутагенным воздействиям.

Таким образом, многоуровневая селекция может в естественных условиях способствовать популяциям избегать Мюллеровского храповика и решать таким образом внутригеномные конфликты. Это очень важно, поскольку метаболические свойства митохондрий способствуют мутациям мтДНК, что приводит к постоянному росту гетероплазмии мтДНК и накоплению повреждений, особенно в виде бесплодия у потомков по мужской линии [64].

К сожалению, за пределами чисто естественных процессов, эволюция человеческих популяций привела к тому, что некоторые социальные группы людей снижают численность и даже уничтожают популяции, находящиеся на более низком социальном или экономическом уровне. Достаточно вспомнить исчезновение многих популяций коренных жителей Северной Америки, живших там довольно успешно десятки тысяч лет, из-за воздействия «цивилизованных пришельцев» из Европы. Подобные процессы происходят и в наше «просвещённое» и «демократическое» время.



а б

Рис. 3. Популяционная генетика митохондрий. а – мтДНК существует во встроенной иерархии популяций, включающих данную молекулу мтДНК: органелла, клетка, индивидуальный организм и далее естественные популяции и виды (рисунок заимствован из [64]); б – мутация вносит вариант на самом низком уровне иерархии. Естественный отбор и случайный дрейф генов могут менять частоты гаплотипа мтДНК в исходной и в других цитоплазмах. Селекция и дрейф могут действовать на разных уровнях иерархии данной популяции: внутри органелл, внутри клеток, в пределах ткани и/или организма, а также через материнских потомков (наследуемые линии) [64].

Fig. 3. Population genetics of mitochondria. a – mtDNA exists in a nested hierarchy of populations spanning the mtDNA molecule, the organelle, the cell, the individual organism, and on up through natural populations and species (the figure was adapted from [64]); 6 – mutation introduces variation at the lowest level of the hierarchy. Natural selection and random genetic drift act to change mtDNA haplotype frequencies within and among cytoplasms. Selection and drift can act at multiple levels in the hierarchy of populations: within organelles, within cells, or among maternal lineages [64].

Однако, сохранив в душе надежду на светлое будущее, на этом мы закончим краткое знакомство с происхождением митохондрий и последствиями переноса ДНК протосимбионта в ядро. В следующих лекциях мы познакомимся более подробно с новыми данными о роли переноса мтДНК в ядерную ДНК, строением и функцией белков нуклеоида, и основными функциями митохондрий, имеющими прямое отношение к функциям органов и процессам старения.

ДОПОЛНЕНИЕ

Уже когда статья находилась в наборе, мы нашли среди только что опубликованных статей 2020 года и посчитали полезным добавить краткую историческую историю симбиотической теории возникновения митохондрий и хлоропластов, которую приводят в своём обзоре J.A. Brown et al. [75]. Эндосимбиотическая теория была впервые опубликована в 1905 году Константином Мерешковским, русским ботаником, постулировавшим, что предшественниками хлоропластов растений были свободно живущие цианобактерии, которые стали симбионтами [76]. В то время как митохондрии не были частью теории Мерешковского, примерно на десять лет позднее (в 1918 году) Paul Portier предположил, что митохондрии возникли вследствие симбиотического процесса [77] – концепция, которую затем далее развил Ivan Wallin [78]. Однако ни одна из этих теорий не была принята всерьёз, и они были даже осмеяны ведущими научными обществами того времени. Поэтому симбиотическое происхождение как объяснение возникновения хлоропластов, митохондрий или клеток-эукариот было забыто до 1967 года, когда эти теории были возрождены Lynn Sagan (Margulis) в её новаторской статье «О происхождении митотической клетки» [79]. Однако, подобно таким же реакциям за 50 лет до этого, её теории о возникновении эукариотов и митохондрий были встречены с большим скепсисом и критикой [80], до тех пор пока данные о белках и секвенировании ДНК, представленные Robert Schwartz и Margaret Dayhoff, не обнаружили бактериальное происхождение митохондрий [81].

ЛИТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Wallace DC. Structure and evolution of organelle genomes. *Microbiol Rev.* 1982; 46(2): 208-240.
2. Wallace DC. Diseases of the mitochondrial DNA. *Annu Rev Biochem*. 1992; 61: 1175-1212. doi: 10.1146/annurev.bi.61.070192.005523
3. Wallace DC. A mitochondrial paradigm of metabolic and degenerative diseases, aging, and cancer: a dawn for evolutionary medicine. *Annu Rev Genet.* 2005; 39: 359-407. doi: 10.1146/annurev.genet.39.110304.095751
4. Wallace DC. Why do we still have a maternally inherited mitochondrial DNA? Insights from evolutionary medicine. *Annu Rev Biochem*. 2007; 76: 781-821. doi: 10.1146/annurev.biochem.76.081205.150955
5. Wallace DC. Mitochondria as chi. *Genetics.* 2008; 179(2): 727-735. doi: 10.1534/genetics.104.91769
6. Wallace DC, Fan W. Energetics, epigenetics, mitochondrial genetics. *Mitochondrion.* 2010; 10(1): 12-31. doi: 10.1016/j.mito.2009.09.006
7. Hörandl E, Speijer D. How oxygen gave rise to eukaryotic sex. *Proc Biol Sci.* 2018; 285(1872): 20172706. doi: 10.1098/rspb.2017.2706
8. Gaziev AI, Shaikhaev GO. Nuclear mitochondrial pseudogenes. *Molecular Biology.* 2010; 44(3): 405-417. doi: 10.1134/S0026893310030027
9. Behe MJ. *Darwin's Black Box*. New York: Free Press; 1996.
10. Thompson B, Harrub B. Molecular evidence of human origins – [Part II]. *Reason and Revelation.* 2005; 25(5): 33-39.
11. Sagan L. On the origin of mitosing cells. *J Theor Biol.* 1967; 14(3): 255-274. doi: 10.1016/0022-5193(67)90079-3
12. Lang BF, Gray MW, Burger G. Mitochondrial genome evolution and the origin of eukaryotes. *Annu Rev Genet.* 1999; 33: 351-397. doi: 10.1146/annurev.genet.33.1.351
13. Lang BF, Burger B, O'Kelly CJ, Cedergren R, Golding GB, Lemieux C, et al. An ancestral mitochondrial DNA resembling a eubacterial genome in miniature. *Nature.* 1997; 387(6632): 493-497. doi: 10.1038/387493a0
14. Gray MW, Burger G, Lang BF. Mitochondrial evolution. *Science*. 1999; 283(5407): 1476-1481. doi: 10.1126/science.283.5407.1476
15. Gregersen N, Hansen J, Palmfeldt J. Mitochondrial proteomics – a tool for the study of metabolic disorders. *J Inherit Metab Dis.* 2012; 35(4): 715-726. doi: 10.1007/s10545-012-9480-3
16. Price DC, Chan CX, Su Yoon H, Yang EC, Qiu H, Weber AP, et al. Cyanophora paradoxa genome elucidates origin of photosynthesis in algae and plants. *Science*. 2012; 335(6070): 843-847. doi: 10.1126/science.1213561
17. Archibald JM. The puzzle of plastid evolution. *Curr Biol.* 2009; 19(2): R81-R88. doi: 10.1016/j.cub.2008.11.067
18. McFadden GI, Van Dooren GG. Evolution: red algal genome affirms a common origin of all plastids. *Curr Biol.* 2004; 14(13): R514-R516. doi: 10.1016/j.cub.2004.06.041
19. Greiner S, Sobanski J, Bock R. Why are most organelle genomes transmitted maternally? *Bioessays.* 2015; 37(1): 80-94. doi: 10.1002/bies.201400110
20. Christie JR, Beekman M. Uniparental inheritance promotes adaptive evolution in cytoplasmic genomes. *Mol Biol Evol.* 2017; 34(3): 677-691. doi: 10.1093/molbev/msw266
21. Mootha VK, Bunkenborg J, Olsen JV, Hjerrild M, Wisniewski JR, Stahl E, et al. Integrated analysis of protein composition, tissue diversity, and gene regulation in mouse mitochondria. *Cell.* 2003; 115(5): 629-640. doi: 10.1016/S0092-8674(03)00926-7
22. Woodson JD, Chory J. Coordination of gene expression between organellar and nuclear genomes. *Nat Rev Genet.* 2008; 9(5): 383-395. doi: 10.1038/nrg2348
23. Chacinska A, Koehler CM, Milenkovic D, Lithgow T, Pfanner N. Importing mitochondrial proteins: machineries and mechanisms. *Cell.* 2009; 138(4): 628-644. doi: 10.1016/j.cell.2009.08.005
24. Bensasson D, Feldman MW, Petrov DA. Rates of DNA duplication and mitochondrial DNA insertion in the human genome. *J Mol Evol.* 2003; 57(3): 343-354. doi: 10.1007/s00239-003-2485-7
25. Picard M, Wallace DC, Burelle Y. The rise of mitochondria in medicine. *Mitochondrion.* 2016; 30: 105-116. doi: 10.1016/j.mito.2016.07.003
26. Kazak L, Reyes A, Holt IJ. Minimizing the damage: repair pathways keep mitochondrial DNA intact. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2012; 13(10): 659-671. doi: 10.1038/nrm3439
27. Gilkerson R, Bravo L, Garcia I, Gaytan N, Herrera A, Maldonado A, et al. The mitochondrial nucleoid: integrating mitochondrial DNA into cellular homeostasis. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2013; 5(5): a011080. doi: 10.1101/cshperspect.a011080
28. Tarnopolsky MA. Gender differences in substrate metabolism during endurance exercise. *Can J Appl Physiol.* 2000; 25(4): 312-327. doi: 10.1139/h00-024
29. Dionne I, Despres JP, Bouchard C, Tremblay A. Gender difference in the effect of body composition on energy metabolism. *Int J Obes Relat Metab Disord.* 1999; 23(3): 312-319. doi: 10.1038/sj.ijo.0800820
30. Leskanicova A, Chovancova O, Babincak M, Verboova L, Benetinova Z, Macekova D, et al. Sexual dimorphism in energy metabolism of Wistar rats using data analysis. *Molecules.* 2020; 25(10): 2353. doi: 10.3390/molecules25102353
31. Giles RE, Blanc H, Cann HM, Wallace DC. Maternal inheritance of human mitochondrial DNA. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1980; 77(11): 6715-6719. doi: 10.1073/pnas.77.11.6715

32. Morrow JD, Awad JA, Wu A, Zackert WE, Daniel VC, Roberts LJ. Nonenzymatic free radical-catalyzed generation of thromboxane-like compounds (isothromboxanes) in vivo. *J Biol Chem*. 1996; 271(38): 23185-23190. doi: 10.1074/jbc.271.38.23185

33. Roberts LJ, Montine TJ, Markesbery WR, Tapper AP, Hardy H, Chemtob S, et al. Formation of isoprostane-like compounds (neuroprostanes) in vivo from docosahexaenoic acid. *J Biol Chem*. 1998; 273(22): 13605-13612. doi: 10.1074/jbc.273.22.13605

34. Panov A. Perhydroxyl radical (HO2•) as inducer of the isoprostane lipid peroxidation in mitochondria. *Molecular Biology*. 2018; 52(3): 347-359. doi: 10.1134/S0026893318020097

35. Panov AV, Dikalov SI. Mitochondrial metabolism and the age-associated cardiovascular diseases. *EC Cardiology*. 2018; 5.11: 750-769.

36. Panov AV, Golubenko MV. Human metabolic syndrome as one of the last stages of postembryonic ontogenesis. Understanding human heart diseases at old age. *EC Cardiology*. 2020; 7.8: 41-47.

37. Panov AV, Dikalov SI. Cardiolipin, perhydroxyl radicals and lipid peroxidation in mitochondrial dysfunctions and aging. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2020; 1323028. doi: 10.1155/2020/1323028

38. Panov A, Orynbayeva Z. Determination of mitochondrial metabolic phenotype through investigation of the intrinsic inhibition of succinate dehydrogenase. *Analytical Biochemistry*. 2018; 552: 30-37. doi: 10.1016/j.ab.2017.10.010

39. Harman D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol*. 1956; 11(3): 298-300. doi: 10.1196/annals.1354.003

40. Harman D. Free radical theory of aging: Consequences of mitochondrial aging. *Age*. 1983; 6: 86-94. doi: 10.1007/BF02432509

41. Beckman KB, Ames BN. The free radical theory of aging matures. *Physiol Rev*. 1998; 78(2): 547-581. doi: 10.1152/physrev.1998.78.2.547

42. Kukat C, Wurm CA, Spahr H, Falkenberg M, Larsson NG, Jakobs S. Super-resolution microscopy reveals that mammalian mitochondrial nucleoids have a uniform size and frequently contain a single copy of mtDNA. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2011; 108(33): 13534-13539. doi: 10.1073/pnas.1109263108

43. Anderson AP, Xuemei L, William R, Yin YW. Oxidative damage diminishes mitochondrial DNA polymerase replication fidelity. *Nucleic Acids Research*. 2020; 48(2): 817-829. doi: 10.1093/nar/gkz1018

44. Trifunovic A, Hansson A, Wredenberg A, Rovio AT, Dufour E, Khvorostov I, et al. Somatic mtDNA mutations cause aging phenotypes without affecting reactive oxygen species production. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2005; 102(50): 17993-17998. doi: 10.1073/pnas.0508886102

45. Panov AV. A new look at the causes of heart failure at old age. *EC Cardiology*. 2020; 7.2: 01-07.

46. Neckelmann N, Li K, Wade RP, Shuster R, Wallace DC. cDNA sequence of a human skeletal muscle ADP/ATP translocator: lack of a leader peptide, divergence from a fibroblast translocator cDNA, and coevolution with mitochondrial DNA genes. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1987; 84(21): 7580-7584. doi: 10.1073/pnas.84.21.7580

47. Szczepanowska K, Trifunovic A. Origins of mtDNA mutations in ageing. *Essays in Biochemistry*. 2017; 61.3: 325-337. doi: 10.1042/EBC20160090

48. Back JW, Sanz MA, De Jong L, De Koning LJ, Nijtmans GL, De Koster CG, et al. A structure for the yeast prohibitin complex: Structure prediction and evidence from chemical crosslinking and mass spectrometry. *Protein Sci*. 2002; 11(10): 2471-2478. doi: 10.1110/ps.0212602

49. Gemmell NJ, Metcalf VJ, Allendorf FW. Mother's curse: the effect of mtDNA on individual fitness and population viability. *Trends Ecol Evol*. 2004; 19: 238-244. doi: 10.1016/j.tree.2004.02.002

50. Muller M, Martin W. The genome of Rickettsia prowazekii and some thoughts on the origin of mitochondria and hydrogenosomes. *Bioessays*. 1999; 21(5): 377-381. doi: 10.1002/(SICI)1521-1878(199905)21:5<377::AID-BIES4>3.0.CO;2-W

51. Hoekstra RF. Evolutionary biology: why sex is good. *Nature*. 2005; 434(7033): 571-573. doi: 10.1038/434571a

52. Hoekstra RF. Evolutionary origin and consequences of uniparental mitochondrial inheritance. *Hum Reprod*. 2000; 15(Suppl 2): 102-111. doi: 10.1093/humrep/15.suppl_2.102

53. Muller HJ. The relation of recombination to mutational advance. *Mutat Res*. 1964; 1(1): 2-9. doi: 10.1016/0027-5107(64)90047-8

54. Jenuth JP, Peterson AC, Fu K, Shoubridge EA. Random genetic drift in the female germline explains the rapid segregation of mammalian mitochondrial DNA. *Nat Genet*. 1996; 14(2): 146-151. doi: 10.1038/ng1096-146

55. Bergstrom CT, Pritchard J. Germline bottlenecks and the evolutionary maintenance of mitochondrial genomes. *Genetics*. 1998; 149(4): 2135-2146.

56. Michaels GS, Hauswirth WW, Laipis PJ. Mitochondrial DNA copy number in bovine oocytes and somatic cells. *Dev Biol*. 1982; 94(1): 246-251. doi: 10.1016/0012-1606(82)90088-4

57. Reynier P, May-Panloup P, Chretien MF, Morgan CJ, Jean M, Savagner F, et al. Mitochondrial DNA content affects the fertilizability of human oocytes. *Mol Hum Reprod*. 2001; 7(5): 425-429. doi: 10.1093/molehr/7.5.425

58. Sutovsky P, Moreno RD, Ramalho-Santos J, Dominko T, Simerly C, Schatten G. Ubiquitin tag for sperm mitochondria. *Nature*. 1999; 402(6760): 371-372. doi: 10.1038/46466

59. Thompson WE, Ramalho-Santos J, Sutovsky P. Ubiquitination of prohibitin in mammalian sperm mitochondria: possible roles in the regulation of mitochondrial inheritance and sperm quality control. *Biol Reprod*. 2003; 69(1): 254-260. doi: 10.1095/biolreprod.102.010975

60. Artal-Sanz M, Tavernarakis N. Prohibitin and mitochondrial biology. *Trends Endocrinol Metab*. 2009; 20(8): 394-401. doi: 10.1016/j.tem.2009.04.004

61. Frank SA, Hurst LD. Mitochondria and male disease. *Nature*. 1996; 383: 224. doi: 10.1038/383224a0

62. Ruiz-Pesini E, Lapena AC, Diez-Sanchez C, Perez-Martos A, Montoya J, Alvarez E, et al. Human mtDNA haplogroups associated with high or reduced spermatozoa motility. *Am J Hum Genet*. 2000; 67(3): 682-696. doi: 10.1086/303040

63. Gemmell NJ, Allendorf FW. Mitochondrial mutations may decrease population viability. *Trends Ecol Evol*. 2001; 16: 115-117. doi: 10.1016/S0169-5347(00)02087-5

64. Rand DM. The units of selection on mitochondrial DNA. *Annu Rev Ecol Syst*. 2001; 32: 415-449. doi: 10.1146/annurev.ecolsys.32.081501.114109

65. Lynch M, Blanchard JL. Deleterious mutation accumulation in organelle genomes. *Genetica*. 1998; 102-103(1-6): 29-39. doi: 10.1023/A:1017022522486

66. Lewontin RC. The units of selection. *Annu Rev Ecol Syst*. 1970; 1: 1-18. doi: 10.1146/annurev.es.01.110170.000245

67. Reid RA. Selfish DNA in "petite" mutants. *Nature*. 1980; 285: 620. doi: 10.1038/285620b0

68. Wallace DC. Mitochondrial diseases in man and mouse. *Science*. 1999; 283: 1482-1488. doi: 10.1126/science.283.5407.1482

69. Craig DM. Group selection versus individual selection: an experimental analysis. *Evolution*. 1982; 36(2): 271-282. doi: 10.2307/2408045

70. Goodnight CJ, Stevens L. Experimental studies of group selection: what do they tell us about group selection in nature? *Am Nat*. 1997; 150(1): S59-S79. doi: 10.1086/286050

71. Swenson W, Wilson DS, Elias R. Artificial ecosystem selection. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2000; 97(17): 9110-9114. doi: 10.1073/pnas.150237597

72. Goodnight CJ. Heritability at the ecosystem level. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2000; 97(17): 9365-9466. doi: 10.1073/pnas.97.17.9365

73. Sanders JM, Monogue ML, Jodlowski TZ, Cutrell JB. Pharmacologic treatments for coronavirus disease 2019 (COVID-19). *JAMA*. 2020; 323(18): 1824-1836. doi: 10.1001/jama.2020.6019

74. Blinov VM, Zverev VV, Krasnov GS, Filatov FP, Shargunov AV. Viral component of the human genome. *Molecular Biology.* 2017; 51, 205-215. doi: 10.1134/S0026893317020066

75. Brown JA, Sammy MJ, Ballinger SW. An evolutionary, or"mitocentric" perspective on cellular function and disease. *Redox Biol.* 2020; 36: 101568. doi: 10.1016/j.redox.2020.101568

76. Mereschkowsky C. Über Natur und Ursprung der Chromatophoren imPflanzenreiche. *Biol Centralbl.* 1905; 25: 593-604.

77. Portier P. *Les Symbiotes.* Paris: Masson; 1918.

78. Walli IE. *Symbionticism and the origin of species.* Baltimore: Williams & Wilkins Company; 1927.

79. Sagan L. On the origin of mitosing cells. *J Theor Biol.* 1967; 14(3): 255-274. doi: 10.1016/0022-5193(67)90079-3

80. Lake JA. Lynn Margulis (1938-2011). *Nature*. 2011; 480(7378): 458. doi: 10.1038/480458a

81. Schwartz RM, Dayhoff MO. Origins of prokaryotes, eukaryotes, mitochondria, and chloroplasts. *Science.* 1978; 199(4327): 395-403. doi: 10.1126/science.202030

Сведения об авторах

Панов Александр Васильевич – доктор биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории патофизиологии, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», e-mail: alexander.panov55@gmail.com, https://orcid.org/0000-0001-8198-7780

Голубенко Мария Владимировна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории популяционной генетики, Научно-исследовательский институт медицинской генетики ФГБНУ «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», https://orcid.org/0000-0002-7692-9954

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

Колесников Сергей Иванович – академик РАН, главный научный сотрудник, ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека», https://orcid.org/0000-0003-2124-6328

Information about authors

Alexander V. Panov – Dr. Sc. (Biol.), Leading Research Officer at the Laboratory of Pathophysiology, Scientific Centre for the Family Health and Human Reproduction Problems, e-mail: alexander.panov55@gmail.com, https://orcid.org/0000-0001-8198-7780

Maria V. Golubenko – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Laboratory of Population Genetics, Research Institute of Medical Genetics, Tomsk National Research Medical Center, https://orcid.org/0000-0002-7692-9954

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

Sergei I. Kolesnikov – Academician of the Russian Academy of Sciences, Professor, Chief Research Officer, Scientific Centre for the Family Health and Human Reproduction Problems, https://orcid.org/0000-0003-2124-6328

Статья получена: 31.08.2020. Статья принята: 15.10.2020. Статья опубликована: 26.10.2020.
Received: 31.08.2020. Accepted: 15.10.2020. Published: 26.10.2020.

ИНФЕКЦИОННЫЕ БОЛЕЗНИ
INFECTIOUS DISEASES

DOI: 10.29413/ABS.2020-5.5.3

Изучение гуморального иммунного ответа при лёгкой и бессимптомной формах проявления COVID-19

Балахонов С.В. [1], Дубровина В.И. [1], Чеснокова М.В. [1], Войткова В.В. [1], Пятидесятникова А.Б. [1], Брюхова Д.Д. [1], Киселева Н.О. [1], Корытов К.М. [1], Кузнецова Т.Г. [2], Маркевич Ж.В. [2]

[1] ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека (664047, г. Иркутск, ул. Трилиссера, 78, Россия); [2] ОГБУЗ «Районная больница г. Бодайбо» (666904, Иркутская область, г. Бодайбо, ул. 30 лет Победы, 6, Россия)

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

Резюме

Актуальность. *В настоящее время в условиях пандемии COVID-19 одной из наиболее актуальных задач здравоохранения является обеспечение безопасности населения Российской Федерации. Сведений о длительности и напряжённости постинфекционного иммунитета в отношении SARS-CoV-2 собрано недостаточно, особенно при инаппарантных (без клинических признаков), лёгких или стёртых формах проявления инфекции.*

Материалы и методы. *В исследовании приняли участие 99 добровольцев с лабораторно подтверждённым методом ПЦР диагнозом COVID-19 – прибывшие на работу в г. Бодайбо вахтовым методом жители Иркутской области и других регионов Российской Федерации, а также 50 условно здоровых лиц, проживающих в г. Иркутске и имеющих на момент обследования отрицательные результаты ПЦР на наличие РНК SARS-CoV-2.*

Специфические антитела IgG и IgM к SARS-CoV-2 определяли в сыворотке крови методом иммуноферментного анализа (ИФА) с использованием тест-систем «ИФА анти-SARS-CoV-2 IgG» (ФБУН ГНЦ ПМБ, г. Оболенск), «SARS-CoV-2-IgG-ИФА-БЕСТ» и «SARS-CoV-2-IgM-ИФА-БЕСТ» (АО «Вектор-Бест», г. Новосибирск).

Результаты. Представлены результаты исследования гуморального иммунитета пациентов с бессимптомной и манифестной формами проявления COVID-19. Полученные данные свидетельствуют о выработке специфических IgG в сыворотке крови людей на 2–3-й неделях после инфицирования вирусом SARS-Cov-2 и достижении их максимального уровня на 20–21-й день болезни. Показатель сероконверсии составил 94,9 %. Показано, что среднегеометрический титр антител при бессимптомной и лёгкой формах проявления коронавирусной инфекции статистически не различался и составлял 1:512 и 1:632 соответственно. Более высокие титры антител (1:1600) выявляли при среднетяжелой форме.

Заключение. *Результаты исследований могут послужить основой для изучения динамики изменений показателей гуморального иммунного ответа у переболевших COVID-19 и выяснения длительности их постинфекционного иммунитета с целью прогнозирования развития эпидемической ситуации и обеспечения планирования специфической профилактики.*

Ключевые слова: *гуморальный иммунитет, специфические антитела, COVID-19, SARS-CoV-2*

Для цитирования: Балахонов С.В., Дубровина В.И., Чеснокова М.В., Войткова В.В., Пятидесятникова А.Б., Брюхова Д.Д., Киселева Н.О., Корытов К.М., Кузнецова Т.Г., Маркевич Ж.В. 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

Studying Humoral Immune Response at Mild and Asymptomatic COVID-19 Forms

Balakhonov S.V. [1], Dubrovina V.I. [1], Chesnokova M.V. [1], Voitkova V.V. [1], Pyatidesyatnikova A.B. [1], Bryukhova D.D. [1], Kiseleva N.O. [1], Korytov K.M. [1], Kuznetsova T.G. [2], Markevich Zh.V. [2]

[1] Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor (Trilissera str. 78, Irkutsk 664047, Russian Federation); [2] Bodaybo District Hospital (30 let Pobedy str. 6, Bodaybo 666904, Irkutsk Region, Russian Federation)

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

Abstract

Background. *Currently, during the COVID-19 pandemic, one of the most pressing healthcare problems is to ensure the safety of the population of the Russian Federation. There is insufficient information on the duration and intensity of post-infectious immunity in relation to SARS-CoV-2, especially in case of inapparent (without clinical signs), mild or latent forms of infection.*

Materials and methods. *The study involved 99 volunteers with a laboratory confirmed PCR diagnosis of COVID-19 who were residents of the Irkutsk Region and of other regions of the Russian Federation and arrived to work in Bodaybo*

on a rotational basis. Also the study included 50 conditionally healthy people living in Irkutsk who had negative PCR results for SARS-CoV-2 RNA presence.
Specific IgG and IgM antibodies to SARS-CoV-2 were detected in blood serum by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) using test systems "ELISA anti-SARS-CoV-2 IgG" (FBUN SSC PMB, Obolensk, Russian Federation), "SARS-CoV-2-IgG-IFA-BEST" and "SARS-CoV-2-IgM-IFA-BEST" (Vector-Best, Novosibirsk, Russian Federation).
Results. *The results of a study of the humoral immunity of patients with asymptomatic and clinical forms of COVID-19 are presented. The data indicate the production of specific IgG in the blood serum of people in 2–3 weeks after SARS-Cov-2 infection and reaching its maximum level on the 20–21st day. The seroconversion rate was 94.9 %. It was shown that the geometric mean titer of antibodies in asymptomatic and mild forms of coronavirus infection did not differ statistically and amounted to 1:512 and 1:632, respectively. Higher titers of antibodies (1:1600) were detected in the moderate form.*
Conclusion. *The research results can serve as a basis for studying the dynamics of changes in the indicators of the humoral immune response in patients with COVID-19 and for clarifying the duration of their post-infectious immunity in order to predict the development of the epidemic situation and to ensure the planning of specific prevention.*

Key words: *humoral immunity, specific antibodies, COVID-19, SARS-CoV-2*

For citation: Balakhonov S.V., Dubrovina V.I., Chesnokova M.V., Voitkova V.V., Pyatidesyatnikova A.B., Bryukhova D.D., Kiseleva N.O., Korytov K.M., Kuznetsova T.G., Markevich Zh.V. Studying Humoral Immune Response at Mild and Asymptomatic COVID-19 Forms. *Acta biomedica scientifica.* 2020; 5(5): 26-30. doi: 10.29413/ABS.2020-5.5.3

Эпидемическая вспышка новой коронавирусной инфекции COVID-19, вызванная вирусом SARS-CoV-2, впервые зарегистрированная в г. Ухань провинции Хубей (КНР) в декабре 2019 г., имела высокую скорость пандемического распространение более чем в 200 странах мира [1, 2, 3]. Этому способствовали аэрозольный механизм передачи возбудителя инфекции от человека к человеку, длительный инкубационный период до 14 дней, высокая миграционная активность населения [4]. В мире на 06.08.2020 г. зарегистрировано 189 959 939 случаев COVID-19 (показатель заболеваемости – 2417,2 на 100 тыс. населения), умерли 711 560 человек (летальность 3,7 %). В 85 субъектах Российской Федерации выявлено 871 894 заболевших новой коронавирусной инфекцией (594,2 на 100 тыс. населения), умерли 14 606 человек (летальность 1,7 %) [5, 6].

Клинические варианты и проявления COVID-19 варьируют от ОРЗ, трахеита, бронхита до внебольничных пневмоний, острого дистресс-синдрома, повреждения почек, миокарда, ЦНС, которые могут привести к смерти пациентов. По оперативным данным управлений Роспотребнадзора 10 субъектов Сибирского и Дальневосточного федеральных округов, из зарегистрированных 59 266 случаев COVID-19 в 67,7 % наблюдений (40 152 случая) заболевание протекает бессимптомно (42,0 %) или в лёгкой форме (25,8 %).

Известно, что иммунный ответ при COVID-19 формируется преимущественно по клеточному типу. Продукция цитокинов, генерируемая антигенпрезентирующими клетками, обусловливает общую адаптивную реакцию, а активация цитотоксических Т-клеток приводит к элиминации вируса из организма [7, 8, 9]. Гуморальный иммунный ответ, обусловленный продукцией специфических антител разных классов (IgM, IgG), а также вирус нейтрализующих антител (Nab) ответственны за защиту организма от повторного заражения [10, 11]. Однако сведений о длительности и напряжённости постинфекционного иммунитета в отношении SARS-CoV-2 недостаточно, особенно при инаппаратных (без клинических признаков), лёгких или стёртых формах проявления инфекции.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Оценка динамики формирования постинфекционного иммунного ответа среди вахтовых рабочих, переболевших лёгкой или бессимптомной формами COVID-19 в период эпидемического осложнения на одном из золотодобывающих предприятий Иркутской области.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На основании оперативной информации управления Роспотребнадзора по Иркутской области проведена оценка эпидемиологической ситуации по коронавирусной инфекции в г. Бодайбо Бодайбинского района Иркутской области.

Для изучения постинфекционного иммунитета методом случайной выборки были сформированы две группы обследуемых в возрасте от 18 до 69 лет. Первая группа («опытная») включала 99 человек, прибывших на работу вахтовым методом в г. Бодайбо, из которых 23,2 % (23 чел.) – жители Иркутской области и 76,8 % (76 чел.) – жители других регионов Российской Федерации. Все они имели контакт с больным COVID-19 в период самоизоляции, госпитализированы в районную больницу на основании обнаружения РНК SARS-CoV-2 методом полимеразной цепной реакции (ПЦР). Во вторую группу («контрольная») включены 50 условно здоровых лиц, проживающих в г. Иркутске и имеющих на момент обследования отрицательные результаты ПЦР на наличие РНК SARS-CoV-2.

Для тестирования проб на наличие специфических IgG к SARS-CoV-2 использовали набор реагентов для анализа сыворотки или плазмы крови человека «ИФА анти-SARS-CoV-2 IgG» (серия 4, с. г. 12.2020, производитель ФБУН ГНЦ ПМБ, г. Оболенск) и набор реагентов для ИФА «SARS-CoV-2-IgG-ИФА-БЕСТ» (серия 7, с. г. 26.05.2021, производитель АО «Вектор-Бест», г. Новосибирск). Наличие специфических IgM к SARS-CoV-2 определяли с помощью набора реагентов «SARS-CoV-2-IgM-ИФА-БЕСТ» (серия 6, с.г. 26.05.2021, производитель АО «Вектор-Бест», г. Новосибирск). Исследования проведены с 9.06.2020 г. пох15.06.2020 г. Объём составил 596 исследований. Учёт оптической плотности осуществляли на автоматическом ридере ELx 808 IU (Biotek Instruments Inc., США).

Для оценки формирования постинфекционного иммунитета проведены расчёты по трём показателям: доля серонегативных лиц, доля серопозитивных лиц и среднегеометрический титр (СГТ) антител. СГТ определяли по формуле $lg_x = \sum \log_2 a_i n_i / \sum n_i$. Статистическую обработку материала проводили с помощью программы Statistica 6.0 (StatSoft Inc., США).

ЭТИЧЕСКАЯ ЭКСПЕРТИЗА

В работе с добровольцами соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации. Все участники прошли предварительное анкетирование и подписали письменное информированное согласие на участие в исследовании. Протокол утверждён локальным этическим комитетом ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Первые два случая коронавирусной инфекции зарегистрированы 2.05.2020 г. у двух местных жителей г. Бодайбо, прибывших из Москвы. Следующий случай выявлен 3.05.2020 г. у мужчины 44 лет, который прибыл в г. Бодайбо на работу вахтовым методом в ПАО «Высочайший» из г. Красноярска 19.04.2020 г. 20.04.2020 г. он был обследован в коммерческой лаборатории г. Санкт-Петербурга на COVID-2019 с отрицательным результатом, находился на самоизоляции, клиника заболевания появилась 21.04.2020 г. 30.04.2020 г. с признаками пневмонии мужчина госпитализирован в реанимацию, 2.05.2020 г. получен положительный результат ПЦР в ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Роспотребнадзора. 4.05.2020 г. пациент умер. В последующем среди местных жителей и вахтовых рабочих золотодобывающих предприятий г. Бодайбо в результате лабораторного обследования было выявлено 245 случаев COVID-19, в том числе 223 (91,0 %) выявленных инфицированных/заболевших были среди вахтовых рабочих, находившихся в самоизоляции в период «перевахтовки» с 6.05.2020 г. по 6.06.2020 г. (рис. 1).

В период с 19.05.2020 г. по 29.05.2020 г. в Бодайбинскую районную больницу с подтверждённым ПЦР диагнозом COVID-19 госпитализированы 99 вахтовых рабочих. Заболевания протекали преимущественно в бессимптомной (n = 47; 47,5 %) и лёгкой (n = 49; 49,5 %) формах, у 3 пациентов (3,0 %) – в средней степени тяжести. Отмечено, что заболевание COVID-19 характеризовалось слабостью и повышением температуры от субфебрильной до 38,6 °С (100,0 %), нарушением обоняния в течение 3–4 дней (92,2 %), першением в горле (37,3 %), сухим кашлем (3,9 %), затруднённым дыханием (1,9 %).

Результаты серологического обследования на наличие специфических антител к коронавирусу в ИФА представлены в таблице 1.

При изучении антительного иммунного ответа в контрольной группе обследованных лиц специфические IgG к SARS-CoV-2 не выявлены.

При исследовании сывороток крови пациентов с диагнозом COVID-19 (опытная группа) доля серопозитивных составила 94,9 % при 95% доверительном интервале (ДИ) (92,7–97,1 %), у 5 пациентов антительный ответ не наблюдался (5,1 %; 95% ДИ 2,9–7,3 %), что связано с показателями IgG к SARS-CoV-2 ниже диагностических титров на момент исследований.

При этом одновременное выявление IgM и IgG к коронавирусу SARS-CoV-2 обнаружено в 35,1 % случаев (n = 33; 95% ДИ 30,2–40,0 %), только IgG – в 64,9 % (n = 61; 95% ДИ 59,9–69,8 %), только IgM не обнаружены ни в одном случае.

Установлено, что на 8–14-е сутки от начала болезни специфические IgG к SARS-CoV-2 выявлялись у 49,0 % обследованных лиц; наличие как IgM, так и IgG к коронавирусу в этот же период зарегистрировано у 46,7 % пациентов; к 15–28-му дню эти показатели составили 72,2 % и 22,2 % соответственно. При этом пик специфических IgM + IgG выявлен на 10–11-й день болезни, IgG – на 20–21-й день болезни. Полученные результаты свидетельствуют о подтверждении диагноза COVID-19 и нахождении обследуемых либо в период разгара заболевания при одновременном выявлении специфических IgM и IgG, либо в период реконвалесценции, когда уровень IgG повышается, а уровень IgM снижается.

Минимальный показатель серопозитивности по IgG (1:100) выявлен у 3 пациентов (3,2 %), максимальный (1:3200) – у 1 заболевшего. У превалирующего числа больных (74,5 %) титр антител составил 1:800–1:1600

Рис. 1. Динамика заболеваемости COVID-19 среди местных жителей и вахтовых рабочих г. Бодайбо с 6.05.2020 г. по 6.06.2020 г. (абс.).
Fig. 1. Dynamics of the incidence of COVID-19 among local residents and shift workers in Bodaybo from 05/06/2020 to 06/06/2020 (absolute numbers).

Таблица 1

Результаты серологического обследования на наличие специфических IgG к SARS-CoV-2 больных COVID-19 в Бодайбинском районе Иркутской области (май 2020 г.)

Table 1

The results of serologic examination for specific IgG to SARS-CoV-2 in patients with COVID-19 in Bodaybo district of the Irkutsk region (May 2020)

Степень тяжести	Кол-во	ИФА		Количество положительных результатов ИФА в титрах						СГТ
		Отрицательный	Положительный	1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600	1:3200	
Бессимптомное	47	1	46	1	1	10	14	17	1	1:512
Лёгкое	49	4	45	2	6	3	11	25	0	1:632
Средней тяжести	3	0	3	0	0	0	0	3	0	1:1600
ИТОГО **абс.**	**99**	**5**	**94**	**3**	**7**	**13**	**25**	**45**	**1**	**1:835**
%	**100**	**5,1**	**94,9**	**3,2**	**7,4**	**13,8**	**26,6**	**47,9**	**1,1**	

при среднегеометрическом титре 1:835. При этом показатель СГТ к вирусу SARS-Cov-2 при бессимптомной форме проявления инфекции определён как 1:512, при лёгкой – 1:632, при средне-тяжёлой – 1:1600 (табл. 1).

Таким образом, проведённые исследования по оценке гуморального иммунитета у пациентов с бессимптомной и манифестной формами проявления COVID-19 подтверждают выработку специфических IgG на 2–3-й неделях после инфицирования вирусом SARS-Cov-2 и достижение их максимального уровня на 20–21-й день болезни. Показатель сероконверсии составил 94,9 %. Среднегеометрический титр антител при бессимптомной и лёгкой формах проявления коронавирусной инфекции статистически значимо не различается и равен 1:512 и 1:632 соответственно. Более высокие титры антител (1:1600) выявлены при среднетяжёлой форме.

В дальнейшем планируется изучение динамики изменения показателей иммунного ответа у переболевших COVID-19 и выяснение длительности их постинфекционного иммунитета с целью прогнозирования развития эпидемической ситуации и обеспечения планирования специфической профилактики.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кутырев В.В., Попова А.Ю., Смоленский И.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Сафронов В.А., и др. Эпидемиологические особенности новой коронавирусной инфекции (Covid-19). Сообщение 1: Модели реализации профилактических и противоэпидемических мероприятий. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; (1): 6-13. doi: 10.21055/0370-1069-2020-1-6-13

2. Кутырев В.В., Попова А.Ю., Смоленский И.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В., Сафронов В.А., и др. Эпидемиологические особенности новой коронавирусной инфекции (COVID-19). Сообщение 2: Особенности течения эпидемического процесса COVID-19 во взаимосвязи с проводимыми противоэпидемическими мероприятиями в мире и Российской Федерации. *Проблемы особо опасных инфекций*. 2020; (2): 6-12. doi: 10.21055/0370-1069-2020-2-6-12

3. Львов Д.К., Альховский С.В., Колбухина Л.В., Бурцева Е.И. Этиология эпидемической вспышки Covid-19 в г. Ухань (провинция Хубэй, Китайская Народная Республика), ассоциированной с вирусом 2019-nCov (Nidovirales, Coranaviridae, Coronavirinae, Betacoronavirus, подрод Sarbecovirus): уроки эпидемии SARS-CoV. *Вопросы вирусологии*. 2020; 65(1): 6-15. doi: 10.36233/0507-4088-2020-65-1-6-15

4. Брико Н.И., Каграманян И.Н., Никифоров В.В., Суранова Т.Г., Чернявская О.П., Полежаева Н.А. Пандемия Covid-19. Меры борьбы с ее распространением в Российской Федерации. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2020; 19(2): 3-12. doi: 10.31631/2073-3046-2020-20-2-4-12

5. Worldometer. *Пандемия коронавируса COVID-19*. URL: https://www.worldometers.info/coronavirus/#countries (дата обращения: 18.08.2020).

6. *Официальная информация о коронавирусе в России. Оперативные данные*. URL: https://стопкоронавирус.рф (дата обращения: 18.08.2020).

7. Бугоркова С.А. Некоторые аспекты формирования иммунного ответа у пациентов с COVID-19. *COVID-19 Preprints [Preprint]*. 2020. URL: https://covid19-preprints.microbe.ru/article/21. doi: 10.21055/preprints-3111717

8. Garcia LF. Immune response, inflammation, and the clinical spectrum of COVID-19. *Front Immunol*. 2020; 11: 1441. doi: 10.3389/fimmu.2020.01441

9. Maggi E, Canonica GW, Moretta L. Covid-19: Unanswered questions on immune response and pathogenesis. *J Allergy Clin Immunol*. 2020; 146(1): 18-22. doi: 10.1016/j.jaci.2020.05.001

10. Hou H, Wang T, Zhang B, Luo Y, Mao L, Wang F, et al. Detection of IgM and IgG antibodies in patients with coronavirus disease 2019. *Clin Transl Immunology*. 2020; 9(5): e01136. doi: 10.1002/cti2.1136

11. Liu J, Guo J, Xu Q, Cai G, Chen D, Shen Y. Detection of IgG antibody during the follow-up in patients with COVID-19 infection. *Crit Care*. 2020; 24(1): 448. doi: 10.1186/s13054-020-03138-4

REFERENCES

1. Kutyrev VV, Popova AYu, Smolensky VYu, Ezhlova EB, Demina YuV, Safronov VA, et al. Epidemiological features of new coronavirus infection (COVID-19). Communication 1: Modes of implementation of preventive and anti-epidemic measures. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2020; (1): 6-13. doi: 10.21055/0370-1069-2020-1-6-13. (In Russ.)

2. Kutyrev VV, Popova AYu, Smolensky VYu, Ezhlova EB, Demina YuV, Safronov VA, et al. Epidemiological peculiarities of new coronavirus infection (COVID-2019). Communication 2: Peculiarities of epidemic process development in conjunction with performed anti-epidemic measures around the world and in the Russian Federation. *Problems of Particularly Dangerous Infections*. 2020; (2): 6-12. doi: 10.21055/0370-1069-2020-2-6-12. (In Russ.)

3. Lvov DK, Alkhovsky SV, Kolbukhina LV, Burtseva EI. Etiology of epidemic outbreaks COVID-19 in Wuhan, Hubei province, Chinese People Republic associated with 2019-nCoV (Nidovirales, Coronaviridae, Coronavirinae, Betacoronavirus, Subgenus Sarbecovirus): lessons of SARS-CoV outbreak. *Problems of Virology*. 2020; 65(1): 6-15. doi: 10.36233/0507-4088-2020-65-1-6-15. (In Russ.)

4. Briko NI, Kagramanyan IN, Nikiforov VV, Suranova TG, Chernyavskaya OP, Polezhaeva NA. COVID-19 pandemic. Preven-

tion measures in the Russian Federation. *Epidemiology and Vaccinal Prevention.* 2020; 19(2): 4-12. doi: 10.31631/2073-3046-2020-20-2-4-12. (In Russ.)

5. Worldometer. *Coronavirus pandemic COVID-19*. URL: https://www.worldometers.info/coronavirus/#countries (Accessed 18.08.2020). (In Russ.)

6. *Official data on coronavirus in Russia. Up-to-date numbers.* URL: https://стопкоронавирус.рф/ (Accessed 18.08.2020). (In Russ.)

7. Bugorkova SA. Some aspects of the formation of the immune response in COVID-19 patients. *COVID-19 Preprints [Preprint].* 2020. URL: https://covid19-preprints.microbe.ru/article/21. doi: 10.21055/preprints-3111717. (In Russ.)

8. Garcia LF. Immune response, inflammation, and the clinical spectrum of COVID-19. *Front Immunol.* 2020; 11: 1441. doi: 10.3389/fimmu.2020.01441

9. Maggi E, Canonica GW, Moretta L. Covid-19: Unanswered questions on immune response and pathogenesis. *J Allergy Clin Immunol.* 2020; 146(1): 18-22. doi: 10.1016/j.jaci.2020.05.001

10. Hou H, Wang T, Zhang B, Luo Y, Mao L, Wang F, et al. Detection of IgM and IgG antibodies in patients with coronavirus disease 2019. *Clin Transl Immunology.* 2020; 9(5): e01136. doi: 10.1002/cti2.1136

11. Liu J, Guo J, Xu Q, Cai G, Chen D, Shen Y. Detection of IgG antibody during the follow-up in patients with COVID-19 infection. *Crit Care.* 2020; 24(1): 448. doi: 10.1186/s13054-020-03138-4

Сведения об авторах

Балахонов Сергей Владимирович – доктор медицинских наук, профессор, директор, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, e-mail: balakhonov.irk@mail.ru, http://orcid.org/0000-0003-4201-5828

Дубровина Валентина Ивановна – доктор биологических наук, заведующая лабораторией патофизиологии, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, e-mail: dubrovina-valya@mail.ru, http://orcid.org/0000-0001-8561-6207

Чеснокова Маргарита Валентиновна – доктор медицинских наук, заведующая отделом научного и учебно-методического обеспечения, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, http://orcid.org/0000-0001-5489-9363

Войткова Валентина Владимировна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории патофизиологии, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, e-mail: vvoitkova@mail.ru, http://orcid.org/0000-0002-0685-7625

Пятидесятникова Анна Борисовна – младший научный сотрудник лаборатории патофизиологии, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, e-mail: smy_irkutsk@mail.ru, http://orcid.org/0000-0002-6381-4517

Брюхова Дарья Дмитриевна – младший научный сотрудник лаборатории патофизиологии, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, e-mail: darabrukhov@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-5589-9522

Киселева Наталья Олеговна – лаборант-исследователь лаборатории патофизиологии, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, e-mail: smy_irkutsk@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-6678-2998

Корытов Константин Михайлович – научный сотрудник лаборатории патофизиологии, ФКУЗ Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, e-mail: konstmikhkor@yandex.ru, http://orcid.org/0000-0003-1137-6049

Кузнецова Тамара Григорьевна – заместитель главного врача по организационно-методической работе, ОГБУЗ «Районная больница г. Бодайбо», e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru

Маркевич Жанна Викторовна – заместитель главного врача по лечебной работе, ОГБУЗ «Районная больница г. Бодайбо», e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru

Information about the authors

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

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

Margarita V. Chesnokova – Dr. Sc. (Med.), Professor, Head of the Department of Scientific and Academic Support, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru, https://orcid.org/0000-0001-5489-9363

Valrntina V. Voitkova – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Laboratory of Pathophysiology, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor, e-mail: vvoitkova@mail.ru, http://orcid.org/0000-0002-0685-7625

Anna B. Pyatidesyatnikova – Junior Research Officer at the Laboratory of Pathophysiology, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor, e-mail: smy_irkutsk@mail.ru, http://orcid.org/0000-0002-6381-4517

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

Natalya O. Kiseleva – Clinical Research Assistant at the Laboratory of Pathophysiology, Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East of Rospotrebnadzor, e-mail: smy_irkutsk@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-6678-2998

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

Tamara G. Kuznetsova – Deputy Chief Physician for Organization and Methodology, Bodaybo District Hospital, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru

Zhanna V. Markevich – Deputy Chief Physician for Medical Work, Bodaybo District Hospital, e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru

Вклад авторов

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

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

Чеснокова М.В. – подбор индикаторной группы, подготовка эксперимента, написание статьи.

Войткова В.В. – планирование эксперимента, анализ результатов, оформление статьи.

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

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

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

Корытов К.М. – планирование эксперимента, постановка реакций, учёт и анализ результатов, написание статьи.

Кузнецова Т.Г. – работа с пациентами по подбору добровольцев, обеспечение забора материала для исследования.

Маркевич Ж.В. – обеспечение забора материала для исследований.

Статья получена: 18.08.2020. Статья принята: 14.09.2020. Статья опубликована: 26.10.2020.
Received: 18.08.2020. Accepted: 14.09.2020. Published: 26.10.2020.

МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ И ПАТОФИЗИОЛОГИЯ
MORPHOLOGY, PHYSIOLOGY AND PATHOPHYSIOLOGY

DOI: 10.29413/ABS.2020-5.5.4

Особенности морфометрических изменений тромбоцитов и эритроцитов у женщин с различными формами гипертензивных расстройств в III триместре беременности

Садов Р.И., Баев Т.О., Панова И.А., Назаров С.Б., Кузьменко Г.Н.

ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н. Городкова» Минздрава России (153045, г. Иваново, ул. Победы, 20, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Баев Тимофей Олегович, e-mail: baevtimofey@mail.ru

Резюме

Обоснование. *Артериальная гипертензия при беременности сопровождается выраженными изменениями микроциркуляции и системы гемостаза, состояние которых во многом определяется структурно-функциональными свойствами эритроцитов и тромбоцитов. Изучение количественно-морфометрических характеристик форменных элементов крови позволит расширить имеющиеся представления об их роли в патогенезе гипертензивных расстройств.*

Цель исследования. *Изучить количественные и морфометрические показатели эритроцитов и тромбоцитов у беременных женщин с различными формами гипертензивных расстройств, на основании чего разработать дополнительный способ диагностики преэклампсии.*

Методы. *Обследовано 237 женщин в III триместре беременности. Основная группа (167 женщин) включала пациенток с различными формами гипертензивных расстройств. В группу сравнения вошли 70 беременных без признаков гипертензивных расстройств. Дана характеристика клинико-анамнестических данных исследуемых групп. Выполнен сравнительный анализ количества и морфометрических показателей эритроцитов и тромбоцитов.*

Результаты. *При умеренной и тяжёлой преэклампсии снижение уровня эритроцитов, гемоглобина и гематокрита не сопровождалось изменениями эритроцитарных индексов. У женщин с преэклампсией независимо от наличия хронической артериальной гипертензии выявлено увеличение средней сухой массы, среднего объёма и степени анизоцитоза тромбоцитов. При тяжёлой преэклампсиии и преэклампсии на фоне хронической артериальной гипертензией выявлено повышение количества больших форм тромбоцитов и их гранулоцитарности, дополнительно при тяжёлой форе преэклампсии отмечено снижение уровня тромбоцитов.*

Заключение. *Современные гематологические анализаторы позволяют установить характер не только количественных, но и морфометрических изменений эритроцитов и тромбоцитов, тем самым дополнить имеющиеся представления о патогенетических механизмах, лежащих в основе гипертензивных расстройств при беременности. Использование средней сухой массы тромбоцитов и уровня среднего артериального давления может быть полезно в диагностике преэклампсии.*

Ключевые слова: *беременность, артериальная гипертензия, преэклампсия, эритроциты, тромбоциты*

Для цитирования: Садов Р.И., Баев Т.О., Панова И.А., Назаров С.Б., Кузьменко Г.Н. Особенности морфометрических изменений тромбоцитов и эритроцитов у женщин с различными формами гипертензивных расстройств в III триместре беременности. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(5): 31-38. doi: 10.29413/ABS.2020-5.5.4

Features of Morphometric Changes in Platelets and Red Blood Cells in Women with Various Forms of Hypertensive Disorders in the Third Trimester of Pregnancy

Sadov R.I., Baev T.O., Panova I.A., Nazarov S.B., Kuzmenko G.N.

V.N. Gorodkov Ivanovo Research Institute of Motherhood and Childhood (Pobedy str. 20, Ivanovo 153045, Russian Federation)

Corresponding author: Timofey O. Baev, e-mail: baevtimofey@mail.ru

Abstract

Background. *Arterial hypertension during pregnancy is accompanied by pronounced changes in microcirculation and hemostasis in the system, the state of which is largely determined by the structural and functional properties of red blood cells and platelets. The study of quantitative and morphometric characteristics of blood cells will expand the existing understanding of their role in the pathogenesis of hypertensive disorders.*

Aim of the research. *To study the quantitative and morphometric indicators of red blood cells and platelets in pregnant women with various forms of hypertensive disorders, on the basis of which to develop an additional method for the diagnosis of preeclampsia.*

Materials and methods. *237 women in the third trimester of pregnancy were examined. The main group (167 women) included patients with various forms of hypertensive disorders. The comparison group included 70 pregnant women without signs of hypertensive disorders. The characteristic of clinical and anamnestic data of the studied groups is given. A comparative analysis of the number and morphometric parameters of red blood cells and platelets was performed. Results. With moderate and severe preeclampsia, a decrease in the level of red blood cells, hemoglobin and hematocrit was not accompanied by changes in red blood cell indices. In women with preeclampsia, regardless of the presence of chronic arterial hypertension, an increase in the average dry weight, average volume and degree of platelet anisocytosis was detected. In severe preeclampsia and preeclampsia with underlying of chronic arterial hypertension, an increase in the number of large forms of platelets and their granulocytosis was revealed, and in addition, in severe cases of preeclampsia, a decrease in platelet level was noted.*

Conclusions. *Modern hematological analyzers make it possible to establish the nature of not only quantitative, but also morphometric changes in red blood cells and platelets, thereby complementing the existing understanding of the pathogenetic mechanisms underlying hypertensive disorders in pregnancy. Using average dry platelet mass and average blood pressure may be useful in diagnosing preeclampsia.*

Key words: *pregnancy, arterial hypertension, preeclampsia, red blood cells, platelets*

For citation: Sadov R.I., Baev T.O., Panova I.A., Nazarov S.B., Kuzmenko G.N. Features of Morphometric Changes in Platelets and Red Blood Cells in Women with Various Forms of Hypertensive Disorders in the Third Trimester of Pregnancy. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(5): 31-38. doi: 10.29413/ABS.2020-5.5.4

ВВЕДЕНИЕ

Проблема артериальной гипертензии у беременных не теряет актуальности и остаётся в центре научных интересов. По данным статистики, частота встречаемости гипертензивных нарушений в период гестации составляет около 5–10 %, в том числе, преэклампсии – 2–8 %, и не имеет тенденции к снижению [1]. Артериальная гипертензия, осложняющая течение беременности, является одной из главных причин заболеваемости и смертности матери, плода и новорождённого, которая отрицательно влияет на отдалённый прогноз для женщины и дальнейшее развитие её ребёнка [2, 3].

Известно, что при нормально протекающей беременности в организме женщины во многих органах и системах происходит целый ряд адаптационно-приспособительных процессов [4]. На фоне гипертензивных расстройств развиваются гемодинамические, микроциркуляторные и реологические нарушения, которые могут привести к неблагоприятному течению беременности [5, 6]. На сегодняшний день считается общепризнанным, что развитие гипертензивных нарушений у беременных является результатом сочетания ряда патогенетических звеньев, среди которых ведущую роль занимают повреждение периферической сосудистой системы в целом и эндотелиальная дисфункция в частности [7]. Возникающая гипоперфузия тканей вследствие генерализованной вазоконстрикции, гиповолемии, нарушений реологических свойств крови и гиперкоагуляции приводит к гипоксически-ишемическому повреждению в тканях различных органов с формированием полиорганной недостаточности [8, 9, 10].

Важная роль в повреждении морфофункциональных свойств клеточных мембран при гипертензивных расстройствах принадлежит увеличению продуктов перекисного окисления липидов, обладающих выраженной цитотоксичностью [11, 12]. Ключевую роль в реологии крови, а также в эффективности тканевой перфузии и газообмена играют эритроциты, которые являются самым многочисленным пулом клеток крови [13]. Известно, что из всех клеток крови они наиболее чувствительными к оксидативному стрессу. Поэтому активация процессов перекисного окисления липидов внутри и вне эритроцитов вызывает повреждение белково-липидного бислоя мембран и нарушение их проницаемости, что приводит к формированию жёсткости мембраны клеток и снижению их трансмембранной транспортной функции [11]. Такие изменения приводят к снижению деформируемости клеточных мембран эритроцитов и нарушению в системе микроциркуляции [14, 15].

Наряду с эритроцитами значительным изменениям подвергаются и тромбоциты крови, которые играют ключевую роль в микроциркуляторных нарушениях. При стойкой повышенной агрегационной способности происходит не только прогрессирующее снижение числа тромбоцитов, но и изменение их морфофункциональных свойств [16]. Так, ряд исследователей отмечает, что у беременных с преэклампсией (ПЭ) помимо прогрессирующей тромбоцитопении отмечается увеличение анизоцитоза и среднего объёма тромбоцитов [17, 18].

Вышеуказанные нарушения приводят к повреждению структурно-функциональных свойств эритроцитов и тромбоцитов, морфометрические параметры которых могут служить чувствительным маркером изменений в организме. На сегодняшний день остаётся малоизученным вопрос об изменении морфометрических показателей эритроцитов и тромбоцитов у беременных женщин с различными формами гипертензивных расстройств.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Дать оценку морфометрических показателей эритроцитов и тромбоцитов у беременных женщин с различными формами гипертензивных расстройств, на основании чего разработать дополнительный способ диагностики преэклампсии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводилось на базе ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства имени В.Н. Городкова» Минздрава России. Обследовано 237 женщин в III триместре беременности. Основную группу составили 167 женщин с гипертензивными расстройствами, которые в зависимости от вида артериальной гипертензии (АГ) были разделены на группы: в первую группу вошли 32 беременных с умеренной ПЭ (код по МКБ-10 О14.0), вторую группу составили 47 женщин с тяжёлой ПЭ (код по МКБ-10 О14.1), в третью группу включены 58 женщин с хронической артериальной гипертензией (ХАГ) (код по МКБ-10 О10.0), в четвертую – 30 пациенток с ХАГ с присоединившейся ПЭ (код по МКБ-10 О11). Контрольную группу составили 70 беременных

без признаков гипертензивных расстройств. Критерии исключения: вторичная артериальная гипертензия (код по МКБ-10 О10.1, О10.2, О10.3, О10.4, О10.9), гестационная артериальная гипертензия (код по МКБ-10 О13), острые и обострение хронических воспалительных заболеваний, приём нестероидных противовоспалительных препаратов, антикоагулянтов, дезагрегантов и ингибиторов фибринолиза.

Анализ клинико-анамнестических данных проводился на основании медицинской документации (индивидуальные карты беременной и родильницы ф. № 111/у, истории родов ф. № 096/у). Материалом для исследования служила периферическая венозная кровь, взятая из кубитальной вены утром, натощак при поступлении в стационар до начала терапии. Оценка морфометрических показателей эритроцитов и тромбоцитов проводилась на автоматическом гематологическом анализаторе экспертного класса ADVIA 2120i (Siemens Healtheare Diagnostics Inc. Tarrytown, США). Оценивались следующие эритроцитарные показатели венозной крови: уровни гемоглобина (HGB, г/дл), эритроцитов (RBC, $\times 10^6$ кл./мкл), гематокрита (HCT, %), средний объём эритроцитов (MCV, фл), среднее содержание гемоглобина в эритроците (MCH, пг), средняя концентрация гемоглобина в эритроците (MCHC, г/дл), ширина распределения эритроцитов (RDW, %), ширина распределения гемоглобина (HDW, г/дл). В расширенной тромбоцитограмме оценивались: количество тромбоцитов (PLT, $\times 10^3$ кл./мкл), анизоцитоз тромбоцитов (PDW, %), средний объём тромбоцитов (MPV, фл), количество больших форм тромбоцитов (Large PLT, $\times 10^3$ кл./мкл), средняя концентрация компонентов тромбоцитов (MPC, г/дл) и средняя сухая масса тромбоцитов (MPM, пг). Математическая и статистическая обработка полученных данных осуществлилась при помощи лицензионных программ Microsoft Office 2013, Statistica for Windows 12.0 (StatSoft Inc., США) Проверка нормальности распределения величин проводилась при помощи критерия Шапиро – Уилка и Колмогорова – Смирнова. Поскольку выборки были отличимы от нормального распределения (Гаусса), определение статистически значимости различий величин и частот встречаемости признака между группами проводились при помощи U-критерия Манна – Уитни и двухстороннего критерия Фишера. Различия считались статистически значимыми при значении $p < 0,05$. Данные в таблицах представлены в формате Me (медиана) с указанием 25% (Q1) и 75% (Q3) перцентиля. Наличие признака представлено в формате *n* (количество случаев в группе) и частоты встречаемости признака (%).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Возраст обследованных женщин варьировал от 18 до 46 лет. Средний возраст беременных женщин с ХАГ и с ХАГ с присоединившейся ПЭ составил 33 [30–38] года, что статистически значимо выше по сравнению с контрольной группой (30 [27–33] лет, $p = 0,01$ и $p = 0,02$ соответственно) и группами женщин с умеренной (29 [26–33] лет, $p = 0,003$ и $p = 0,024$ соответственно) и тяжёлой ПЭ (27 [22–31] лет, $p = 0,000$ в обоих случаях). Наиболее молодой возрастной состав женщин был в группе с тяжёлой ПЭ и статистически значимо отличался не только от групп с ХАГ, но и от контроля ($p = 0,01$ во всех случаях).

При постановке на диспансерный учёт у беременных с различными видами гипертензивных расстройств был характерен повышенный ИМТ: 31,8 [27,42; 35,99] кг/м^2 в группе с ХАГ, 28,0 [25,24; 33,85] кг/м^2 – с ХАГ с присоединившейся ПЭ, 25,1 [22,59; 28,81] кг/м^2 в группе с умеренной ПЭ, что статистически значимо выше по сравнению с контрольной группой, где он составил в среднем 22,5 [20,89; 25,51] кг/м^2 ($p = 0,01$ во всех случаях). В группах с ХАГ и ХАГ с присоединившейся ПЭ ИМТ был статистически значимо выше, чем в группе с тяжёлой ПЭ ($p = 0,001$ в обоих случаях); в группе ХАГ – статистически значимо выше, чем в группе с умеренной ПЭ ($p = 0,000$). На основании этого ожирение статистически значимо чаще было диагностировано у пациенток с умеренной ПЭ (25 %), ХАГ (58,6 %) и ХАГ с присоединившейся ПЭ (33,3 %) в отличие от женщин контрольной группы, у которых данная патология встречалась в 7,1 % случаев ($p = 0,034$, $p = 0,000$ и $p = 0,003$ соответственно). Среди пациенток с гипертензивными расстройствами данная патология статистически значимо выше наблюдалась в группе с ХАГ по сравнению с группами с ПЭ ($p = 0,004$, $p = 0,000$ и $p = 0,042$ соответственно).

Анализ данных семейного генетического анамнеза установил, что наследственную предрасположенность к гипертонической болезни статистически значимо чаще имели женщины с ХАГ (55,2 %) и с ХАГ с присоединившейся ПЭ (63,3 %) по сравнению с контрольной группой (11,4 %) ($p = 0,000$ и $p = 0,004$), а также с группами женщин с умеренной (25,0 %, $p = 0,01$ во всех случаях) и тяжёлой ПЭ (25,5 %, $p = 0,004$ и $p = 0,002$ соответственно).

При оценке структуры экстрагенитальной патологии было выявлено, что распространённость заболеваний мочевыделительной системы (хронического пиелонефрита) статистически значимо чаще наблюдалась у женщин с ХАГ с присоединившейся ПЭ (33,3 %) в сравнении с группой контроля (11,4 %; p = 0,023), умеренной ПЭ (12,5 %; $p = 0,096$) и ХАГ (12,1 %; $p = 0,038$).

Исследование репродуктивной функции у обследованных пациенток показало, что доля первобеременных была меньше в группах с ХАГ (22,4 %) и ХАГ с присоединившейся ПЭ (20 %) и статистически значимо отличалась от группы женщин с тяжёлой ПЭ, где данный показатель был наибольшим (46,8 %; $p = 0,01$ во всех случаях). В то же время в группе с ХАГ с присоединившейся ПЭ было статистически значимо ниже число первобеременных пациенток по сравнению с группой с умеренной ПЭ (43,8 %; $p = 0,029$). Женщин, которым предстояли первые роды, в процентном отношении было больше в группе с тяжёлой ПЭ (63,8 %) при сравнении с контролем (41,4 %) и ХАГ (41,4 %) ($p = 0,028$ и $p = 0,036$ соответственно).

При взятии на учёт в группах с различными формами гипертензивных расстройств отмечалось статистически значимо более высокое исходное среднее артериальное давление (СрАД): 89,5 [79,58; 95] мм рт. ст. в группе с умеренной ПЭ, 83,3 [80; 90,17] мм рт. ст. в группе с тяжёлой ПЭ, 99,2 [93,33; 103,33] мм рт. ст. в группе с ХАГ и 96,7 [93,33; 113] мм рт. ст. в группе с ХАГ с присоединившейся ПЭ в сравнении с контрольной группой, где оно составило в среднем 76,7 [73,33; 83,33] мм рт. ст. ($p = 0,000$ во всех случаях). В группах с ХАГ, независимо от наличия ПЭ, уровень среднего АД был самым высоким, превышая данный показатель в группе с ПЭ различной степени тяжести ($p = 0,000$ во всех случаях).

При поступлении в стационар значения среднего АД у женщин с различными формами гипертензивных расстройств были статистически значимо выше, чем в кон-

трольной группе (p = 0,000 во всех случаях). В группах с тяжёлой ПЭ и ХАГ с присоединившейся ПЭ значение данного показателя было наибольшим и статистически значимо отличалось по сравнению с группами с умеренной ПЭ (p = 0,000 во всех случаях) и ХАГ (p = 0,000 и p = 0,02 соответственно). Статистически значимые различия значения среднего АД наблюдались также в группе с ХАГ с присоединившейся ПЭ по сравнению с группой с ХАГ (p = 0,000).

Средний срок беременности на момент родоразрешения у обследованных с различными формами гипертензивных расстройств был статистически значимо ниже по сравнению с контрольной группой, в которой он составил 38,6 [38,1; 39,3] недель (p = 0,000 во всех случаях). В группе с гипертензивными расстройствами у пациенток с ХАГ роды наступили в среднем в 38,1 [37,4; 38,6] недели, что было статистически значимо выше по сравнению с остальными группами с гипертензивными расстройствами (p = 0,000 во всех случаях). Пациентки с ПЭ чаще были родоразрешены досрочно – медиана составила 34,6 [33,1; 36,4] недели в группе с тяжёлой ПЭ и 35,4 [33,2; 37,1] недели в группе с ХАГ с присоединившейся ПЭ, что статистически значимо меньше по сравнению с умеренной ПЭ – 37,1 [34; 38] недели (p = 0,002 *и* p = 0,47 соответственно) и группой с ХАГ (p = 0,000).

Количественная и морфометрическая характеристика эритроцитов у женщин с гипертензивными расстройствами различного генеза приведена в таблице 1.

Результаты проведённых исследований периферической крови позволили выявить различия в показателях количества эритроцитов, уровня гемоглобина и гематокрита у обследованных женщин. Изучение количественных показателей эритроцитов (RBC) у беременных с различными формами гипертензивных расстройств выявило статистически значимое их снижение в группах с умеренной и тяжёлой ПЭ, относительно контрольной группы (p = 0,001 и p = 0,02) и группы женщин с ХАГ (p = 0,0001 и p = 0,01). У женщин с ХАГ с присоединившейся ПЭ содержание эритроцитов также было статистически значимо ниже по сравнению с группой ХАГ (p = 0,02). Уровень гемоглобина (HGB) в периферической крови в группах с умеренной и тяжёлой ПЭ был статистически значимо ниже по сравнению с таковым как контрольной группы (p = 0,001 в обоих случаях), так и группы женщин с ХАГ (p = 0,01 в обоих случаях). Наряду со снижением количества эритроцитов и содержания гемоглобина у женщин с умеренной и тяжёлой ПЭ отмечалось снижение гематокритного числа (HCT) по отношению к женщинам контрольной группы (p = 0,0000 и p = 0,001) и группы с ХАГ (p = 0,0004 и p = 0,002). Анализ данных показал, что анемический синдром статистически значимо чаще наблюдался у женщин с умеренной (40,6 %), тяжёлой ПЭ (51,1 %) и у женщин с ХАГ с присоединившейся ПЭ (33,3 %) по сравнению с контрольной группой (11,4 %) (p = 0,001, p = 0,000 и p = 0,01 соответственно). Кроме этого статистически значимые различия были выявлены между группами женщин с ПЭ, независимо от степени тяжести, и группы с ХАГ (p = 0,01 и p = 0,000 соответственно). При сравнительном анализе эритроцитарных показателей (MCV, MCH, MCHC, RDW, HDW) в основной и контрольной группах статистически значимой разницы выявлено не было.

Несмотря на снижение показателей эритроцитов, гемоглобина и гематокрита, обращает на себя внимание отсутствие статистически значимых изменений со стороны эритроцитарных индексов у женщин с ПЭ независимо

Таблица 1

Количественная и морфометрическая характеристика эритроцитов у беременных женщин с различными формами гипертензивных расстройств в III триместре

Table 1

Quantitative and morphometric characteristics of red blood cells in pregnant women with various forms of hypertensive disorders in the third trimester

Показатели	Контроль (n = 70)	Умеренная ПЭ (n = 32)	Тяжёлая ПЭ (n = 47)	ХАГ (n = 58)	ХАГ с ПЭ (n = 30)
Количество эритроцитов (RBC), 10^6 кл./мкл	3,9 [3,7; 4,1]	3,6 [3,4; 3,8] p_1 = 0,001 p_4 = 0,0001	3,6 [3,3; 4,0] p_1 = 0,02 p_4 = 0,01	3,9 [3,5; 4,2]	3,7 [3,3; 4,1] p_4=0,02
Содержание гемоглобина (HGB), г/дл	11,9 [11,3; 12,8]	10,9 [10,5; 11,6] p_1=0,001 p_4=0,01	10,7 [9,3; 11,9] p_1 = 0,001 p_4 = 0,01	11,8 [11,0; 12,7]	11,4 [10,9; 12,3]
Количество женщин с содержанием гемоглобина менее 11,0 г/дл	8 (11,4 %)	13 (40,6 %) p_1=0,01 p_4=0,01	24 (51,06 %) p_1 = 0,0000 p_4 = 0,0002	10 (17,2 %)	10 (33,3 %) p_1 = 0,01
Гематокритное число (HCT), %	32,7 [31,2; 34,5]	30,0 [28,6; 31,5] p_1 = 0,0000 p_4 = 0,0004	29,6 [27,1; 32,7] p_1 = 0,001 p_4 = 0,002	32,5 [30,6; 34,8]	31,3 [29,8; 33,3]
Средний объем эритроцитов (MCV), фл	84,2 [81,1; 88,3]	83,6 [80,3; 87,4]	81,5 [77,6; 86,9]	81,9 [78,3; 87,3]	84,0 [79,9; 87,6]
Среднее содержание гемоглобина в эритроцитах (MCH), пг	30,8 [29,0; 32,3]	30,4 [29,5; 32,7]	29,7 [28,0; 31,9]	30,1 [28,2; 31,8]	30,6 [28,2; 31,7]
Средняя концентрация гемоглобина в эритроцитах (MCHC), г/дл	36,6 [35,5; 37,4]	36,4 [35,9; 37,5]	36,3 [35,2; 37,1]	36,2 [35,1;37,5]	36,4 [36,2; 36,9]
Ширина распределения эритроцитов (RDW), %	14,1 [13,4; 15,0]	14,6 [13,9; 15,1]	14,5 [13,4; 14,8]	14,7 [13,7; 15,1]	14,4 [13,9; 15,1]
Ширина распределения гемоглобина (HDW), г/дл	3,1 [2,8; 3,3]	3,0 [2,7; 3,2]	3,2 [2,9; 3,7]	3,1 [2,7; 3,2]	2,9 [2,7; 3,2]

Примечание. p_1 – уровень статистической значимости различий при сравнении с контролем; p_2 – уровень статистической значимости различий при сравнении с умеренной ПЭ; p_3 – уровень статистической значимости различий при сравнении с тяжёлой ПЭ; p_4 – уровень статистической значимости различий при сравнении с ХАГ.

от степени тяжести. Анализ морфометрических данных эритроцитов у женщин с ПЭ, независимо от наличия ХАГ, показал, что у женщин данных групп на фоне анемического синдрома сохраняются нормоцитоз и нормохромия эритроцитов. Подобные изменения показателей эритроцитарного звена зарегистрированы при развитии у беременных анемии, ассоциированной с ПЭ [19].

Характер выявленных изменений эритроцитарных параметров у женщин с ПЭ определяется комплексным воздействием многих факторов, которые поддерживают и усиливают анемический синдром. Согласно современным данным, снижение уровня эритроцитов, гемоглобина и гематокрита крови у беременных женщин в III триместре беременности чаще всего является результатом физиологической гемодилюции и железодефицитным состоянием [20]. Наряду с общепринятыми причинами развития анемии во время беременности, у женщин с ПЭ развитие анемического синдрома может быть связано с особенностями синтеза эритропоэтина на фоне циркулирующих провоспалительных цитокинов, продукция которых увеличивается при данной форме гипертензивных расстройств [21]. Рядом исследователей отмечено, что некоторые провоспалительные цитокины (фактор некроза опухоли, интерлейкин-1 и др.) способны нарушать продукцию эритропоэтина в почках [22], что может явиться дополнительным этиологическим фактором развития анемического синдрома.

Развитие анемии взаимосвязано с нарушением газотранспортной функции крови. Эти изменения, с одной стороны, приводят к уменьшению скорости транспорта кислорода к тканям, с другой, к снижению паракринных регуляторных реакций за счёт выделения сигнальных молекул (АТФ, оксид азота) эритроцитами, что приводит к нарушению микрореологических свойств самих эритроцитов и тем самым к ухудшению микрокровотока в обменных капиллярах [14].

Анализ расширенной тромбоцитограммы позволил выявить количественно-морфометрические особенности циркулирующих тромбоцитов у женщин с различными формами гипертензивных расстройств (табл. 2).

Полученные в ходе анализа данные свидетельствуют о снижении количества тромбоцитов у женщин с тяжёлой ПЭ при сравнении с контролем ($p = 0,046$). В группе с ХАГ данный показатель был наибольшим по медиане и статистически значимо отличался от группы контроля и групп с умеренной и тяжёлой ПЭ ($p = 0,025$, $p = 0,004$ и $p = 0,000$ соответственно). Изменения среднего объёма тромбоцитов и их анизоцитоза были схожими: данные показатели были повышены во всех трёх группах женщин, имеющих ПЭ, по отношению к контролю. Так, средний объём тромбоцитов в группе с умеренной ПЭ и ХАГ с присоединившейся ПЭ был статистически значимо выше по сравнению с контрольной группой ($p = 0,026$ и $p = 0,038$ соответственно), за исключением статистически значимого отличия при сравнении уровня среднего объёма тромбоцитов между тяжёлой ПЭ и контролем ($p = 0,086$). В группах с ПЭ, независимо от наличия ХАГ, степень гетерогенности по объёму циркулирующих тромбоцитов была статистически значимо выше по сравнению с контролем ($p = 0,001$, $p = 0,002$ и $p = 0,000$ соответственно), а в группе с умеренной ПЭ данный показатель статистически значимо отличался от группы женщин с ХАГ ($p = 0,002$). В группе с ХАГ показатели среднего объёма тромбоцитов и их анизоцитоза были наименьшими среди всех групп с гипертензивными расстройствами и статистически значимо отличались от групп женщин с тяжёлой ПЭ ($p = 0,019$ и $p = 0,004$) и ХАГ с присоединившейся ПЭ ($p = 0,004$ и $p = 0,001$). Количество больших форм тромбоцитов было наибольшим при тяжёлой ПЭ и ХАГ с присоединившейся ПЭ по отношению к группе контроля ($p = 0,009$ и $p = 0,002$ соответственно). Гранулоцитарность тромбоцитов была наибольшей в группах с тяжёлой ПЭ и ХАГ с присоединившейся ПЭ при сравнении

Таблица 2

Количественная и морфометрическая характеристика тромбоцитов у женщин с различными формами гипертензивных расстройств в III триместре беременности

Table 2

Quantitative and morphometric characteristics of platelets in women with various forms of hypertensive disorders in the third trimester of pregnancy

Показатель	Контроль ($n = 70$)	Умеренная ПЭ ($n = 32$)	Тяжёлая ПЭ ($n = 47$)	ХАГ ($n = 58$)	ХАГ с ПЭ ($n = 30$)
Количество тромбоцитов (PLT), $\times 10^3$ кл./мкл	211 [178–245]	195 [172–242]	196 [169–230] $p_1 = 0,046$	238 [196–276] $p_1 = 0,025$ $p_2 = 0,004$ $p_3 = 0,000$	217 [165–257]
Анизацитоз тромбоцитов (PDW), %	56,5 [52,2–61,7]	64 [58,2–67,5] $p_1 = 0,001$	62,6 [57,2–65,8] $p_1 = 0,002$	57,3 [53,7–61] $p_2 = 0,002$ $p_3 = 0,004$	63,4 [58–67,2] $p_1 = 0,000$ $p_4 = 0,001$
Средний объём тромбоцитов (MPV), фл	9,6 [9–10,4]	10,4 [9,4–11,4] $p_1 = 0,026$	10,1 [9–11,1]	9,3 [8,7–10,1] $p_2 = 0,004$ $p_3 = 0,019$	10,7 [9,3–11,5] $p_1 = 0,038$ $p_4 = 0,004$
Количество больших форм тромбоцитов (LP), $\times 10^3$ кл./мкл	7 [5–10]	10 [6–16] $p_1 = 0,024$	10 [7–17] $p_1 = 0,009$	7 [6–12]	13 [8–15] $p_1 = 0,002$
Средняя концентрация компонентов тромбоцитов (MPC), г/дл	25,4 [24,1–26,5]	25,8 [24,9–26,8]	27,5 [25,1–28,2] $p_1 = 0,000$ $p_2 = 0,007$	25,9 [25–26,6] $p_3 = 0,002$	26,7 [26,2–27,7] $p_1 = 0,000$ $p_2 = 0,007$ $p_4 = 0,001$
Средняя сухая масса тромбоцитов (MPM), пг	2,22 [2,1–2,4]	2,47 [2,25–2,65] $p_1 = 0,018$	2,45 [2,32–2,75] $p_1 = 0,000$	2,28 [2,15–2,44] $p_2 = 0,015$ $p_3 = 0,000$	2,53 [2,38–2,76] $p_1 = 0,000$ $p_4 = 0,000$

Примечание. p_1 – уровень статистической значимости различий при сравнении с контролем; p_2 – уровень статистической значимости различий при сравнении с умеренной ПЭ; p_3 – уровень статистической значимости различий при сравнении с тяжёлой ПЭ; p_4 – уровень статистической значимости различий при сравнении с ХАГ.

с группой контроля ($p = 0,000$ в обоих случаях), умеренной ПЭ ($p = 0,007$ в обоих случаях) и группой с ХАГ ($p = 0,002$ и $p = 0,001$ соответственно). Уровень средней сухой массы тромбоцитов был повышен во всех трёх группах с ПЭ при сравнении с контролем ($p = 0,018$, $p = 0,000$ и $p = 0,000$). У женщин с ХАГ данный показатель не отличался от группы контроля и среди всех групп с гипертензивными расстройствами был статистически значимо ниже ($p = 0,015$, $p = 0,000$ и $p = 0,000$ соответственно).

Согласно данным последних лет, изменения, происходящие в тромбоцитарном звене гемостаза, при преэклампсии характеризуются усиленным потреблением тромбоцитов, возникшим в результате их повышенной активации в ответ на эндотелиальную дисфункцию – центральное звено патогенеза ПЭ [23, 24]. Уменьшение количества циркулирующих тромбоцитов по типу отрицательной обратной связи вызывает усиление тромбоцитопоэза в красном костном мозге, что проявляется увеличением концентрации их молодых форм (больших по объёму), что продемонстрировано в данном исследовании. Учитывая тесную связь таких параметров как средний объём (MPV), степень анизоцитоза (PDW) и уровень средней сухой массы (MPM) тромбоцитов с уровнем их больших форм можно сказать, что данные параметры могут выступать в роли дополнительных маркеров усиленного тромбоцитообразования.

Гранулоцитарность тромбоцитов (MPC) – показатель, характеризующий степень насыщенности кровяных пластинок гранулами (основных источников модуляторов гемостатических реакций), в первую очередь альфа-гранул, содержащих большое количество тромбоцитарных факторов [25]. По нашим данным, отмечено повышение показателя MPC у женщин с тяжёлой ПЭ и ПЭ на фоне ХАГ, что может говорить как о потенциальном усилении агрегационной способности тромбоцитов в этих группах, так и наоборот – о её снижении, обусловленном нарушением процессов дегрануляции активированных тромбоцитов. Вышесказанное утверждение основано на данных ряда авторов, согласно которым тромботические осложнения были сопряжены как со снижением данного параметра [26–28], так и с его увеличением [29], что в свою очередь диктует необходимость проведения гемостазиологических тестов, позволяющих оценить функциональную активность тромбоцитов.

На основании полученных клинико-лабораторных данных был проведён дискриминантный анализ, который позволил выявить дополнительные диагностические критерии ПЭ – уровень СрАД при поступлении в стационар и средней сухой массы тромбоцитов (MPM), которые выступали в качестве переменных в созданной математической формуле:

$$Y = -32,0683 - (-0,3259 \times X_1) - (0,5853 \times X_2),$$

где: –32,0683 – константа; Y – диагностический индекс, X_1 – уровень среднего артериального давления; X_2 – уровень средней сухой массы тромбоцитов. При значении Y более нуля, можно диагностировать преэклампсию с точностью 91,3 %, чувствительностью 87,5 % и специфичностью 94,6 % (заявка на изобретение «Способ диагностики преэклампсии» № 2019137567 от 22.11.2019 г.).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследование образцов крови на современных гематологических анализаторах позволяет получить данные об изменениях морфометрических характеристик эритроцитов и тромбоцитов, которые в свою очередь могут быть полезны при дифференциальной диагностике различных форм гипертензивных расстройств у беременных.

У женщин с ПЭ разной степени тяжести в III триместре беременности выявлено, что снижение уровня гемоглобина, эритроцитов и гематокрита не сопровождается изменением эритроцитарных индексов. Развитие анемии у данной группы женщин имеет нормоцитарный и нормохромный характер.

У женщин с преэклампсией, независимо от наличия ХАГ, в III триместре беременности выявлено усиление тромбоцитопоэза.

У женщин с тяжёлой преэклампсией и с ХАГ с присоединившейся преэклампсией в III триместре беременности выявлено увеличение гранулоцитарности тромбоцитов.

Значение уровня среднего артериального давление и средней сухой массы тромбоцитов могут быть использованы для диагностики преэклампсии.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Гипертензивные расстройства во время беременности, в родах и послеродовом периоде. Преэклампсия. Эклампсия. Клинические рекомендации (протокол лечения).* М.; 2016. URL: http://www.uzo.kurgan-med.ru/files/downloads/3483.pdf

2. Харламова Н.В., Чаша Т.В., Панова И.А., Рокотянская Е.А., Шилова Н.А., Ананьева М.А. Состояние здоровья новорожденных, родившихся от матерей с гипертензивными расстройствами при беременности. *Вестник Ивановской медицинской академии.* 2017; 22(3): 19-23.

3. Braunthal S, Brateanu A. Hypertension in pregnancy: Pathophysiology and treatment. *SAGE Open Med.* 2019; 7: 1-15. doi: 10.1177/2050312119843700

4. Савельева Г.М., Сухих Г.Т., Серов В.Н., Радзинский В.Е. (ред.). *Акушерство: национальное руководство.* 2-е изд. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2018.

5. Рокотянская Е.А., Малышкина А.И., Назаров С.Б., Смирнова Е.В., Сытова Л.А., Панова И.А. Показатели эндотелиальной дисфункции как критерий дифференциальной диагностики гипертензивных расстройств у беременны. *Клиническая медицина.* 2016; 8(3): 75-80. doi: 10.17691/stm2016.8.3.08

6. Глухова Т.Н., Чеснокова Н.П., Рогожина И.Е., Сергеева О.Н. Современные представления о патогенезе гестоза как совокупности типовых патологических процессов и патологических состояний, осложняющих течение беременности. *Научное обозрение. Медицинские науки.* 2016; (2): 12-32.

7. Панова И.А., Рокотянская Е.А., Кузьменко Г.Н., Кудрявшова А.В., Попова И.Г., Сытова Л.А., и др. Маркеры воспалительной реакции и дисфункции эндотелия у беременных с гипертензивными расстройствами различного генеза. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2016; 61(10): 692-696. doi: 10.18821/08692084-2016-10-692-696

8. Boeldt DS, Bird IM. Vascular adaptation in pregnancy and endothelial dysfunction in preeclampsia. *J Endocrinol.* 2017; 232(1): 27-44. doi: 10.1530/JOE-16-0340

9. Amel AF El-Sayed. Preeclampsia: A review of the pathogenesis and possible management strategies based on its pathophysiological derangements. *Taiwan J Obstet Gynecol.* 2017; 56(5): 593-598. doi: 10.1016/j.tjog.2017.08.004

10. Афанасьева А.А., Смирнова О.В., Ржевская Н.В., Мартюшова Е.А. Оксидативный стресс и преэклампсия. *Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture.* 2019; 11(4): 107-117. doi: 10.12731/2658-6649-2019-11-4-107-117

11. Кокоева Ф.Б., Торчинов А.М., Цахилова С.Г., Балиос Л.В., Кузнецов В.П., Сарахова Д.Х. Роль окислительного стресса в патогенезе преэклампсии (обзор литературы). *Проблемы репродукции*. 2014; (4): 7-10.

12. Taravati A, Tohidi F. Comprehensive analysis of oxidative stress markers and antioxidants status in preeclampsia. *Taiwan J Obstet Gynecol*. 2018; 57: 779-790. doi: 10.1016/j.tjog.2018.10.002

13. Мороз В.В., Голубев А.М., Афанасьев А.В., Кузовлев А.Н., Сергунова В.А., Гудкова О.Е., и др. Строение и функция эритроцита в норме и при критических состояниях. *Общая реаниматология*. 2012; 8(1): 52-60. doi: 10.15360/1813-9779-2012-1-52

14. Муравьёв А.В., Комлев В.Л., Михайлов П.В., Ахапкина А.А., Муравьёв А.А. Деформация эритроцитов: роль в микроциркуляции. *Ярославский педагогический вестник*. 2013; 3(2): 93-102.

15. Мирошниченко Т.И., Конопля А.А., Медведева И.Н., Гаврилюк Е.В., Быстрова Н.А. Стандартное лечение и коррекция структурно-функциональных свойств эритроцитов у больных гестозом. *Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия: Медицина. Фармация*. 2012; (16): 55-57.

16. Бакунович А.В., Буланова К.Я. Структурные и функциональные перестройки тромбоцитов при преэклампсии беременных. *Медицинская экология*. 2018; (4): 76-83.

17. Журавлева С.М., Шубенок Е.А., Бакунович А.В., Сидоренко В.Н., Лобанок Л.М., Буланова К.Я. Особенности изменения функции тромбоцитов при преэклампсии. В: Маскевич С.А., Позняк С.С. (ред.). *Сахаровские чтения 2017 года: экологические проблемы XXI века: материалы 17-й международной научной конференции, 18–19 мая 2017 г., г. Минск, Республика Беларусь: в 2 ч.* Минск: ИВЦ Минфина; 2017: 152-153.

18. Кузник Б.И., Загородняя Э.Д., Иозефсон С.А., Исакова Н.В. Тромбодинамический метод исследования системы гемостаза у женщин с физиологически протекающей беременностью и осложнённой преэклампсией. *Журнал акушерства и женских болезней*. 2018; 67(6): 38-44. doi: 10.17816/JOWD67638-44

19. Медведев Б.И., Сашенков С.Л., Сюндюкова Е.Г. Исходы беременности и родов у женщин с гестозом и анемией. *Акушерство и гинекология*. 2012; (2): 24-30.

20. Орлов Ю.П., Лукач В.Н., Говорова Н.В., Байтугаева Г.А. Обмен железа при пре- и эклампсии или в плену опасных заблуждений. *Архив акушерства и гинекологии им. В.Ф. Снегирева*. 2015; 2(2): 11-18.

21. Джаббарова Ю.К., Исмоилова Ш.Т., Мусаходжаева Д.А. Значение цитокинов в патогенезе преэклампсии у беременных с железодефицитной анемией. *Журнал акушерства и женских болезней*. 2019; 68(5): 37-44. doi: 10.17816/JOWD68537-44

22. Сахин В.Т., Маджанова Е.Р., Крюков Е.В., Казаков С.П., Рукавицин О.А. Анемия хронических заболеваний: особенности патогенеза и возможности терапевтической коррекции (обзор литературы и результаты собственных исследований). *Онкогематология*. 2018; 13(1): 45-53. doi: 10.17650/1818-8346-2018-13-1-45-53

23. Konukoglu D, Uzun H. Endothelial dysfunction and hypertension. In: Islam M.S. (eds). *Hypertension: from basic research to clinical practice*. Springer, Cham; 2016: 511-540. doi: 10.1007/5584_2016_90

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. Мининкова А.И. Аналитические возможности гематологических анализаторов в оценке тромбоцитов (обзор литературы). *Клиническая лабораторная диагностика*. 2012; (3): 27-33.

26. Nurdan C, Ali I, Mehmet G, Zulfu B, Evrim O. Platelet activity indices in patients with deep vein thrombosis. *Clin Appl Thromb Hemost*. 2011; 18(2): 206-210. doi: 10.1177/1076029611419841

27. Asanuma M, Seino K, Mizuno T, Nasu M, Yamauchi F, Fujishima M. Plasma thrombopoietin level and platelet indices in hemodialysis patients receiving recombinant human erythropoietin. *Int J Lab Hematol*. 2010; 32(3): 312-319. doi: 10.1111/j.1751-553X.2009.01191.x

28. Bennaoum MN, Lazreg H, Adda A, Hammadi M. A new proposition for the screening of platelet function defects using a hematology analyzer. *Med Hypotheses*. 2017; 101: 28-29. doi: 10.1016/j.mehy.2017.02.005

29. Waseem F Al-Tameemi, Ameer MM Ameen. Significance of platelet indices in patients with acute ischemic stroke. *The Iraqi Journal of Agricultural Sciences*. 2012; 10(4): 383-389.

REFERENCES

1. *Hypertensive disorders during pregnancy, childbirth and the postpartum period. Preeclampsia Eclampsia. Clinical guidelines (treatment protocol)*. M.; 2016. URL: http://www.uzo.kurgan-med.ru/files/downloads/3483.pdf (In Russ.)

2. Kharlamova NV, Chasha TV, Panova IA, Rokotyanskaya EA, Shilova NA, Ananieva MA. Health status of the newborns whose mothers suffered from hypertensive disorders in pregnancy. *Vestnik Ivanovskoy meditsinskoy akademii*. 2017; 22(3): 19-23. (In Russ.)

3. Braunthal S, Brateanu A. Hypertension in pregnancy: Pathophysiology and treatment. *SAGE Open Med*. 2019; 7: 1-15. doi: 10.1177/2050312119843700

4. Savelyeva GM, Sukhikh GT, Serov VN, Radzinsky VE. (ed.) *Obstetrics: national guidelines*. 2nd edition. M.: GEOTAR-Media; 2018. (In Russ.)

5. Rokotyanskaya EA, Malyshkina AI, Nazarov SB, Smirnova EV, Sytova LA, Panova IA. Markers of endothelial dysfunction as criteria for differential diagnosis of hypertensive disorders in pregnant women. *Klinicheskaya meditsina*. 2016; 8(3): 75-80. doi: 10.17691/stm2016.8.3.08 (In Russ.)

6. Glukhova TN, Chesnokova NP, Rogozhina IE, Sergeeva ON. Modern understanding of the pathogenesis of preeclampsia as a set of sample pathological process and pathological conditions, complicated pregnancy. *Nauchnoye obozreniye. Meditsinskiye nauki*. 2016; (2): 12-32. (In Russ.)

7. Panova IA, Rokotyanskaya EA, Kuzmenko GN, Kudryashova AV, Popova IG, Sytova LA, et al. The markers of inflammation reaction and dysfunction of endothelium in pregnant women with hypertension disorders of various genesis. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2016; 61(10): 692-696. doi: 10.18821/08692084-2016-10-692-696 (In Russ.)

8. Boeldt DS, Bird IM. Vascular adaptation in pregnancy and endothelial dysfunction in preeclampsia. *J Endocrinol*. 2017; 232(1): 27-44. doi: 10.1530/JOE-16-0340

9. Amel AF El-Sayed. Preeclampsia: A review of the pathogenesis and possible management strategies based on its pathophysiological derangements. *Taiwan J Obstet Gynecol*. 2017; 56(5): 593-598. doi: 10.1016/j.tjog.2017.08.004

10. Afanasyeva AA, Smirnova OV, Rzhevskaya NV, Martyushova EA. Oxidative stress and preeclampsia. *Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture*. 2019: 11(4): 107-117. (In Russ.) doi: 10.12731/2658-6649-2019-11-4-107-117

11. Kokoeva FB, Torchinov AM, Tcakhilova SG, Balios LV, Kuznetcov VP, Sarahova DH. The role of oxidative stress in the pathogenesis of preeclampsia (a review). *Problemy reproduktsii*. 2014; (4): 7-10. (In Russ.)

12. Taravati A, Tohidi F. Comprehensive analysis of oxidative stress markers and antioxidants status in preeclampsia. *Taiwan J Obstet Gynecol*. 2018; 57: 779-790. doi: 10.1016/j.tjog.2018.10.002

13. Moroz VV, Golubev AM, Afanasyev AV, Kuzovlev AN, Sergunova VA, Gudkova OE, et al. The structure and function of a red blood cell in health and critical conditions. *General Reanimatology*. 2012; 8(1): 52. doi: 10.15360/1813-9779-2012-1-52 (In Russ.)

14. Muravyov AV, Komlev VL, Mikhaylov PV, Akhapkina AA, Muravyov AA. Erythrocyte deformation: the role in microcirculation. *Yaroslavskiy pedagogicheskiy vestnik*. 2013; 3(2): 93-102. (In Russ.)

15. Miroshnichenko TI, Konoplya AA, Medvedeva IN, Gavriliouk EV, Bystrova NA. Standard treatment in correction of structural functional properties of erythrocytes at patients with gestosis.

Nauchnye vedomosti Belgorodskogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Meditsina. Farmatsiya. 2012; (16): 55-57. (In Russ.)

16. Bakunovicha AV, Bulanova KYa. Structural and functional alterations of platelets in pregnant women with preeclampsia. *Medical ecology*. 2018; (4): 76-83. (In Russ.)

17. Zhuravleva SM, Shubenok EA, Bakunovich AV, Sidorenko VN, Lobanok LM, Bulanova KYa. Features of changes in platelet function in preeclampsia. In: Maskevich SA, Poznyak SS (eds.) *Sakharov readings 2017: environmental problems of the XXI century: proceedings of the conference, 18-19 May 2017, Minsk city, Republic of Belarus*. Minsk: IVTS Minfin; 2017; 152-153. (In Russ.)

18. Kuznik BI, Zagorodnyaya ED, Iozefson SA, Isakova NV. Thrombodynamic method of evaluation of some hemostatic parameters in healthy pregnant women and in women with preeclampsia. *Journal of obstetrics and woman's diseases*. 2018; 67(6): 38-44. doi: 10.17816/JOWD67638-44 (In Russ.)

19. Medvedev BI, Sashenkov SL, Syundyukova EG. The outcomes of pregnancy and labor in women with gestosis and anemia. *Obstetrics and gynecology*. 2012; (2): 24-30. (In Russ.)

20. Orlov YuP, Lukach VN, Govorova NV, Baytugaeva GA. Iron metabolism in pre-eclampsia and eclampsia: hazards of erroneous views. *V.F. Snegirev archives of obstetrics and gynecology*. 2015; 2(2): 11-18. (In Russ.)

21. Dzhabbarova YuK, Ismoilova ShT, Musakhodzhayeva DA. Importance of cytokines in the pathogenesis of preeclampsia in pregnant women with iron deficiency anemia. *Journal of Obstetrics and Woman's Diseases*. 2019; 68(5): 37-44. doi: 10.17816/JOWD68537-44 (In Russ.)

22. Sakhin VT, Madzhanova ER, Kryukov EV, Kazakov SP, Rukavitsin OA. Anemia of chronic disease: features of pathogenesis and possible therapeutic correction (literature review and results of own research). *Oncohematology*. 2018; 13(1): 45-53. doi: 10.17650/1818-8346-2018-13-1-45-53 (In Russ.)

23. Konukoglu D, Uzun H. Endothelial dysfunction and hypertension. In: Islam M.S. (eds) *Hypertension: from basic research to clinical practice*. Springer, Cham; 2016: 511-540. doi: 10.1007/5584_2016_90

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. Mininkova AI. The analytical possibilities of hematologic analyzers in evaluation of thrombocytes: a literature review. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2012; (3): 27-33. (In Russ.)

26. Nurdan C, Ali I, Mehmet G, Zulfu B, Evrim O. Platelet activity indices in patients with deep vein thrombosis. *Clin Appl Thromb Hemost*. 2011; 18(2): 206-210. doi: 10.1177/1076029611419841

27. Asanuma M, Seino K, Mizuno T, Nasu M, Yamauchi F, Fujishima M. Plasma thrombopoietin level and platelet indices in hemodialysis patients receiving recombinant human erythropoietin. *Int J Lab Hematol*. 2010; 32(3): 312-319. doi: 10.1111/j.1751-553X.2009.01191.x

28. Bennaoum MN, Lazreg H, Adda A, Hammadi M. A new proposition for the screening of platelet function defects using a hematology analyzer. *Med Hypotheses*. 2017; 101: 28-29. doi: 10.1016/j.mehy.2017.02.005

29. Waseem F Al-Tameemi, Ameer MM Ameen. Significance of platelet indices in patients with acute ischemic stroke. *The Iraqi Journal of Agricultural Sciences*. 2012; 10(4): 383-389.

Сведения об авторах

Баев Тимофей Олегович – аспирант кафедры акушерства и гинекологии, неонатологии, анестезиологи и реаниматологии, ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В.Н. Городкова» Минздрава России, e-mail: baevtimofey@mail.ru, http://orcid.org/0000-0002-8198-0316

Садов Руслан Игоревич – аспирант кафедры акушерства и гинекологии, неонатологии, анестезиологи и реаниматологии, ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В.Н. Городкова» Минздрава России, e-mail: mail4Ruslan@mail.ru, http://orcid.org/0000-0002-8776-7743

Панова Ирина Александровна – доктор медицинских наук, доцент, заведующая кафедрой акушерства и гинекологии, неонатологии, анестезиологии и реаниматологии, ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В.Н. Городкова» Минздрава России, e-mail: ia_panova@mail.ru, http://orcid.org/0000-0002-0828-6547

Назаров Сергей Борисович – доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора по научной работе, заведующий лабораторией клинической биохимии и генетики, ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В.Н. Городкова» Минздрава России, e-mail: sb_nazarov@mail.ru, http://orcid.org/0000-0003-1545-7655

Кузьменко Галина Николаевна – доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории клинической биохимии и генетики, ФГБУ «Ивановский научно-исследовательский институт материнства и детства им. В.Н. Городкова» Минздрава России, e-mail: kuzmenko_gnk@mail.ru, http://orcid.org/0000-0001-5772-9271

Information about the authors

Timofey O. Baev – Postgraduate at the Department of Obstetrics and Gynecology, Neonatology, Anesthesiology and Resuscitation, V.N. Gorodkov Ivanovo Research Institute of Motherhood and Childhood, e-mail: baevtimofey@mail.ru, http://orcid.org/0000-0002-8198-0316

Ruslan I. Sadov – Postgraduate at the Department of Obstetrics and Gynecology, Neonatology, Anesthesiology and Resuscitation, V.N. Gorodkov Ivanovo Research Institute of Motherhood and Childhood, e-mail: mail4Ruslan@mail.ru, http://orcid.org/0000-0002-8776-7743

Irina A. Panova – Dr. Sc. (Med.), Docent, Head of the Department of Obstetrics and Gynecology, Neonatology, Anesthesiology and Resuscitation, V.N. Gorodkov Ivanovo Research Institute of Motherhood and Childhood, e-mail: ia_panova@mail.ru, http://orcid.org/0000-0002-0828-6547

Sergey B. Nazarov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Deputy Director for Research, Head of the Laboratory of Clinical Biochemistry and Genetics, V.N. Gorodkov Ivanovo Research Institute of Motherhood and Childhood, e-mail: sb_nazarov@mail.ru, http://orcid.org/0000-0003-1545-7655

Galina N. Kuzmenko – Dr. Sc. (Med.), Leading Research Officer at the Laboratory of Clinical Biochemistry and Genetics, V.N. Gorodkov Ivanovo Research Institute of Motherhood and Childhood, e-mail: kuzmenko_gnk@mail.ru, http://orcid.org/0000-0001-5772-9271

Статья получена: 15.05.2020. Статья принята: 03.09.2020. Статья опубликована: 26.10.2020.
Received: 15.05.2020. Accepted: 03.09.2020. Published: 26.10.2020.

DOI: 10.29413/ABS.2020-5.5.5

Эффекты взаимодействия белковых компонентов мембраны эритроцитов у здоровых лиц и больных язвенным колитом

Сергеева А.С., Пивоваров Ю.И., Дмитриева Л.А., Сай О.В.

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

Автор, ответственный за переписку: Дмитриева Людмила Аркадьевна, e-mail: viclud2009@mail.ru

Резюме

Обоснование. *Известно, что при язвенном колите происходит нарушение барьерной функции слизистой оболочки толстой кишки, что может приводить к патологическим изменениям внутри клеток, в том числе и в мембранах красных клеток крови. Стабильность мембраны эритроцитов и её способность к деформации во многом зависит от состава и взаимодействия белковых структур внутри неё. Установлено значительное снижение содержания основных белковых компонентов мембраны эритроцитов при язвенном колите в сравнении со здоровыми людьми.*

Цель исследования. *Учитывая имеющиеся данные, нами было проведено дополнительное исследование с целью анализа эффектов взаимоотношений белковых компонентов цитоплазматической мембраны эритроцитов у больных язвенным колитом и клинически здоровых людей.*

Материалы и методы. *В исследовании принимали участие мужчины и женщины с язвенным колитом в период обострения (n = 51) и клинически здоровые лица, сопоставимые по полу и возрасту (n = 30). Проводили анализ эффектов взаимодействия десяти основных белковых компонентов мембраны эритроцита. Для каждого исследуемого белка определяли его среднее значение, а внутри изучаемых групп все белки были разделены на две категории – выше и ниже их среднего уровня. Для количественной оценки вклада каждого выявленного фактора использовали дисперсионный анализ.*

Результаты. *Обнаружено, что эффект взаимосвязи присущ далеко не всем категориям белковых компонентов. При язвенном колите исчезают эффекты взаимодействия с такими важными структурными белками, как спектрины и анкирин. Во влиянии на белок полосы 4.1, в отличие от клинически здоровых лиц, появляется новый независимый фактор – глицеральдегид-3-фосфат-дегидрогеназа, а в воздействии на актин – анион-транспортный белок.*

Заключение. *При язвенном колите в мембране красных клеток крови происходят значительные изменения, приводящие к нарушению взаимосвязей между белками, снижению общего содержания исследуемых белков и утрате некоторых эффектов воздействия независимых факторов на уровень тех или иных белковых структур. Основываясь на полученных данных, можно вносить корректировки в лечение язвенного колита с целью укрепления мембраны эритроцитов.*

Ключевые слова: *эритроцит, мембранные белки, язвенный колит*

Для цитирования: Сергеева А.С., Пивоваров Ю.И., Дмитриева Л.А., Сай О.В. Эффекты взаимодействия белковых компонентов мембраны эритроцитов у здоровых лиц и больных язвенным колитом. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(5): 39-46. doi: 10.29413/ABS.2020-5.5.5

Effects of Interaction of Protein Components of Erythrocyte Membrane in Healthy Individuals and Patients with Ulcerative Colitis

Sergeeva A.S., Pivovarov Yu.I., Dmitrieva L.A., Sai O.V.

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

Corresponding author: Lyudmila A. Dmitrieva, e-mail: viclud2009@mail.ru

Abstract

Background. *It is known that in ulcerative colitis there is a violation of the barrier function of the colon mucosa, which can lead to pathological changes inside cells, including in the membranes of red blood cells. The stability of the erythrocyte membrane and its ability to deform largely depends on the composition and interaction of protein structures inside it. A significant decrease in the content of the main protein components of the erythrocyte membrane in ulcerative colitis was found in comparison with healthy people.*

Aim of the research. *Taking into account the available data, we conducted an additional study to analyze the effects of the relationship between the protein components of the cytoplasmic membrane of erythrocytes in patients with ulcerative colitis and clinically healthy people.*

Materials and methods. *The study involved men and women with ulcerative colitis in the period of exacerbation (n = 51) and clinically healthy individuals matched by sex and age (n = 30). The analysis of the interaction effects of ten main protein components of the erythrocyte membrane was carried out. For each protein under study, its average value was determined, and within the studied groups all proteins were divided into two categories – above and below their average level. Analysis of variance was used to quantify the contribution of each identified factor.*

Results. *It was found that the effect of the relationship is not inherent in all categories of protein components. In ulcerative colitis, the effects of interaction with such important structural proteins as spectrins and ankyrin disappear. In the effect of band 4.1 protein, in contrast to clinically healthy individuals, a new independent factor appears – glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, and in the effect on actin – an anion-transport protein.*

Conclusion. *In ulcerative colitis, significant changes occur in the membrane of red blood cells, leading to a violation of the relationships between proteins, a decrease in the total content of the studied proteins and the loss of some of*

the effects of independent factors on the level of certain protein structures. Based on the findings, adjustments can be made to the treatment of ulcerative colitis in order to strengthen the erythrocyte membrane.

Key words: *erythrocyte, membrane proteins, ulcerative colitis*

For citation: Sergeeva A.S., Pivovarov Yu.I., Dmitrieva L.A., Sai O.V. Effects of Interaction of Protein Components of Erythrocyte Membrane in Healthy Individuals and Patients with Ulcerative Colitis. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(5): 39-46. doi: 10.29413/ABS.2020-5.5.5

ОБОСНОВАНИЕ

Установлено, что при язвенном колите (ЯК) происходит нарушение барьерной функции слизистой оболочки толстой кишки. Это приводит к накоплению токсических веществ в клетках различных органов, что может приводить к патологическим изменениям внутри клеток, в том числе и в мембранах красных клеток крови [1]. Так, авторами было показано статистически значимое повышение у пациентов с ЯК уровня мембраносвязанного гемоглобина в эритроците, а также увеличение показателя сорбционной способности эритроцита [1]. При оценке компонентов фосфорного спектра клеточных мембран обнаружено увеличение концентрации неорганического фосфата и снижение уровня 2,3-дифосфоглицерата, что свидетельствует о нарушении энергозависимых процессов в клеточных мембранах у больных. Кроме того было установлено, что у таких пациентов снижается уровень восстановленного глутатиона [2]. Доказано, что такие нарушения в период обострения ЯК носят хронический характер, а при достижении ремиссии заболевания структурно-функциональные свойства мембраны полностью не восстанавливаются [1].

Мембрана красных клеток крови на 40–60 % состоит из белковых структур, которые принимают участие в адгезии клеток крови, обладают ферментативной активностью, а также могут выполнять транспортную и сигнальную функции [3]. Многими исследованиями доказана важная роль эритроцитов в регуляции различных метаболических процессов как в условиях нормы, так и при различных патологиях [4, 5]. Стабильность мембраны эритроцитов и её способность к деформации во многом зависит от состава и взаимодействия белковых структур внутри неё. При длительном течении заболевания происходят структурно-функциональные изменения в мембранах клеток. В ранее проведённых нами исследованиях представлены данные об изменениях структурно-функциональных свойств белков мембраны эритроцитов у больных эссенциальной артериальной гипертензией, осложнённой и не осложнённой метаболическим синдромом [6], а также данные о значимых изменениях белкового состава мембраны красных клеток крови при ЯК [7]. В частности, было показано значительное снижение содержания основных белковых компонентов мембраны эритроцитов при ЯК в сравнении со здоровыми людьми [7].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

С учётом уже имеющихся данных, была поставлена следующая цель исследования – провести анализ эффектов взаимоотношений исследуемых белковых компонентов цитоплазматической мембраны эритроцитов у больных ЯК и клинически здоровых людей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнена с соблюдением этических норм медицинских исследований с участием человека, изложенных в Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации. Исследование проведено в соответствии с протоколом № 9 от 09.11.2012 г. комитета по биомедицинской этике ФГБНУ ИНЦХТ. В исследовании принимали участие мужчины и женщины с ЯК в период острой атаки ($n = 51$). Средний возраст пациентов – 38,7 ± 1,9 года, средняя длительность заболевания – 5,7 ± 0,9 года. Для сравнения выявленных закономерностей у больных с нормой все изучаемые параметры определялись у клинически здоровых людей ($n = 30$), сопоставимых по полу и возрасту. У пациентов обеих групп проводили забор периферической венозной крови и осаждали эритроцитарную массу, отмывая её от сыворотки в физиологическом растворе (NaCl). Далее проводили процедуру выделения фракции мембран эритроцитов по методу Dodge [8].

Выделение и очистку водорастворимой фракции белков мембраны эритроцитов проводили в холодной комнате (+4 °C). Суспензию мембран исследуемых клеток замораживали в жидком азоте и гомогенизировали с добавлением фенилметилсульфонилфторида (PMSF) (BioChemica, Германия) в 0,1 М Трис-HCl-буфере с 0,1% додецилсульфатом натрия (SDS) (Gerbu, Германия) (pH 7,6). Полученную вытяжку трёхкратно центрифугировали при 15000 g. Выделенный суммарный белок осаждали четырёхкратным объёмом ацетона и растворяли в 0,5 М Трис-HCl-буфере (pH 6,8). Концентрацию полученного общего белка определяли по методу Брэдфорда [9].

Для разделения белков по молекулярному весу проводили электрофорез по методу Лэммли [10] в полиакриламидном геле (ПААГ) с концентрацией разделяющего геля 7,5 % и 15 % в присутствии SDS. На каждый трек наносили по 10 мкг суммарного белка. Окраску гелей осуществляли раствором Кумасси R-250 (Sigma, США). Вид каждого отдельного белка на электрофореграмме определяли с использованием набора маркеров фирмы Thermo Scientific (#26614, Литва). В результате обработки 324 электрофореграмм провели оценку содержания 10 мембранных белков эритроцитов, из них структурные белки – α-спектрин, β-спектрин, анкирин, актин и тропомиозин, интегральные – анион-транспортный белок (АТБ), белок полосы 4.1, транспортёр глюкозы и ферментативные – глицеральдегид-3-фосфат-дегидрогеназа (Г-3-ФДГ) и глутатион-S-трансфераза (Глут-S-Транс). Содержание каждого исследуемого белка определяли по площади под пиком максимальной интенсивности окраски Кумасси R-250, с применением компьютерной программы [11].

Для каждого исследуемого белка, как у пациентов, так и у здоровых лиц, определяли его среднее значение, а внутри каждой группы уровни всех белков разделили на две категории – выше и ниже их среднего уровня.

Статистический анализ полученных данных проводили с использованием пакета программ Statistica 10. При этом использовали модуль дисперсионного анализа главных эффектов (Maineffects ANOVA). Вклад каждого белка (фактора) в изменение зависимой переменной (ЗП) оценивали по формуле: $ЗП = (SSc / SSoc) \times 100$ %, где *ЗП* – зависимая переменная; *SSc* – сумма квадратов отклонений, вызванная фактором(и); *SSoc* – общая сумма квадратов отклонений.

Для количественной оценки характера изменения средней величины ЗП при различном сочетании двухуровневых факторов применяли модуль экспериментального планирования для трёх и двух факторов воздействия на ЗП (экспериментальный дизайн, DOE). Ниже приведены планы, используемые нами в ходе исследований, где A, B, C, D и E являлись независимыми факторами (табл. 1).

Таблица 1

Модуль экспериментального планирования для трёх и двух факторов воздействия на зависимую переменную (экспериментальный дизайн, DOE)

Table 1

Experimental planning module for three and two factors influencing the dependent variable (design of the experiment)

№ п/п	План: $2^{(3-0)}$			План: $2^{(2-0)}$	
	A	B	C	D	E
1	ниже	ниже	ниже	ниже	ниже
2	выше	ниже	ниже	выше	ниже
3	ниже	выше	ниже	ниже	выше
4	выше	выше	ниже	выше	выше
5	ниже	ниже	выше		
6	выше	ниже	выше		
7	ниже	выше	выше		
8	выше	выше	выше		

Рассматривались только те планы, при которых все независимые факторы оказывали значимое влияние на ЗП с вероятностью не ниже 0,95 %. Перед выполнением анализов проводилась проверка на нормальность распределения и однородность дисперсии всех исследуемых ЗП.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Обнаружено, что эффект взаимосвязи присущ далеко не всем категориям белковых компонентов. Так, в группе здоровых людей была выявлена сопряжённость α- и β-спектринов с тремя белками: белок полосы 4.1, анкирин и актин. Вклад каждого белка в изменение уровня спектринов был разным и соответственно эффекты взаимодействия α- и β-спектринов с выявленными белками также были различным (табл. 2).

Кроме этого, в группе здоровых людей была обнаружена сопряжённая связь белка полосы 4.1 с АТБ и транспортёром глюкозы, связь анкирина с АТБ, транспортёром глюкозы и Г-3-ФДГ, а также актина с белком полосы 4.1 и Глут-S-Транс (табл. 2).

Следует отметить, что общая степень влияния обнаруженных белков на уровень α- и β-спектринов и полосы 4.1 находилась в пределах 40 %, в то время как степень влияния выявленных факторов на уровень

Таблица 2

Главные эффекты двух и трёх двухуровневых факторов на белковые компоненты мембраны эритроцитов у клинически здоровых лиц

Table 2

Main effects of two and three two-level factors on the protein components of the erythrocyte membrane in clinically healthy individuals

Белки	Факторы	SS	cc	F	*p*	%
α-спектрин	Белок полосы 4.1	0,468	1	6,81	0,015	15,3
	Анкирин	0,287	1	4,17	0,049	9,4
	Актин	0,510	1	7,15	0,011	16,7
	Ошибка	1,789	27			41,4
	Всего	3,054	29			
β-спектрин	Белок полосы 4.1	0,613	1	7,866	0,009	17,5
	Анкирин	0,418	1	5,365	0,029	11,9
	Актин	0,453	1	5,818	0,023	12,9
	Ошибка	2,026	27			42,3
	Всего	3,510	29			
Белок полосы 4.1	АТБ	0,255	1	13,73	0,001	27,1
	Транспортёр глюкозы	0,259	1	13,99	0,001	27,5
	Ошибка	0,427	28			54,6
	Всего	0,941	29			
Анкирин	АТБ	0,062	1	6,646	0,018	14,9
	Транспортёр глюкозы	0,067	1	7,152	0,014	16,1
	Г-3-ФДГ	0,092	1	9,850	0,005	22,1
	Ошибка	0,195	27			53,1
	Всего	0,416	29			
Актин	Белок полосы 4.1	0,462	1	12,1	0,002	37,4
	Глут-S-Транс	0,244	1	6,39	0,019	19,7
	Ошибка	0,529	28			57,1
	Всего	1,235	29			

Примечание (здесь и далее). SS – межвыборочная дисперсия; Ошибка – внутривыборочная дисперсия; Всего – общая изменчивость; cc – число степеней свободы; % – проценты вклада каждого фактора и их сумма.

белка полосы 4.1, анкирина и актина превышала 50 %. Также интересным представляется то, что состав независимых выявленных факторов для разных белков оказался различным, кроме спектринов. Обнаружено, что наибольшую роль в воздействии на исследуемые белки оказывают белок полосы 4.1 и АТБ. Полученные данные не противоречат ранее проводимым исследованиям в области эритроцитарной мембраны.

В группе пациентов с ЯК было обнаружено значительно меньшее количество сопряжённых связей белковых компонентов мембраны эритроцитов, чем в группе здоровых людей. Так был выявлен эффект воздействия АТБ, транспортёр глюкозы и Г-3-ФДГ на белок полосы 4.1. При этом ведущую роль в этом эффекте играет уровень АТБ (52,6 %) Общий вклад изменения содержания данных белков в изменение уровня белка полосы 4.1 составил 62,4 % (табл. 3). Также обнаружен эффект воздействия Глут-S-Транс, полосы 4.1 и АТБ на актин. В данном случае воздействие Глут-S-Транс и белка полосы 4.1 было примерно одинаковое (26,8 и 24 % соответственно), а эффект влияния АТБ на актин был в меньшей степени (15,4 %). Общий вклад этих белков в изменение содержания актина составил 66,2 % (табл. 3).

Таким образом, при ЯК исчезли эффекты взаимодействия с такими важными структурными белками, как спектрины и анкирин. Во влиянии на белок полосы 4.1, в отличие от клинически здоровых лиц, появился третий независимый фактор – Г-3-ФДГ, а в воздействии на актин – АТБ. Все эти данные позволяют предполагать о дестабилизации эритроцитарной мембраны при данной патологии.

Используя полученные данные, нами были составлены модели с предсказанными значениями уровней выявленных белков мембраны эритроцитов у здоровых людей и пациентов с ЯК. Из полученных моделей видно, что при отклонении тех или иных параметров от среднего их значения, уровень содержания исследуемых белковых факторов будет также изменяться в сторону увеличения, либо уменьшения значения от средней величины.

Так, в группе здоровых людей обнаружена сопряжённая связь α- и β-спектринов с отклонением от среднего значения актина, анкирина и полосы 4.1 (рис. 1). Известно, что половину всех мембранных белков красных клеток крови составляют спектрины, белок полосы 4.1, анкирин и актин. Одни из наиболее важных структурных белков цитоплазматической мембраны являются спектрины, отвечающие за формирование ячеек примембранного цитоскелета, с которыми связаны филаменты актина. Основной функцией спектринов является поддержание формы клеток и обеспечение их устойчивости к деформации. Кроме того, спектрины принимают участие в латеральной подвижности интегральных белков мембраны эритроцитов [12]. Не менее важной является группа якорных белков цитоскелета красных клеток крови, которую составляют анкирин и белок полосы 4.1. Эти белки обеспечивают прикрепление белковых структур цитоскелета к интегральным белкам, тем самым регулируя форму, стабильность и деформируемость эритроцита. Таким образом, все структурные белки мембраны взаимосвязаны между собой и изменение содержания одних белков будет сказываться на уровень других белковых компонентов мембраны.

По нашим данным, при одновременном снижении всех выявленных предикторов ниже среднего уровня, средняя величина как α-, так и β-спектринов будет минимальной. При увеличении содержания всех предикторов выше среднего уровня показатели α- и β-спектринов будут иметь максимальное значение (рис. 1).

Для полосы 4.1 в группе здоровых людей была выявлена сопряжённая связь с АТБ и транспортёром глюкозы (рис. 2). Белок полосы 4.1 в мембране эритроцитов обеспечивает стабильность взаимодействия спектринов с актиновыми филаментами при формировании основных компонентов цитоскелета, через которые осуществляется регуляция деформируемости клетки [12]. Основная роль белка полосы 4.1 заключается в его множественных взаимодействиях с другими белками, в том числе с мембранными транспортёрами эритроцитов и АТБ. Связывание белка полосы 4.1 с АТБ (его цитоплазматической частью) дополнительно укрепляет мембранный каркас красных клеток крови [13]. По данным многофакторного дисперсионного анализа у здоровых людей при одновременном увеличении уровня АТБ и транспортёра глюкозы выше средних значений, уровень белка полосы 4.1 будет максимально высоким. И наоборот, при снижении показателей АТБ и транспортё-

Таблица 3

Главные эффекты трёх двухуровневых факторов на белки полосы 4.1 и актина у пациентов с язвенным колитом

Table 3

Main effects of three two-level factors on band 4.1 proteins and actin in patients with ulcerative colitis

Белки	Факторы	SS	cc	F	*p*	%
Белок полосы 4.1	АТБ	0,181	1	65,7	0,0000	52,6
	Транспортёр глюкозы	0,015	1	5,46	0,024	4,3
	Г-3-ФДГ	0,019	1	6,94	0,011	5,5
	Ошибка	0,129	47			62,4
	Всего	0,344	50			
Актин	Глут-S-Транс	0,570	1	36,5	0,0000	26,8
	Белок полосы 4.1	0,509	1	32,7	0,0000	24,0
	АТБ	0,327	1	21,0	0,0000	15,4
	Ошибка	0,717	47			66,2
	Всего	2,123	50			

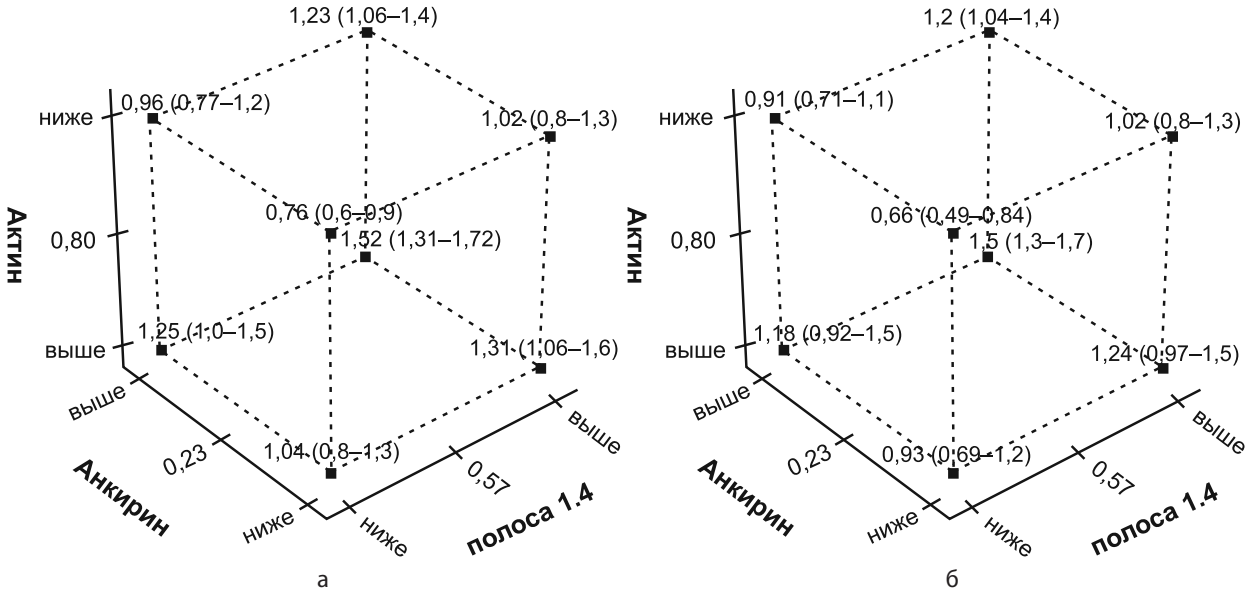


Рис. 1. Влияние различного сочетания двухуровневых независимых факторов на средние величины α- (а) и β-спектринов (б) у клинически здоровых лиц. (Здесь и далее в скобках показаны 95% доверительные интервалы. В центре, напротив каждого фактора, дана его средняя величина).

Fig. 1. Influence of various combinations of two-level independent factors on the mean values of α- (a) and β-spectrins (б) in clinically healthy individuals. (Hereinafter, 95% confidence intervals are shown in parentheses. In the center, opposite each factor, its average value is given).

ра глюкозы ниже среднего значения, уровень полосы 4.1 будет минимальным (рис. 2).

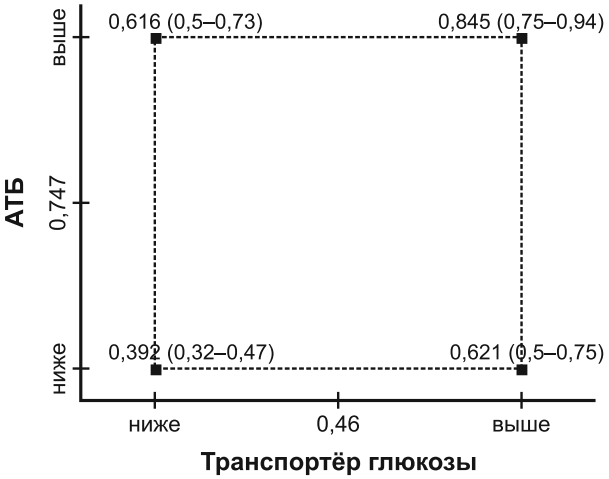


Рис. 2. Влияние различного сочетания двухуровневых независимых факторов на средние величины белка полосы 4.1 у клинически здоровых лиц.

Fig. 2. Influence of various combinations of two-level independent factors on the mean values of band 4.1 protein in clinically healthy individuals.

Кроме вышеперечисленных белков у здоровых людей обнаружены взаимодействия якорного белка анкирина с тремя белками: АТБ, транспортёр глюкозы и Г-3-ФДГ, и сократительного белка актина с белком полосы 4.1 и Глут-S-Транс (рис. 3).

По данным многофакторного дисперсионного анализа при одновременном снижении уровня АТБ и Г-3-ФДГ ниже средних показателей, но увеличении содержания транспортёра глюкозы выше средних значений, уровень анкирина у здоровых лиц будет минимальным. А при содержании АТБ и Г-3-ФДГ выше, а транспортёра глюкозы – ниже средних значений, уровень анкирина будет максимальным (рис. 3а).

В отношении актина в группе здоровых людей дисперсионный анализ выявил следующие закономерности: уровень актина будет максимальным при одновременном увеличении значений полосы 4.1 и Глут-S-Транс выше средних показателей, и минимальным – при показателях этих белков ниже их средних значений (рис. 3б).

Одним из основных якорных белков мембраны красных клеток крови является анкирин. Данный белок обеспечивает надёжное прикрепление белков цитоскелета (спектринов) к интегральным белкам эритроцита. От степени фосфорилирования анкирина зависит его соединение с другими белками цитоскелета, что, в свою очередь, определяет форму и деформабельность эритроцита [12]. Известно, что активированная форма анкирина (белок полосы 2.2) имеет более высокое сродство к спектрину и АТБ [3]. Однако следует учитывать, что при усиленном взаимодействии анкирина с АТБ происходит отсоединение белка полосы 4.1 от цитоплазматической части белка 3, что приводит к уменьшению стабильности мембраны эритроцита [13]. Всё это поясняет выявленную нами закономерность и сопряжённость уровня анкирина с двумя транспортными белками (АТБ и транспортёр глюкозы) и ферментом гликолиза (Г-3-ФДГ) у здоровых лиц.

В группе больных ЯК сопряжённых связей между исследуемыми белками мембраны эритроцитов оказалось намного меньше, чем в группе здоровых людей. Так, по результатам дискриминантного анализа у пациентов с ЯК обнаружены эффекты взаимодействия белка полосы 4.1 с АТБ, транспортёром глюкозы и Г-3ФДГ (рис. 4а) и актина с тремя белками: Глут-S-Транс, белок полосы 4.1 и АТБ (рис. 4б). При одновременном увеличении уровня Г-3-ФДГ, транспортёра глюкозы и АТБ выше средних показателей у больных ЯК содержание белка полосы 4.1 будет также максимальным. При снижении уровня данных белков ниже средних показателей содержание

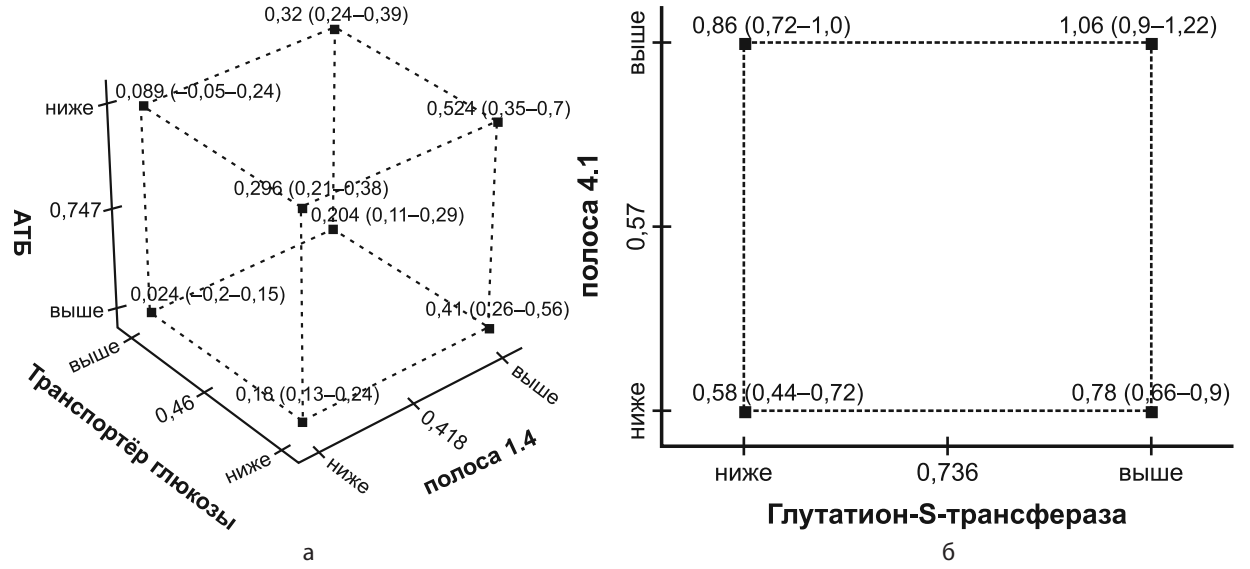


Рис. 3. Влияние различного сочетания двухуровневых независимых факторов на средние величины анкирина (а) и актина (б) у клинически здоровых лиц.

Fig. 3. Influence of various combinations of two-level independent factors on the mean values of ankyrin (a) and actin (б) in clinically healthy individuals.

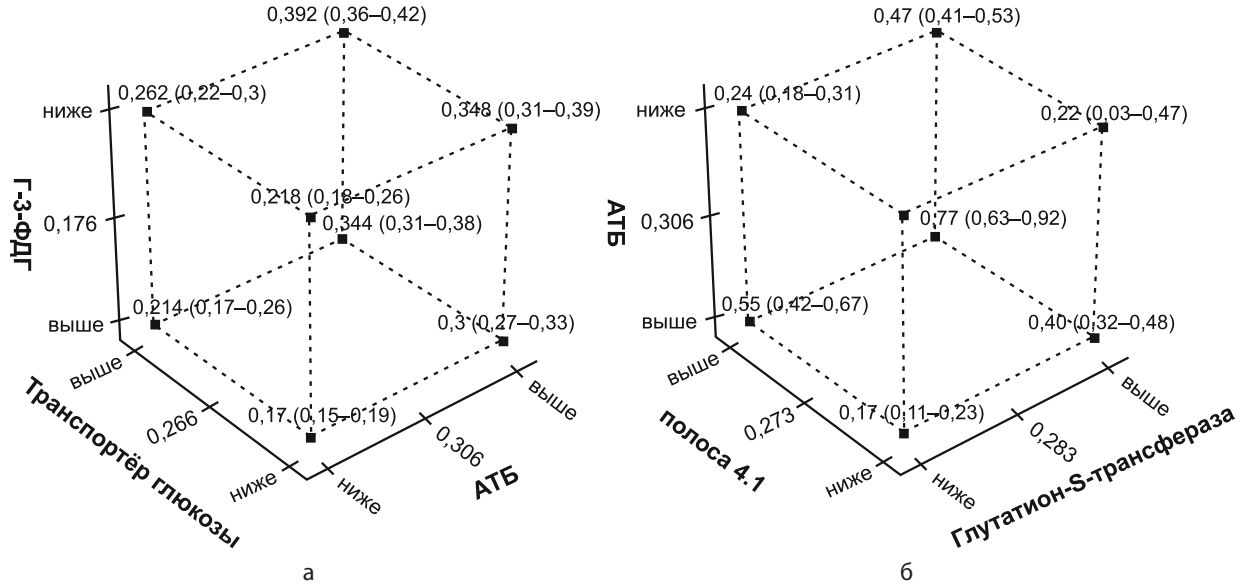


Рис. 4. Влияние различного сочетания двухуровневых независимых факторов на средние величины белка полосы 4.1 (а) и актина (б) у пациентов с язвенным колитом.

Fig. 4. Influence of various combinations of two-level independent factors on the mean values of band 4.1 protein (a) and actin (б) in patients with ulcerative colitis.

полосы 4.1 будет минимальным. Для актина выявлена следующая закономерность – при одновременном снижении выявленных факторов ниже среднего уровня содержание актина будет минимальным. При уровнях белка полосы 4.1 и Глут-S-Транс ниже среднего, но уровне АТБ выше средних показателей – уровень актина будет максимальным (рис. 4б).

Утрата связей таких структурных белков, как спектрины и анкирин в группе пациентов с ЯК свидетельствует о дестабилизации мембраны эритроцитов при данном заболевании, уменьшении её деформабельности и эластичности. С другой стороны, во взаимодействии белка полосы 4.1 добавилась связь с Г-3-ФДГ, что косвенно может свидетельствовать об увеличении энергозатрат для поддержания структурной организации мембраны эритроцитов. А связь актина с другими белками у пациентов с ЯК, нежели у здоровых людей, также подчёркивает структурную и функциональную дестабилизацию мембраны эритроцитов при данной патологии.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, при ЯК в мембране красных клеток крови происходят значительные и необратимые изменения, приводящие к нарушению взаимосвязей между белками, снижению общего содержания исследуемых нами белков, и как показали наши исследования, утрате некоторых эффектов воздействия независимых факторов на уровень тех или иных белковых структур. Учитывая

наличие системной интоксикации у таких больных, подобные нарушения в мембранах эритроцитов возможны как на уровне периферической крови, так и на разных стадиях эритропоэза. Основываясь на полученных нами данных, можно вносить корректировки в лечение ЯК с целью укрепления мембраны эритроцитов.

Работа выполнена на оборудовании ЦКП «Биоаналитика» Сибирского института физиологии и биохимии растений СО РАН (г. Иркутск).

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

Благодарность

Авторы благодарят заместителя директора по научной работе СИФИБР СО РАН (г. Иркутск) д.б.н., профессора Г.Б. Боровского за помощь в процессе проведения данной работы и ценные замечания при обсуждении её результатов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Чашкова Е.Ю., Коротаева Н.С., Горохова В.Г., Кузнецова Э.Э., Пак В.Е., Григорьев Е.Г. Повреждение клеточных мембран у пациентов с язвенным колитом. *Колопроктология*. 2010; (2): 30-35.

2. Коротаева Н.С., Кузнецова Э.Э., Горохова В.Г., Федоров С.В., Чашкова Е.Ю. Состояние клеточных мембран у больных неспецифическим язвенным колитом. *Acta biomedica scientifica*. 2007; 1(53): 178-179.

3. Stillwell W. *An introduction to biological membranes. Composition, structure and function*. 2nd ed. UK London: Elsevier Science; 2016.

4. Конопля А.И., Шульгинова А.А. Хроническая ишемия головного мозга: состояние структурно-функциональных свойств эритроцитов. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия*. 2016; 1(60): 17-22.

5. Литвинова Е.С., Сорокин А.В., Долгарева С.А., Бушмина О.Н., Харченко А.В., Конопля Н.А. Белки и липиды мембраны эритроцитов при острой и хронической алкогольной интоксикации. *Современные проблемы науки и образования*. 2017; (2): 115-122.

6. Аникиенко (Бабушкина) И.В., Пивоваров Ю.И., Сергеева А.С., Боровский Г.Б. Изменение характера связи между компонентами белкового спектра мембраны эритроцитов у больных гипертонической болезнью. *Биологические мембраны*. 2019; 36(2): 137-146.

7. Сергеева А.С., Янькова Т.С., Сай О.В. Сравнительный анализ содержания белковых компонентов цитоплазматической мембраны эритроцитов у здоровых лиц и пациентов с язвенным колитом. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2019; (10): 115-120. doi: 10.17513/mjpfi.12877

8. Dodge J.T., Mitchell C., Hanahan D.J. The preparation and chemical characteristics of hemoglobin-free ghosts of human erythrocytes. *Arch Biochem Biophys*. 1963; 100(1): 118-130. doi: 10.1016/0003-9861(63)90042-0

9. Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*. 1976; (72): 248-254. https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3

10. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head bacteriophage T4. *Nature*. 1970; 227(5259): 680-685. doi: 10.1038/227680a0

11. Пивоваров Ю.И., Сергеева А.С., Курильская Т.Е. Способ математической обработки набора белковых полос, полученных с помощью электрофореза. *Acta biomedica scientifica* 2014; 3(97): 101-104.

12. Бабушкина И.В., Пивоваров Ю.И., Курильская Т.Е., Сергеева А.С., Ильина О.П., Боровский Г.Б. Белковый спектр мембраны эритроцитов и его изменения при патологии. *Биологические мембраны*. 2015; 32(3): 168-174.

13. Муравьев А.В., Комлев В.Л., Михайлов П.В., Ахапкина А.А., Муравьева А.А. Деформация эритроцитов: роль в микроциркуляции. *Ярославский пед. вестник*. 2013; (2): 93-102.

REFERENCES

1. Chashkova EYu, Korotaeva NS, Gorokhova VG, Kuznetsova EE, Pak VE, Grigorev EG. Cell membrane damage in patients with ulcerative colitis. *Koloproktologiya*. 2010; (2): 30-35. (In Russ.)

2. Korotaeva NS, Kuznetsova EE, Gorokhova VG, Fedorov SV, Chashkova EYu. The state of cell membranes in patients with non-specific ulcerative colitis. *Acta biomedica scientifica*. 2007; 1(53): 178-179. (In Russ.)

3. Stillwell W. *An introduction to biological membranes. Composition, structure and function*. 2nd ed. UK London: Elsevier Science; 2016.

4. Konoplya AI, Shulginova AA. Chronic ischemia of the brain: state of structural and functional properties of red blood cells. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya.* 2016; 1(60): 17-22. (In Russ.)

5. Litvinova ES, Sorokin AV, Dolgareva SA, Bushmina ON, Harchenko AV, Konoplya NA. Proteins and lipids of the erythrocyte membrane in acute and chronic alcohol intoxication. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2017; (2): 115-122. (In Russ.)

6. Anikienko (Babushkina) IV, Pivovarov YuI, Sergeevaa AS, Borovskij GB. Changes in the nature of the relationship between the components of the protein spectrum of the erythrocyte membrane in patients with hypertension. *Biologicheskie membrany*. 2019; 36(2): 137-146. (In Russ.)

7. Sergeeva AS, Yankova TS, Saj OV. Comparative analysis of the content of protein components of the cytoplasmic membrane of red blood cells in healthy individuals and patients with ulcerative colitis. *Mezhdunarodnyi zhurnal prikladnykh i fundamentalnykh issledovanii*. 2019; (10): 115-120. doi: 10.17513/mjpfi.12877 (In Russ.)

8. Dodge JT, Mitchell C, Hanahan DJ. The preparation and chemical characteristics of hemoglobin-free ghosts of human erythrocytes. *Arch Biochem Biophys*. 1963; 100(1): 118-130. doi: 10.1016/0003-9861(63)90042-0

9. Bradford M.M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry.* 1976; (72): 248-254. https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90527-3

10. Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head bacteriophage T4. *Nature.* 1970; 227(5259): 680-685. doi: 10.1038/227680a0

11. Pivovarov YuI, Sergeeva AS, Kurilskaya TE. Method for mathematical processing of a set of protein bands obtained by electrophoresis. *Acta biomedica scientifica*. 2014; (3): 101-104. (In Russ.)

12. Babushkina IV, Pivovarov YuI, Kurilskaya TE, Sergeeva AS, Ilyina OP, Borovskiy GB. Protein spectrum of the erythrocyte membrane and its changes in pathology. *Biologicheskie membrany*. 2015; 32(3): 168-174. (In Russ.)

13. Muravyev AV, Komlev VL, Mihajlov PV, Akhapkina AA, Muravyeva AA. Red blood cell deformity: role in microcirculation. *Yaroslavskiy pedagogicheskiy vestnik*. 2013; (2): 93-102. (In Russ.)

Сведения об авторах

Сергеева Анна Сергеевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории клеточной патофизиологии и биохимии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: sergeeva1111@yandex.ru, http://orcid.org/0000-0002-4096-933X

Пивоваров Юрий Иванович – доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории клеточной патофизиологии и биохимии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», http://orcid.org/0000-0002-6094-3583

Дмитриева Людмила Аркадьевна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории патофизиологии и биохимии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: viclud2009@mail.ru, http://orcid.org/0000-0001-6725-3377

Сай Олеся Владимировна – младший научный сотрудник лаборатории клеточной патофизиологии и биохимии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: leechka1986@mail.ru, http://orcid.org/0000-0002-5069-7497

Information about the authors

Anna S. Sergeeva – Cand. Sc. (Biol.), Senior Research Officer at the Laboratory of Cell Pathophysiology and Biochemistry, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: sergeeva1111@yandex.ru, http://orcid.org/0000-0002-4096-933X

Yury I. Pivovarov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Leading Research Officer at the Laboratory of Cell Pathophysiology and Biochemistry, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, http://orcid.org/0000-0002-6094-3583

Lyudmila A. Dmitrieva – Cand. Sc. (Med.), Senior Research Officer at the Laboratory of Cell Pathophysiology and Biochemistry, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: viclud2009@mail.ru, http://orcid.org/0000-0001-6725-3377

Olesya V. Sai – Junior Research Officer at the Laboratory of Cell Pathophysiology and Biochemistry, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: leechka1986@mail.ru, http://orcid.org/0000-0002-5069-7497

Вклад авторов

Сергеева А.С. – получение данных для анализа и анализ полученных данных (выделение мембраны эритроцитов, выделение белка, определение концентрации общего белка, электрофорез белков), написание текста статьи

Пивоваров Ю.И. – разработка дизайна исследования, статистическая обработка полученных данных, редактирование статьи

Дмитриева Л.А. – получение материала для исследования и анализ полученных данных, участие в написание текста статьи

Сай О.В. – получение данных для анализа и анализ полученных данных (выделение мембраны эритроцитов, выделение белка, определение концентрации общего белка, электрофорез белков), участие в написании текста статьи

Статья получена: 10.08.2020. Статья принята: 16.09.2020. Статья опубликована: 26.10.2020.
Received: 10.08.2020. Accepted: 16.09.2020. Published: 26.10.2020.

НЕВРОЛОГИЯ И НЕЙРОХИРУРГИЯ
NEUROLOGY AND NEUROSURGERY

DOI: 10.29413/ABS.2020-5.5.6

Геморрагический инсульт: нейрофизиологические предикторы острого периода

Курепина И.С. [1], Зорин Р.А. [1], Жаднов В.А. [1], Сорокин О.А. [2]

[1] ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Минздрава России (390026, г. Рязань, ул. Высоковольтная, 9, Россия); [2] ГБУ «Областная клиническая больница г. Рязань» (390039, г. Рязань, ул. Интернациональная, 3а, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Курепина Инна Сергеевна, e-mail: innakurepina90@mail.ru

Резюме

Введение. *Инсульт является важнейшей медико-социальной проблемой, что обусловлено его высокой долей при заболеваемости, последующей инвалидности и смертности среди пациентов трудоспособного возраста.*

Цель исследования. *Прогнозирование течения острого периода геморрагического паренхиматозного инсульта (супратенториальных полушарных гематом) на основе данных нейровизуализации (локализация, латерализация, объём гематомы) и нейрофизиологических данных.*

Материалы и методы*. Обследовано 86 пациентов, страдающих геморрагическим инсультом супратенториальной локализации. Проводилась оценка уровня сознания, очаговой неврологической синдромологии, данных нейровизуализации, нейрофизиологических данных (ЭЭГ, вариабельность сердечного ритма, слуховой потенциал, связанный с событием). Состояние больных при поступлении и в динамике оценивалось на основании шкалы комы Глазго, расширенной шкалы комы Глазго и NIHSS*

Результаты. *На основе результатов кластерного анализа и экспертных оценок выделено две группы пациентов – с относительно благоприятным и неблагоприятным течением острого периода геморрагического инсульта. Установлены различия нейрофизиологических показателей в группах: увеличение мощности тета-колебаний и уменьшение частоты тета-колебаний электроэнцефалограммы, снижение амплитуды N2P2-компонента когнитивного вызванного потенциала P300, увеличение частоты сердечных сокращений при неблагоприятном течении. Создана искусственная нейронная сеть, позволяющая прогнозировать течение острого периода геморрагического инсульта при поступлении.*

Заключение. *Методы машинного обучения позволяют создать алгоритмы прогнозирования уровня сознания пациентов, острого периода развития внутримозговых гематом супратенториальной локализации, возможного развития исходов заболевания у пациентов с нетравматическими внутримозговыми гематомами на основе показателей нейрофизиологических показателей, а также объёма гематомы. Коррелятом неблагоприятной динамики является сниженный биоэлектрогенез в ассоциативных зонах коры при опознании стимула и принятии решения, а также неблагоприятная динамика уровня сознания при этом соответствовала снижению амплитуды и большей латентности P2N2-пиков, отражая недостаточную активацию корковых структур при опознании стимула.*

Ключевые слова: *геморрагический инсульт, NHISS, кластерный анализ, нейронная сеть*

Для цитирования: Курепина И.С., Зорин Р.А., Жаднов В.А., Сорокин О.А. Геморрагический инсульт: нейрофизиологические предикторы острого периода. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(5): 47-52. doi: 10.29413/ABS.2020-5.5.6

Hemorrhagic Stroke: Neurophysiological Predictors of the Acute Period

Kurepina I.S. [1], Zorin R.A. [1], Zhadnov V.A. [1], Sorokin O.A. [2]

[1] Ryazan State Medical University named after academician I.P. Pavlov (Vysokovoltnaya str. 9, Ryazan 390026, Russian Federation); [2] Ryazan Regional Clinical Hospital (Internatsionalnaya str. 3a, Ryazan 390039, Russian Federation)

Corresponding author: Inna S. Kurepina, e-mail: innakurepina90@mail.ru

Abstract

Background. *Stroke is the most important medical and social problem due to its high proportion of morbidity, disability and mortality among patients of working age.*

Aims. *The aim of the study is to predict the course of the acute period of hemorrhagic parenchymal stroke (supratentorial hemispheric hematomas) based on neuroimaging data (localization, lateralization, hematoma volume) and neurophysiological data.*

Materials and methods. *86 patients suffering from hemorrhagic stroke of supratentorial localization were examined. The level of consciousness, cognitive functions, and neuroimaging data were evaluated (EEG, heart rate variability,*

event-related auditory potential). The condition of patients on admission and over time was assessed on the basis of the Glasgow Coma Scale (GCS), the expanded Glasgow Coma Scale and the NIHSS.

Results. *Based on the results of cluster analysis and expert assessments, two groups of patients were identified: with a relatively favorable and unfavorable course of the acute period of hemorrhagic stroke. Differences in neurophysiological parameters in the groups were established: an increase in the power of theta oscillations and a decrease in the frequency of theta oscillations of the electroencephalogram, a decrease in the amplitude of the N2P2-component of the cognitive evoked P300 potential, an increase in heart rate in an unfavorable course. An artificial neural network has been created to predict the course of the acute period of hemorrhagic stroke upon admission.*

Conclusion. *Machine learning methods allow creating algorithms for predicting the level of consciousness of patients, the acute period of development of intracerebral hematomas of supratentorial localization, the possible development of disease outcomes in patients with non-traumatic intracerebral hematomas based on neurophysiological parameters, as well as the volume of hematoma. A correlate of the unfavorable dynamics turned out to be a reduced bioelectrogenesis in the associative zones of the cortex during stimulus recognition and decision-making, as well as the unfavorable dynamics of the level of consciousness corresponded to a decrease in the amplitude and greater latency of P2N2-peaks, reflecting insufficient activation of the cortical structures during stimulus recognition.*

Key words: *hemorrhagic stroke, NHISS, cluster analysis, neural network*

For citation: Kurepina I.S., Zorin R.A., Zhadnov V.A., Sorokin O.A. Hemorrhagic Stroke: Neurophysiological Predictors of the Acute Period. *Acta biomedica scientifica.* 2020; 5(5): 47-52. doi: 10.29413/ABS.2020-5.5.6

ВВЕДЕНИЕ

Согласно статистическим исследованиям American Heart Association, по данным NHANES, у 7,2 млн американцев старше 20 лет зафиксировано нарушение мозгового кровообращения за период 2011–2014 гг. Каждый год примерно 795 000 человек испытывают новый или рецидивирующий инсульт, около 610 000 из них – первичный инсульт, а 185 000 – повторные случаи. Из всех инсультов 87 % – это ишемические инсульты, 10 % – геморрагические инсульты и 3 % – субарахноидальные кровоизлияния [1, 2, 3]. В нашей стране точная государственная статистика инсультов отсутствует. Ведётся лишь подсчёт общего количества цереброваскулярных заболеваний.

Прогнозирование течения острого периода геморрагического инсульта составляет одну из актуальных проблем ангионеврологии, что обусловлено максимальным напряжением компенсаторно-приспособительных механизмов организма в острый период кровоизлияний в головной мозг, наибольшей летальностью в данный период, а также тем, что течение острого периода геморрагического инсульта во многом определяет долговременный прогноз как в плане социальной реабилитации и функционального восстановления (инвалидизации), так и в плане качества жизни пациентов [4, 5].

По данным литературы [6], основным фактором, детерминирующим течение острого периода, является локализация и объём кровоизлияния и во многом соответствующий данным феноменам уровень очаговой неврологической симптоматики.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Целью исследования является прогнозирование течения острого периода геморрагического паренхиматозного инсульта (супратенториальных полушарных гематом) на основе данных нейровизуализации (локализация, латерализация, объём гематомы) и нейрофизиологических данных на основе технологии машинного обучения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включено 86 пациентов (46 мужчин, 40 женщин) с установленным диагнозом геморрагического инсульта, средний возраст составил 67,65 года. Диагноз установлен на основании данных клинического обследования, данных нейровизуализации (рентгеновской компьютерной томографии) и данных анамнеза.

Рентгеновская компьютерная томография (РКТ) выполнялась на аппарате Toshiba aquilion 64 (Toshiba, Япония).

Диагноз «геморрагический инсульт» определялся на основе данных нейровизуализации, клинической синдромологии и анамнеза (особенностей начала и течения заболевания), клинико-лабораторных данных.

Критериями включения в исследование являлись:

– подтверждённая компьютерной томографией нетравматическая полушарная гематома супратенториальной локализации, верифицированная в день поступления;

– отсутствие у пациентов показаний для хирургического лечения.

Критериями исключения являлись:

– субтенториальная локализация гематом (мозжечковая, стволовая);

– субарахноидальные кровоизлияния, кровоизлияния аневризматического характера;

– вентрикулярные кровоизлияния.

Состояние больных при поступлении и в динамике оценивалось на основании шкалы комы Глазго (ШКГ), расширенной шкалы комы Глазго и NIHSS [7].

Оценка уровня сознания по ШКГ осуществлялась стандартным образом в баллах от 3 до 15 на основе реакции открывания глаз, двигательной реакции, речевой реакции.

Тяжесть неврологической симптоматики в остром периоде геморрагического инсульта оценивалась при помощи шкалы NHISS с оценкой уровня сознания, очаговой неврологической симптоматики.

Для оценки динамики состояния пациентов с геморрагическим инсультом оценивались показатели NIHSS, а также шкалы комы Глазго на 1-е (день поступления), 3-и и 21-е сутки. Первично выделение группы пациентов с неблагоприятным периодом основывалось на гибели пациентов вследствие отёка-набухания головного мозга и центральной асфиксии, вне зависимости от уровня исходного неврологического дефицита. Среди выживших пациентов методом кластерного анализа дополнительно выделены подгруппы с различной динамикой неврологического дефицита. После этого данные подгруппы оценены по уровню динамики очагового неврологического статуса и уровню расстройств сознания, сформированы окончательные группы пациентов: группа 1 – пациенты с благоприятным течением (регресс неврологического дефицита), группа 2 – пациенты с неблагоприятным течением (гибель пациентов в период с 1-х по 28-е сутки, стабильный выраженный неврологический дефицит или его нарастание).

Регистрация электроэнцефалограмм осуществлялась при помощи программного комплекса «Нейрон-Спектр. Net» по схеме 10-20 при 19-канальной записи с анализом спектральных показателей электроэнцефалограммы, анализом функции когерентности и кросскорреляционным анализом. Регистрация эндогенного вызванного потенциала P300 осуществлялась при помощи модуля «Нейрон-Спектр-ДВП.Net» при предъявлении слухового стимула (тоны различной высоты) с анализом компонента N2 и P3 когнитивного вызванного потенциала P300 [8, 9].

Для регистрации вариабельности сердечного ритма (ВСР) использовался прибор Варикард 2.5 (Рамена, Рязань) и программа «ИСКИМ» (версия 6.0). Оценивалась частота сердечных сокращений (ЧСС), среднее квадратичное отклонение, коэффициент вариации, индекс напряжения регуляторных систем. Выполнен анализ мощности спектральных составляющих динамического ряда кардиоинтервалов с определением мощности медленных волн 1-го порядка (LF), медленных волн 2-го порядка (VLF) [10, 11]

Оценка статистических различий между группами проводилась методами непараметрической статистики с применением критерия Манна – Уитни U (Z), описание данных предполагало выделение медианы (Me), нижнего (LQ) и верхнего квартиля (UQ). Создание, обучение и тестирование искусственных нейронных сетей создавалось при помощи программы Statistica 10.0 Ru [12, 13].

В качестве контроль-группы (для оценки валидности используемых нейрофизиологических показателей) обследована группа пациентов (28 чел.) с дорсопатией шейного отдела позвоночника (умеренный мышечно-тонический синдром), вне стадии обострения без неврологических нарушений, указаний на эпизоды нарушения мозгового кровообращения в анамнезе и признаков компрессии и гемодинамически значимых стенозов магистральных сосудов шеи по данным ультразвуковой доплерографии.

РЕЗУЛЬТАТЫ

На основе кластерного анализа и экспертных оценок были выделены следующие группы пациентов с геморрагическим инсультом – группа 1 (благоприятное течение, 37 пациентов) и группа 2 (неблагоприятное течение, 38 пациентов) (табл. 1). В таблице 2 представлены сравнительные межгрупповые характеристики среди пациентов с геморрагическим инсультом.

Группы с благоприятным и неблагоприятным течением статистически значимо различались по результатам

Таблица 1

Клинические характеристики подгрупп, Me (LQ; UQ)

Table 1

Clinical characteristics of the subgroups, Me (LQ; UQ)

Показатель	Группа 1 (благоприятное течение)	Группа 2 (неблагоприятное течение)	Статистические различия	
			U	*p*
NIHSS, 1-й день	6 (4; 8)	18 (12; 27)	–6,2	0,001
NIHSS, 3-й день	4 (3; 6)	17 (11; 27)	–5,6	0,001
NIHSS, 28-й день	4 (2; 6)	17 (13; 26)	–5,7	0,001
ШКГ, 1-й день	15 (13; 15)	10 (3; 13)	5,2	0,001
ШКГ, 3-й день	15 (13; 15)	10 (3; 13)	3,6	0,001
ШКГ, 28-й день	15 (14; 15)	12 (3; 13)	3,6	0,001

Примечание. При анализе показателей в группе 2 на 3-й и 21-й день исключены погибшие пациенты.

Таблица 2

Сравнительные межгрупповые характеристики у пациентов с геморрагическим инсультом, Me (LQ; UQ)

Table 2

Intergroup characteristics of patients with hemorrhagic stroke, Me (LQ; UQ)

Показатель	Группа 1 (благоприятное течение)	Группа 2 (неблагоприятное течение)	Статистические различия	
			U	*p*
Мощность тета-колебаний в F3 и F4, мкВ*с	15 (5; 27)	26 (12; 60)	–1,9	0,059
Мощность тета-колебаний F4, мкВ*с	13 (7; 28)	26 (10; 81)	–2,3	0,019
Частота тета-колебаний F3, Гц	6,3 (5,6; 7,0)	5,5 (5,1; 5,8)	3,6	0,001
Частота тета-колебаний, Гц	6,2 (5,6; 6,9)	5,3 (5,1; 5,7)	3,7	0,001
Латентность N2 Fz, мс	196 (184; 254)	207 (199; 229)	–0,4	0,720
Латентность N2 Cz, мс	190 (185; 273)	213 (195; 266)	–0,7	0,461
Латентность N2 Pz, мс	207 (150; 272)	207 (194; 265)	0,2	0,828
Амплитуда P2N2 Fz, мкВ	8,9 (5,6; 20,4)	5,1 (2,6; 9,1)	2,3	0,021
Амплитуда P2N2 Cz, мкВ	8,2 (3,6; 17,1)	6,3 (2,5; 10,8)	1,0	0,329
Амплитуда P2N2 Pz, мкВ	6,3 (2,1; 12,6)	5,3 (2,4; 8,8)	0,4	0,704
Интервал R-R ВСР, мс	806 (743; 911)	696 (609; 835)	2,2	0,030
SDNN ВСР, мс	30 (18; 47)	45 (29; 62)	–1,4	0,165
VLF ВСР, мс	167 (55; 369)	364 (145; 886)	–1,2	0,246
LF, мс	138 (72; 1141)	669 (140; 1816)	–1,6	0,120

латентности в отведениях Pz, Cz и Fz; амплитуды P2N2 – в отведениях Pz и Cz, а также по данным вариабельности сердечного ритма, таким как SDNN, VLF и LF.

Создание, обучение и тестирование искусственных нейронных сетей осуществляли при помощи пакета программ Statistica 10.0 Ru. Технология машинного обучения предполагала создание двух групп нейронных сетей: 1-я группа – для решения задачи прогнозирования только на основе показателей нейровизуализации, 2-я группа – для решения задачи прогнозирования на основе комплекса как нейрофизиологических, так и нейровизуализационных показателей.

Таким образом, предполагалась оценка роли группы нейрофизиологических показателей в оценке предикции.

Для улучшения качества модели нами было предложено расширить количество предикторов за счёт параметров (нейрофизиологических коррелятов) уровня взаимодействия стволовых модулирующих структур (мощность и частота тета-колебаний в лобных отведениях), механизмов опознания предъявляемого слухового стимула (амплитуда и латентность N2-компонента эндогенного вызванного потенциала P300), а также механизмов вегетативной регуляции (показатели вариабельности сердечного ритма).

Данная нейронная сеть представляла собой многослойный персептрон с 17 входными нейронами, 9 нейронами промежуточного слоя и 2 выходными нейронами. Производительность обучающей выборки составила 100 %, контрольная – 85 %, тестовой 95 % (MLP 22-9-2; 100:85:95).

В таблице 3 продемонстрированы классификационные характеристики данной искусственной нейронной сети. В таблице 4 представлены предикторы, используемые для решения задачи прогнозирования.

Кривая операционных характеристик для данной искусственной нейронной сети представлена на рисунке 1.

ОБСУЖДЕНИЕ

В исследование были включены параметры, отражающие взаимоотношение корково-подкорковых структур и регуляцию функционального состояния головного мозга (фронтальных структур – показателей частоты и мощности тета-колебаний), нейрофизиологических коррелятов опознания предъявляемого стимула (показатели P2N2 и латентности N2), а также характеристики центральных механизмов вегетативной регуляции деятельности. Как следует из представленных результатов, гетерогенность группы больных по уровню сознания закономерно ассоциирована с объёмом гематомы, что определяется как непосредственным поражением ткани мозга, так и перифокальным отёком и вторичными ней-

Таблица 3

Результаты классификации пациентов искусственной нейронной сетью MLP 17-9-2

Table 3

Results of classification of patients with artificial neural network MLP 17-9-2

Результат решения	Благоприятное течение	Неблагоприятное течение	Общий исход
Правильно	85 %	100 %	95 %
Неправильно	15 %	0 %	5 %

Таблица 4

Ранжированный (в соответствии с чувствительностью) перечень показателей, используемых искусственной нейронной сетью MLP 22-9-2 для прогнозирования исходов паренхиматозного геморрагического инсульта

Table 4

Ranked (according to sensitivity) list of indicators used by artificial neural network MLP 22-9-2 for predicting the outcomes of parenchymal hemorrhagic stroke

Ранг	Показатель	Чувствительность*
1	Частота тета-колебаний в отведении F3	1,258
2	Межпиковая амплитуда когнитивного вызванного потенциала P2N2 в Pz	1,016
3	Частота тета-колебаний в F3	1,013
4	Амплитуда P2N2 Cz P300	1,005
5	Латентность N2 P300 в Fz	1,003
6	Среднее квадратичное отклонение вариабельности сердечного ритма	1,000
7	Локализация гематомы (категориальный признак)	1,000
8	Очень низко частотная (VLF) составляющая вариабельности сердечного ритма	1,000
9	Мощность тета-колебаний F4	1,000
10	Мощность низкочастотной составляющей вариабельности сердечного ритма	1,000
11	Сторона локализации гематомы (категориальный признак): правая или левая	1,000
12	Латентность N2 компонента когнитивного вызванного потенциала в Pz	0,999
13	Латентность N2 компонента когнитивного вызванного потенциала N2 в Cz	0,999
14	Амплитуда P2N2 в Fz	0,999
15	Мощность тета-колебаний в F3	0,999
16	Объём гематомы	0,999
17	R-R ЭКГ	0,999

Примечание. Значения округлены до тысячных (при ранжировании показателей по чувствительности учитываются различия в других разрядах.

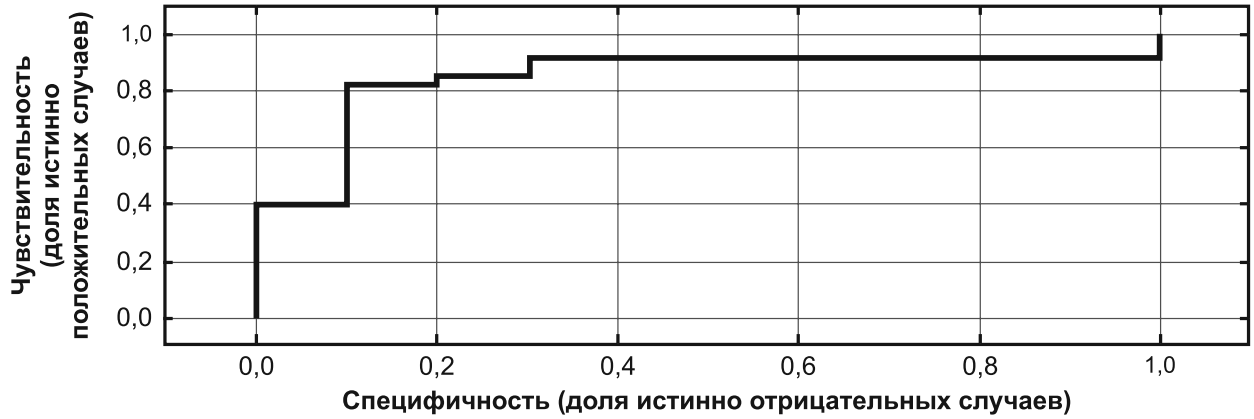


Рис. 1. ROC-кривая для MLP 22-9-2; 100:85:95.
Fig. 1. ROC-line for MLP 22-9-2; 100: 85: 95.

родинамическими нарушениями. Результаты кластерного анализа продемонстрировали выделение групп с относительно благоприятным и неблагоприятным течением геморрагического инсульта. Коррелятом неблагоприятной динамики оказался сниженный биоэлектрогенез в ассоциативных зонах коры при опознании стимула и принятии решения, а также неблагоприятная динамика уровня сознания при этом соответствовала снижению амплитуды и большей латентности P2N2-пиков, отражая недостаточную активацию корковых структур при опознании стимула.

Неблагоприятное течение характеризуется снижением активации ассоциативных зон коры при опознании стимула, увеличением вариабельности сердечного ритма, увеличением спектральной мощности колебаний, отражающих активность супрасегментарных центров вегетативной регуляции.

Таким образом, включение дополнительных нейрофизиологических предикторов позволило создать более оптимальную модель для прогнозирования течения острого периода геморрагического инсульта.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Современные прикладные математические технологии обработки данных позволяют эффективно решить задачу классификации ранних исходов у пациентов с геморрагическим инсультом. Помимо этого, использование методов многомерной статистики (кластерного анализа и теории искусственных нейронных сетей) позволяет ранжировать исследуемые показатели, выявлять наиболее значимые и на их основе строить прогностические модели.

Методы машинного обучения позволяют создать алгоритмы прогнозирования уровня сознания пациентов, острого периода развития внутримозговых гематом супратенториальной локализации, возможного развития исходов заболевания у пациентов с нетравматическими внутримозговыми гематомами на основе показателей нейрофизиологических показателей, а также объёма гематомы.

Наиболее значимыми для прогноза геморрагического инсульта являются такие факторы как: объём гематомы; параметры, отражающие взаимоотношение корково-подкорковых структур и регуляцию функционального состояния головного мозга (фронтальные структуры – показатели частоты и мощности тета-колебаний), нейрофизиологические корреляты опознания предъявляемого стимула (межпиковая амплитуда P2N2 P300 и латентности N2); характеристики центральных механизмов вегетативной регуляции деятельности (мощность спектра колебаний ВСР в диапазоне очень низко частотных колебаний).

ЛИТЕРАТУРА

1. Benjamin EJ, Virani SS, Callaway CW, Chamberlain AM, Chang AR, Cheng S, et al. Heart disease and stroke statistics – 2018 update. A report from the American Heart Association. *Circulation.* 2018; 137(12): e67-e492. doi: 10.1161/CIR.0000000000000558

2. Хеннерици М.Дж., Богуславски Ж., Сакко Р.Л. *Инсульт. Клиническое руководство.* М.: МедПресс-информ; 2008.

3. Захарушкина И.В. Церебральные инсульты у мужчин молодого возраста. *Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова.* 2003; (1-2): 65-69.

4. Пирадов М.А., Максимова М.Ю., Танашян М.М.. Инсульт. *Пошаговая инструкция.* М.: ГЕОТАР-Медиа; 2019.

5. Bogousslavsky J, Louis RC, Medina MT, et al. World Federation of Neurology. Seminars in clinical neurology. *Stroke: selected topics.* New York: Demos; 2007.

6. Behrouz R, Birnbaum LA (eds.). *Complications of acute stroke. A concise guide to prevention, recognition, and management.* New York: Springer Publishing Company; 2019. doi: 10.1891/9780826124791

7. Bo Norrving (ed.). *Oxford textbook of stroke and cerebrovascular disorders.* New York: Oxford University Press; 2014.

8. Delle-Vigne D, Kornreich C, Verbanck P, Campanella S. The P300 component wave reveals differences in subclinical anxious-depressive states during bimodal oddball tasks: an effect of stimulus congruence. *Clinical Neurophysiology.* 2015; 126(11): 2108-2123. doi: 10.1016/j.clinph.2015.01.012.

9. Brown AW, Li P, Brown MM, Kaiser KA, Keith SW, Oakes M, et al. Best (but oft-forgotten) practices: designing, analyzing, and reporting cluster randomized controlled trials. *Am J Clin Nutr.* 2015; 102(2): 241-248. doi: 10.3945/ajcn.114.105072

10. Almeida-Santos MA, Barreto-Filho JA, Oliveira JM, Reis FP, Oliveira CCC, Sousa ACS. Aging, heart rate variability and patterns of autonomic regulation of the heart. *Arch Gerontol Geriatr.* 2016; 63: 1-8. doi: 10.1016/j.archger.2015.11.011

11. Koenig J, Thayer JF. Sex differences in healthy human heart rate variability: a meta-analysis. *Neurosci Biobehav Rev.* 2016; 64: 288-310. doi: 10.1016/j.neubiorev.2016.03.007

12. Меркулова М.А., Лапкин М.М., Зорин Р.А. Использование кластерного анализа и теории искусственных нейронных сетей для прогнозирования результативности целенаправленной деятельности человека. *Наука молодых (Eruditio Juvenium).* 2018; 6(3); 374-382. doi: 10.23888/HMJ201863374-382

13. Watanabe Ch, Hiramatsu K, Kashino K. Modular representation of layered neural networks. *Neural Networks.* 2018; 97: 62-73. doi: 10.1016/j.neunet.2017.09.017

REFERENCES

1. Benjamin EJ, Virani SS, Callaway CW, Chamberlain AM, Chang AR, Cheng S, et al. Heart disease and stroke statistics – 2018 update. A report from the American Heart Association. *Circulation.* 2018; 137(12): e67-e492. doi: 10.1161/CIR.0000000000000558

2. Hennerici MD, Bogousslavsky J, Sacco RL. *Stroke. Clinical Guide.* M.: MedPress-inform; 2008. (In Russ.)

3. Zakharushkina IV. Cerebral strokes in young men. *I.P. Pavlov Russian Medical Biological Herald.* 2003; (1-2): 65-69. (In Russ.)

4. Piradov MA, Maksimova MYu, Tanashyan MM. *Stroke. Step-by-step guide.* M.: GEOTAR-Media; 2019. (In Russ.)

5. Bogousslavsky J, Louis RC, Medina MT, et al. World Federation of Neurology. Seminars in clinical neurology. *Stroke: selected topics.* New York: Demos; 2007.

6. Behrouz R, Birnbaum LA (eds.). *Complications of acute stroke. A concise guide to prevention, recognition, and management*. New York: Springer Publishing Company; 2019. doi: 10.1891/9780826124791

7. Bo Norrving (ed.). *Oxford textbook of stroke and cerebrovascular disorders.* New York: Oxford University Press; 2014.

8. Delle-Vigne D, Kornreich C, Verbanck P, Campanella S. The P300 component wave reveals differences in subclinical anxious-depressive states during bimodal oddball tasks: an effect of stimulus congruence. *Clinical Neurophysiology.* 2015; 126(11): 2108-2123. doi: 10.1016/j.clinph.2015.01.012

9. Brown AW, Li P, Brown MM, Kaiser KA, Keith SW, Oakes M, et al. Best (but oft-forgotten) practices: designing, analyzing, and reporting cluster randomized controlled trials. *Am J Clin Nutr.* 2015; 102(2): 241-248. doi: 10.3945/ajcn.114.105072

10. Almeida-Santos MA, Barreto-Filho JA, Oliveira JM, Reis FP, Oliveira CCC, Sousa ACS. Aging, heart rate variability and patterns of autonomic regulation of the heart. *Arch Gerontol Geriatr.* 2016; 63: 1-8. doi: 10.1016/j.archger.2015.11.011

11. Koenig J, Thayer JF. Sex differences in healthy human heart rate variability: a meta-analysis. *Neurosci Biobehav Rev.* 2016; 64: 288-310. doi: 10.1016/j.neubiorev.2016.03.007

12. Merkulova MA, Lapkin MM, Zorin RA. The use of cluster analysis and the theory of artificial neural networks to predict the effectiveness of targeted human activity. *Nauka molodykh (Eruditio Juvenium).* 2018; 6(3); 374-382. doi: 10.23888/HMJ201863374-382 (In Russ.)

13. Watanabe Ch, Hiramatsu K, Kashino K. Modular representation of layered neural networks. *Neural Networks.* 2018; 97: 62-73. doi: 10.1016/j.neunet.2017.09.017

Сведения об авторах

Курепина Инна Сергеевна – аспирант кафедры неврологии и нейрохирургии, ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет имени акад. И.П. Павлова» Минздрава России, e-mail: innakurepina90@mail.ru, http://orcid.org/0000-0001-9207-2447

Зорин Роман Александрович – доктор медицинских наук, доцент кафедры неврологии и нейрохирургии, ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет имени акад. И.П. Павлова» Минздрава России, e-mail: zorin.ra30091980@mail.ru, http://orcid.org/0000-0003-4310-8786

Жаднов Владимир Алексеевич – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой неврологии и нейрохирургии ФГБОУ ВО «Рязанский государственный медицинский университет имени акад. И.П. Павлова» Минздрава России, e-mail: vladimir.zhadnov@mai.ru, http://orcid.org/0000-0002-5973-1196

Сорокин Олег Александрович – заведующий отделением реанимации, ГБУ «Областная клиническая больница г. Рязань», e-mail: orit24@yandex.ru, http://orcid.org/0000-0002-4519-8036

Information about the authors

Inna S. Kurepina – Postgraduate at the Department of Neurology and Neurosurgery, Ryazan State Medical University named after academician I.P. Pavlov, e-mail: innakurepina90@mail.ru, http://orcid.org/0000-0001-9207-2447

Roman A. Zorin – Dr. Sc. (Med.), Associate Professor at the Department of Neurology and Neurosurgery, Ryazan State Medical University named after academician I.P. Pavlov, e-mail: zorin.ra30091980@mail.ru, http://orcid.org/0000-0003-4310-8786

Vladimir A. Zhadnov – Dr. Sc. (Med.), Professor at the Department of Neurology and Neurosurgery, Ryazan State Medical University named after academician I.P. Pavlov, e-mail: vladimir.zhadnov@mai.ru, http://orcid.org/0000-0002-5973-1196

Oleg A. Sorokin – Head of the Resuscitation Department, Ryazan Regional Clinical Hospital, e-mail:orit24@yandex.ru, http://orcid.org/0000-0002-4519-8036

Статья получена: 17.08.2020. Статья принята: 17.09.2020. Статья опубликована: 26.10.2020.
Received: 17.08.2020. Accepted: 17.09.2020. Published: 26.10.2020.

DOI: 10.29413/ABS.2020-5.5.7

Клинический случай хирургического лечения смежного сегмента позвоночника при спондилодезе

Животенко А.П. [1], Потапов В.Э. [1], Кошкарева З.В. [1], Сороковиков В.А. [1, 2]

[1] ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1, Россия);
[2] Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (664049, г. Иркутск, Юбилейный, 100, Россия)

Автор ответственный за переписку: Животенко Александр Петрович, e-mail: sivotenko1976@mail.ru

Резюме

С каждым годом увеличивается количество операций на поясничном отделе позвоночника с использованием различных методик спондилодеза, что в отдалённом периоде хирургического лечения приводит к росту количества случаев формирования патологии смежного сегмента, которая входит в структуру синдрома неудачно оперированного позвоночника. Известно, что патология соседнего сегмента представляет собой общий термин и охватывает два понятия: дегенерацию соседнего сегмента и заболевание соседнего сегмента. Дегенерация соседнего сегмента представлена рентгенографическими изменениями, возникающими в смежных позвоночно-двигательных сегментах при операциях на позвоночнике со спондилодезом, а заболевание соседнего сегмента относится к клиническим симптомам, формирующимся при рентгенологических изменениях в данных сегментах. При патологии смежного сегмента не всегда формируются клинически значимые дегенеративные изменения в нём. Если данные рентгенологические изменения формируются и коррелируют с клинико-неврологическими проявлениями, то показано оперативное лечение. Данная патология может лечиться повторным оперативным вмешательством, что в данной статье проиллюстрировано клиническим примером хирургического лечения смежного сегмента позвоночника при спондилодезе.

Ключевые слова: *спондилодез, синдром неудачно оперированного позвоночника, патология смежного сегмента, дегенерация соседнего сегмента, болезнь соседнего сегмента*

Для цитирования: Животенко А.П., Потапов В.Э., Кошкарева З.В., Сороковиков В.А. Клинический случай хирургического лечения смежного сегмента позвоночника при спондилодезе. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(5): 53-59. doi: 10.29413/ABS.2020-5.5.7

A Clinical Case of Surgical Treatment of the Adjacent Segment of the Spine during Fusion

Zhivotenko A.P. [1], Potapov V.E. [1], Koshkareva Z.V. [1], Sorokovikov V.A. [1, 2]

[1] Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology (Bortsov Revolyutsii str. 1, Irkutsk 664003, Russian Federation);
[2] Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education (Yubileyniy 100, Irkutsk 664049, Russian Federation)

Corresponding author: Alexander P. Zhivotenko, e-mail: sivotenko1976@mail.ru

Abstract

Every year, the number of operations on the lumbar spine with the use of various spinal fusion techniques increases, which leads to an increase in the number of cases in the long-term period of surgical treatment, the formation of pathology of the adjacent segment (ASP), which is part of the structure of the failed back surgery syndrome (FBSS). It is known that the pathology of the adjacent segment is a general term and covers two concepts: the degeneration of the adjacent segment (ASDeg) and the disease of the adjacent segment (ASDis). ASDeg is represented by radiographic changes occurring in the adjacent spinal motion segments during spinal surgery with spinal fusion, and ASDis refers to the clinical symptoms that develop during radiographic changes in these segments. With the pathology of an adjacent segment, clinically significant degenerative changes in it are not always formed. If these X-ray changes are formed and correlate with clinical and neurological manifestations, then surgical treatment is indicated. This pathology can be treated with repeated surgical intervention, which this article demonstrate with the clinical example of surgical treatment of the adjacent segment of the spine during fusion.

Key words: *spondilodesis, failed back surgery syndrome (FBSS), adjacent segment pathology (ASP), adjacent segment degeneration (ASDeg), adjacent segment disease (ASDis)*

For citation: Zhivotenko A.P., Potapov V.E., Koshkareva Z.V., Sorokovikov V.A. A Clinical Case of Surgical Treatment of the Adjacent Segment of the Spine During Fusion. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(5): 53-59. doi: 10.29413/ABS.2020-5.5.7

ВВЕДЕНИЕ

Биомеханика позвоночника зависит от многих параметров, которые меняются после проведённого хирургического вмешательства на позвоночнике и после протезирования крупных суставов нижних конечностей, что может являться причиной развития клинически значимых дегенеративных изменений в поясничном отделе позвоночника [1, 2]. Спондилодез всё чаще используется в хирургии позвоночника при дегенеративных и травматических поражениях поясничного отдела позвоночника.

Более того, эта тенденция ещё больше ускоряется с развитием хирургических методов и совершенствованием инструментов для хирургии позвоночника. С каждым годом количество операций на поясничном отделе позвоночника с использованием различных методик спондилодеза увеличивается. Так, в США количество операций со спондилодезом увеличилось в 2,7 раза за период с 1998 по 2008 гг. [3]. Также нет чёткого понимания, какой сегмент должен считаться «смежным». Как правило, смежным считается сегмент, ближайший к спондилодезу фиксированного позвоночно-двигательного сегмента позвоночника [4, 5, 6].

A.S. Hilibrand и M. Robbins классифицировали патологию смежного сегмента (adjacent segment pathology, ASP) на две категории – «дегенерация соседнего сегмента» (adjacent segment degeneration, ASDeg) и «болезнь соседнего сегмента» (adjacent segment disease, ASDis) [7]. Они определили рентгенографические изменения смежного сегмента после спондилодеза на позвоночнике как «дегенерацию соседнего сегмента», которая не коррелирует с клиническими симптомами, а «болезнь смежного сегмента» – как клинические симптомы, коррелирующие с рентгенографическими изменениями смежного сегмента после операции на позвоночнике со спондилодезом. ASP включён в структуру синдрома неудачно-оперированного позвоночника (failed back surgery syndrome, FSSB) и является отдалённым результатом хирургического лечения позвоночника, приводящим к рецидиву болевого синдрома на оперируемом позвоночнике с сочетанием различных причин этого синдрома [8, 9, 10]. Так, ASP стал основной проблемой после операции на позвоночнике со спондилодезом [8, 11]. Заболеваемость ASP варьируется в зависимости от определения и методологических принципов, принятых в различных исследованиях. Были выявлены различные факторы риска для этого состояния, хотя всё ещё существует значительный спор относительно их значимости. Были разработаны различные фиксирующие устройства для сохранения движения в оперированных сегментах позвоночника, и некоторые из них показали свою эффективность в профилактике ASP.

K.D. Riew et al. предложили термин «патология смежного сегмента», который является относительно простым и включает любые изменения, которые происходят рядом с ранее оперированным позвоночно-двигательным сегментом позвоночника, подразделять на «рентгенографическую патологию смежного сегмента» (RASP), включающую все визуализационные методы исследования, используемые в отделении лучевой диагностики (МРТ, МСКТ, УЗИ), и «клиническую патологию смежного сегмента» (CASP) [12]. Это связано с тем, что термин «дегенерация или заболевание соседнего сегмента» неоднозначен и не может включать все многофакторные процессы, проходящие в смежных сегментах, RASP включает все изменения с различными модальностями визуализации в смежных сегментах, а CASP относится к клиническим симптомам и признакам, возникающим в соседнем сегменте, которые почти всегда связаны с RASP.

Многие исследования основаны на рентгенологических данных, однако их диагностические критерии не имеют чёткой корреляции с клиническими симптомами. Так, в литературном обзоре J.S. Harrop et al. показывают, что заболеваемость RASP колебалась от 8 % до 100 %, а CASP колебалась от 0 до 27,5 % [13]. Этот говорит о том, что рентгенографические дегенеративные изменения в соседних сегментах являются общими, однако клинические симптомы проявляются реже. В связи с этим хирурги-вертебрологи должны знать о факторах риска «патологии смежного сегмента» при планировании операции и, соответственно, консультировать своих пациентов о возможном его развитии [6]. Так, при клинико-неврологических проявлениях, которые подтверждаются визуализационными методами исследования (МРТ, МСКТ и т. д.), выставляются показания к операции, которые могут быть как относительными, так и абсолютными. Однако на основании всех собранных данных на пациента при выборе хирургического вмешательства со спондилодезом в каждом конкретном случае невозможно учесть все факторы риска для прогнозирования развития «патологии смежного сегмента», а также в нейрохирургических стационарах нет единой методики и подхода к хирургическому лечению патологии позвоночника и не все клиники достаточно оснащены инструментарием, оборудованием и квалифицированными кадрами. Из литературного обзора известно, что ни одна конкретная методика пока не продемонстрировала выдающихся результатов [14, 15, 16] и, следовательно, используемые оперативные методики нейрохирургических отделений зависят от анатомических особенностей оперируемого позвоночника и пациента, а также от предпочтений хирурга [6].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

На клиническом примере показать, что патология смежного сегмента с клиническими значимыми проявлениями, развивающаяся в отдалённом периоде после операций на позвоночнике после спондилодеза, может лечиться повторным оперативным вмешательством с декомпрессией неврально-сосудистых структур смежного уровня и продлением фиксирующей металлоконструкции или дополнительной стабилизацией данного оперированного сегмента.

КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Пациентка В., 1962 г. рождения, после консультации нейрохирурга в поликлинике Иркутского научного центра хирургии и травматологии (ИНЦХТ) 19.05.2020 г. госпитализирована в нейрохирургическое отделение для проведения повторного оперативного лечения.

Жалобы: постоянные боли в поясничном отделе позвоночника, распространяющиеся на левую нижнюю конечность по задней поверхности бедра и голени до нижней трети голени; чувство онемения по задней поверхности левой голени и подошвенной поверхности стопы, судороги в мышцах левой голени и стопы. Усиление болей при ходьбе и в положении стоя.

Анамнез заболевания. В 2012 г. у пациентки наблюдался стойкий выраженный болевой синдром в поясничном отделе позвоночника. Учитывая данные МРТ-исследования поясничного отдела позвоночника (протрузия межпозвонкового диска L_{IV}–L_V) и неэффективность консервативной терапии, для купирования болевого синдрома проведена лазерная вапоризация межпозвоночного диска L_{IV}–L_V, после чего интенсивность боли в поясничном отделе позвоночника снизилась. Пациентка находилась на диспансерном наблюдении у невролога в поликлинике по месту жительства. Была

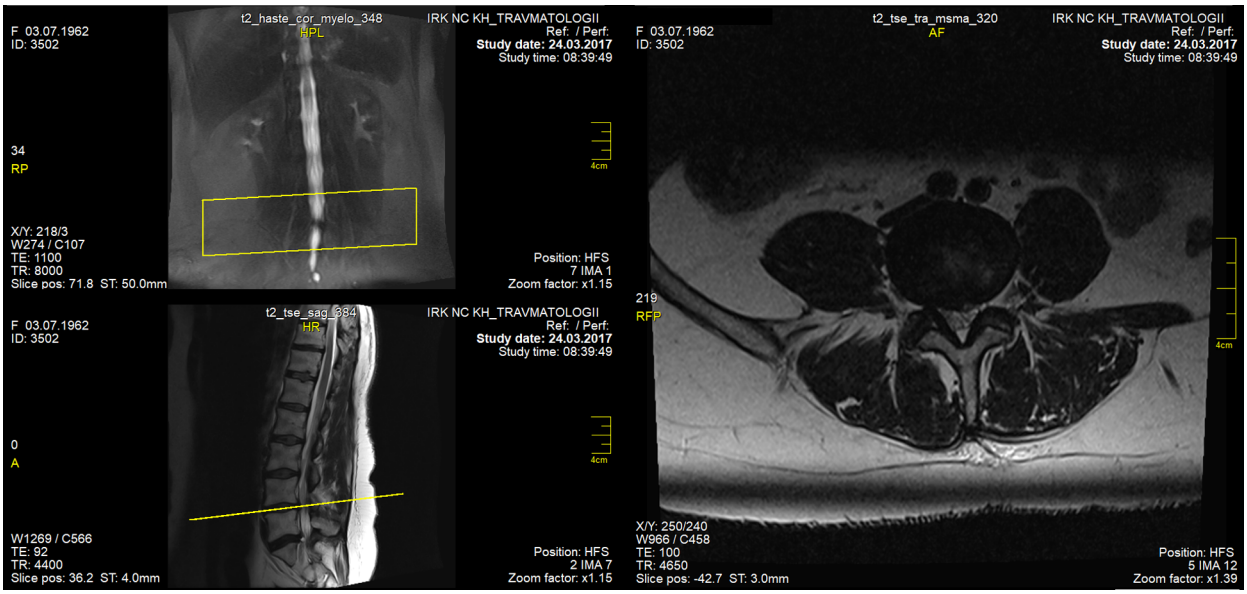


Рис. 1. МРТ пациентки В. до операции. Показан дегенеративный центральный стеноз позвоночного канала на уровне позвоночно-двигательного сегмента L_{IV}–L_V.

Fig. 1. MRI before surgery show degenerative central stenosis of the spinal canal at the level of the spinal motion segment L_{IV}–L_V.

достигнута социальная адаптация. В апреле 2017 г. у пациентки сформировался стойкий выраженный болевой синдром в поясничном отделе позвоночника с иррадиацией боли в левую нижнюю конечность, некупируемый консервативными методами лечения. Пациентка осмотрена нейрохирургом ИНЦХТ, предложено оперативное лечение. Выставлен диагноз: деформирующая дорсопатия; дегенеративный центральный стеноз позвоночного канала на уровне L_{IV}–L_V со стенозированием левого фораминального отверстия (по классификации Stephen I., 1995); спондилёз; гипертрофия жёлтой связки; радикулопатия L_5 слева; выраженный стойкий болевой и мышечно-тонический синдромы (рис. 1).

Проведено хирургическое лечение в виде реконструктивно-стабилизирующего вмешательства на уровне L_{IV}–L_V с декомпрессией позвоночного канала в объёме гемиламинэктомии и фасетэктомии слева на данном уровне и последующей стабилизацией позвоночно-двигательного сегмента L_{IV}–L_V системой транспедикулярной фиксации (ТПФ) и межтеловым кейджем (рис. 2).

Неврологический статус. На момент повторного оперативного лечения при клинико-неврологическом осмотре у пациентки выявлены радикулопатия S_1 слева (отсутствие ахиллового сухожильного рефлекса слева, гипостезия в дерматоме S_1), умеренно выраженный парез мышц разгибателей большого пальца левой стопы, положительный симптом Ласега (+++) слева.

Локальный статус. При осмотре грудного и поясничного отделов позвоночника отмечается сглаженность поясничного лордоза. На уровне остистых отростков L_{III}–S_I позвонков определяется послеоперационный рубец длиной 10,0 см бледно-розового цвета, без признаков воспаления. Пациентка в положении стоя и при ходьбе принимает вынужденную позу с наклоном туловища и головы вперёд. В поясничном отделе позвоночника наклоны и повороты ограничены из-за болевого синдрома. Отмечается напряжение околопозвоночных мышц 2-й степени и локальная болезненность в паравертебральных точках слева в проекции позвонков L_{IV}, L_V и S_I. При ходьбе прихрамывает на левую нижнюю конечность.

МРТ поясничного отдела от 11.09.2019 г.: послеоперационные изменения на уровне L_{IV}–L_V, наличие металлоконструкции (4-винтовая система ТПФ и кейдж) (рис. 3); дегенеративно- дистрофические изменения пояснично-крестцового отдела позвоночника. Грыжа межпозвонкового диска L_V–S_I с фораминальным стенозированием спинномозгового корешка на уровне L_V–S_I слева; деформирующий спондилоартроз; гипертрофия жёлтых связок (рис. 4).

Оперативное вмешательство. Под ЭТН, в положении пациентки на животе (на нижние конечности наложены эластические бинты с целью профилактики тромбоэмболии лёгочной артерии), в поясничном отделе произведён линейный срединный разрез кожи и подкожно-жировой клетчатки в проекции остистых отростков L_{IV}–S_I с иссечением старого послеоперационного рубца. Края раны разведены ранорасширителем. Паравертебральные мышцы с рубцовой тканью отделены от металлоконструкции на уровне L_{IV}–L_V, далее скелетированы дужки S_I с двух сторон. Взяты бактериальные посевы из раны и области установленной металлоконструкции. Следующим этапом выполнен демонтаж фиксирующих винтов и продольных штанг системы. Визуализированные транспедикулярные финты в телах L_{IV} и L_V стабильны и оставлены в прежнем положении. Далее с применением микрохирургической техники, оптического увеличения ×5,5 и микрохирургического инструментария произведена декомпрессия дурального мешка и спинно-мозговых корешков на уровне стеноза в объёме гемиламинэктомии L_V и частично S_I с фасетэктомией слева. Осуществлён доступ в позвоночный канал с резекцией гипертрофированной жёлтой связки. Произведена фораминотомия по ходу спинномозговых корешков L_5, S_1 слева. В последующем корешок S_1 после мобилизации отведён медиально, и выполнено удаление костно-хрящевого узла и кюретаж полости диска L_V–S_I. После этапа декомпрессии и реконструкции позвоночного

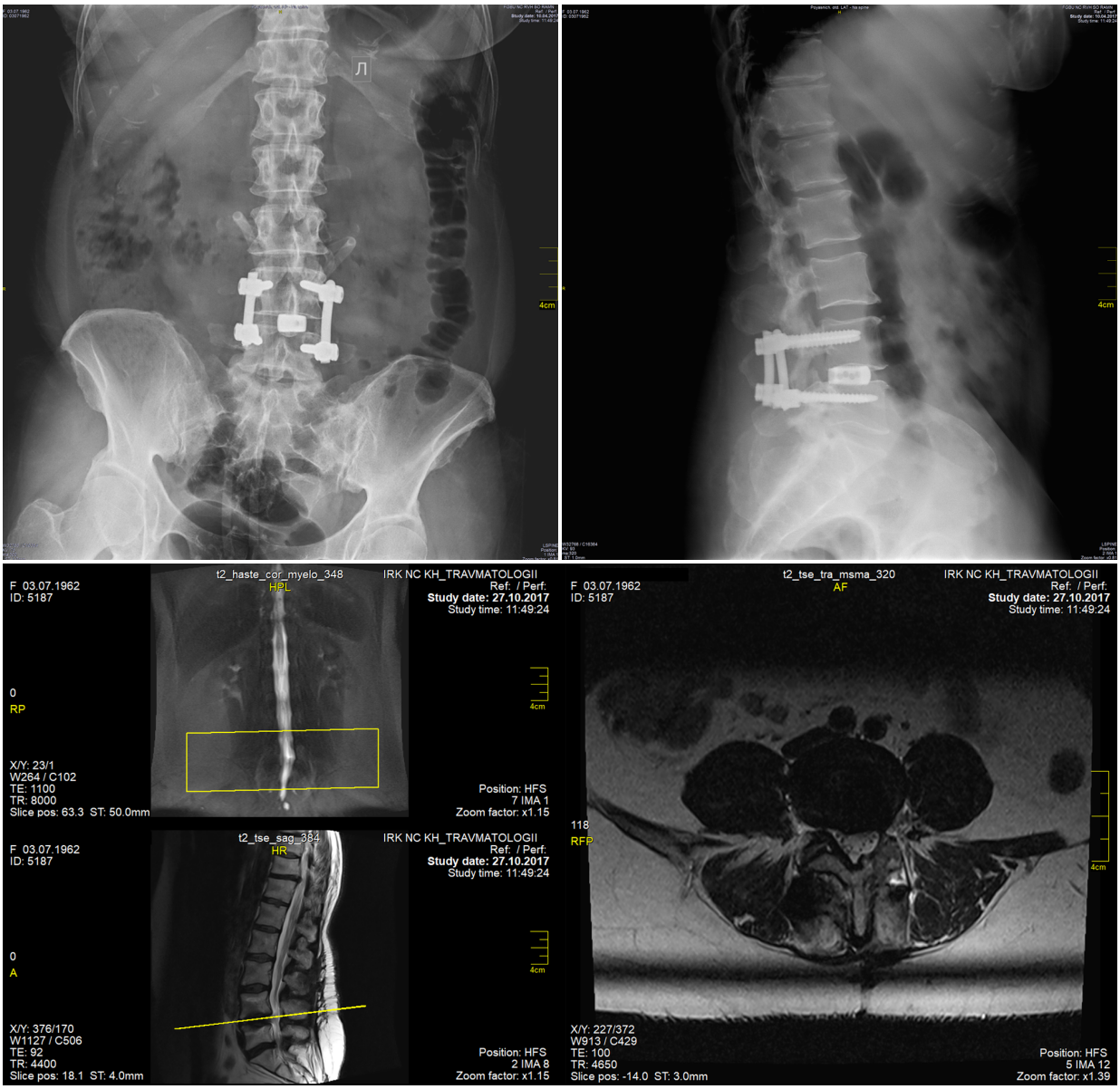


Рис. 2. МРТ и рентгенограммы пациентки В. через 6 мес. после операции. Показана декомпрессия позвоночного канала в объёме гемиламинэктомии слева и стабилизацией позвоночно-двигательного сегмента L_{IV}–L_V системой ТПФ и межтеловым кейджем.

Fig. 2. MRI and X-rays 6 months after the operation demonstrate decompression of the spinal canal in the volume of hemilaminectomy on the left and the stabilization of the spinal motion segment L_{IV}–L_V by the TPF-system and interbody cage.

канала дуральный мешок расправился на всём протяжении, и признаков сдавления его костными фрагментами не визуализируется. С помощью костного шила в стандартных точках произведена подготовка каналов для введения транспедикулярных винтов (размеры 6,5 × 45 – 2 шт.). Головки ранее установленных винтов в тела L_{IV} и L_V отрегулированы в положении, соответствующем изгибу позвоночника. Подобранная по длине продольная стяжка смоделирована соответственно лордозу позвоночно-двигательного сегмента. Стяжка уложена в ложе головок транспедикулярных винтов и фиксирована заглушками-фиксаторами к ним. Установленная транспедикулярная система фиксирует позвоночно-двигательный сегмент L_{IV}–L_V–S_I. На контрольных интраоперационных рентгенограммах состояние металлоконструкции удовлетворительное Операционной сестрой произведён подсчёт салфеток и инструментария. В проекции установленной металлоконструкции подведён активный дренаж. Рана ушита послойно наглухо. Объём кровопотери – до 150 мл. Наложена асептическая наклейка.

При выписке из стационара болевой синдром в левой нижней конечности регрессировал, сила мышц разгибателей большого пальца левой стопы восстановилась до 5 балов с возобновлением ахиллового сухожильного рефлекса слева, симптомы натяжения регрессировали, но с сохранением гипостезии в дерматоме S_1. В послеоперационном периоде проведена контрольная рентгенография поясничного отдела позвоночника (рис. 5).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ASP может развиться после операции на поясничном отделе позвоночника со спондилодезом и может негативно повлиять на клинический исход в отдалённом периоде хирургического лечения. Хотя рентгенографические

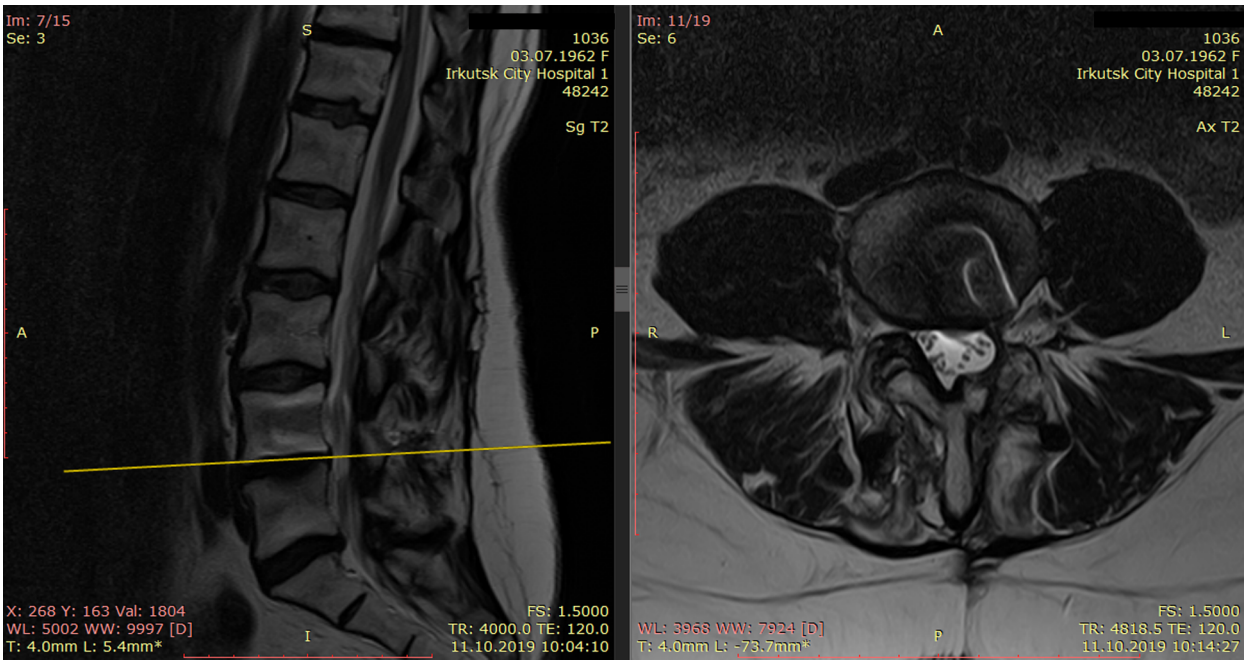


Рис. 3. МРТ пациентки с демонстрацией гемиламинэктомии с фасетэктомией слева на уровне позвоночно-двигательного сегмента L_{IV}–L_V и стабилизацией его системой ТПФ и межтеловым кейджем.

Fig. 3. MRI shows hemilaminectomy with facetectomy on the left at the level of the spinal motion segment L_{IV}–L_V and its stabilization with TPF system and interbody cage.

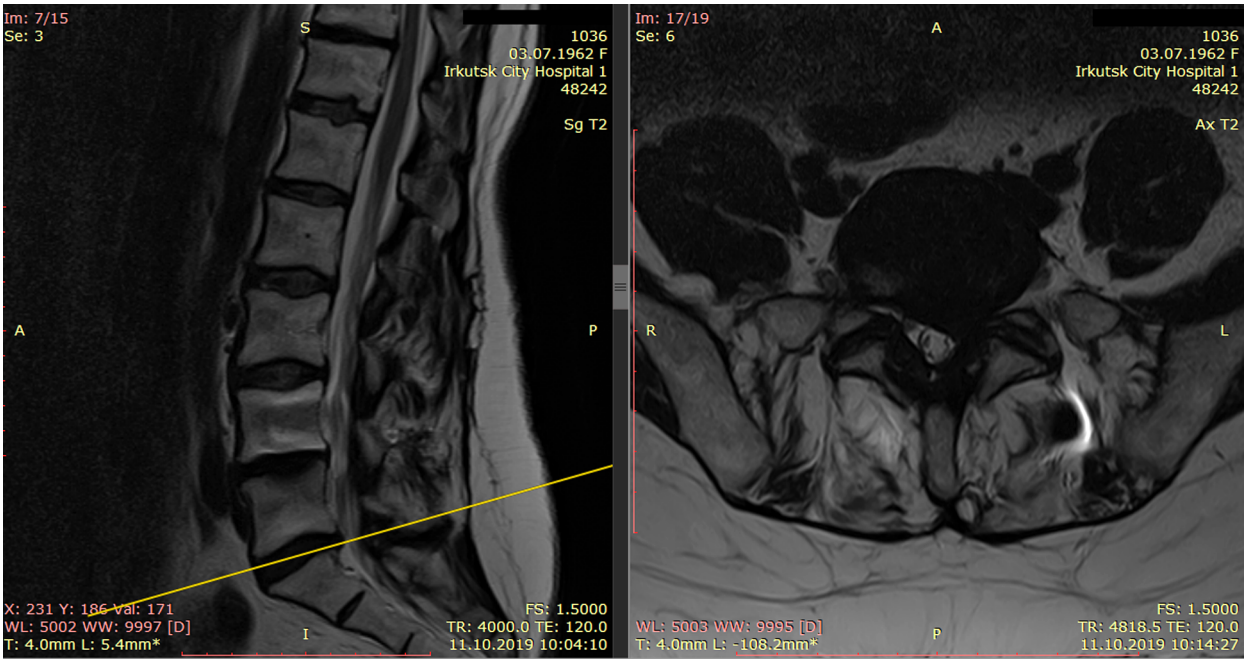


Рис. 4. МРТ пациентки видна «патология смежного сегмента» L_V–S_I, деформирующий спондилоартроз и гипертрофия жёлтых связок на уровне L_V–S_I, грыжа межпозвонкового диска L_V–S_I с фораминальным стенозированием спинномозгового корешка на уровне L_V–S_I слева.

Fig. 4. MRI shows the «pathology of the adjacent segment» of the L_V–S_I, spondyloarthrosis deformans and yellow ligament hypertrophy at the L_V–S_I level, and herniated L_V–S_I intervertebral disc with foraminal stenosis of the spinal root at the L_V–S_I level on the left.

изменения смежного сегмента распространены после спондилодеза, CASP встречается реже, и, следовательно, частота повторных операций при ASP небольшая. Однако части пациентов может потребоваться дополнительная повторная операция на соседнем сегменте оперированного позвоночника, в связи с чем хирурги-вертебрологи должны знать о потенциальных факторах риска развития ASP, и эти факторы должны быть включены в первоначальное хирургическое планирование, также необходимо проинформировать пациентов о возможном риске. По нашим данным, при данной методике хирургического лечения достигается адекватная декомпрессия сосудисто-невральных структур позвоночного канала с ранним регрессом клинико-неврологической симптоматики

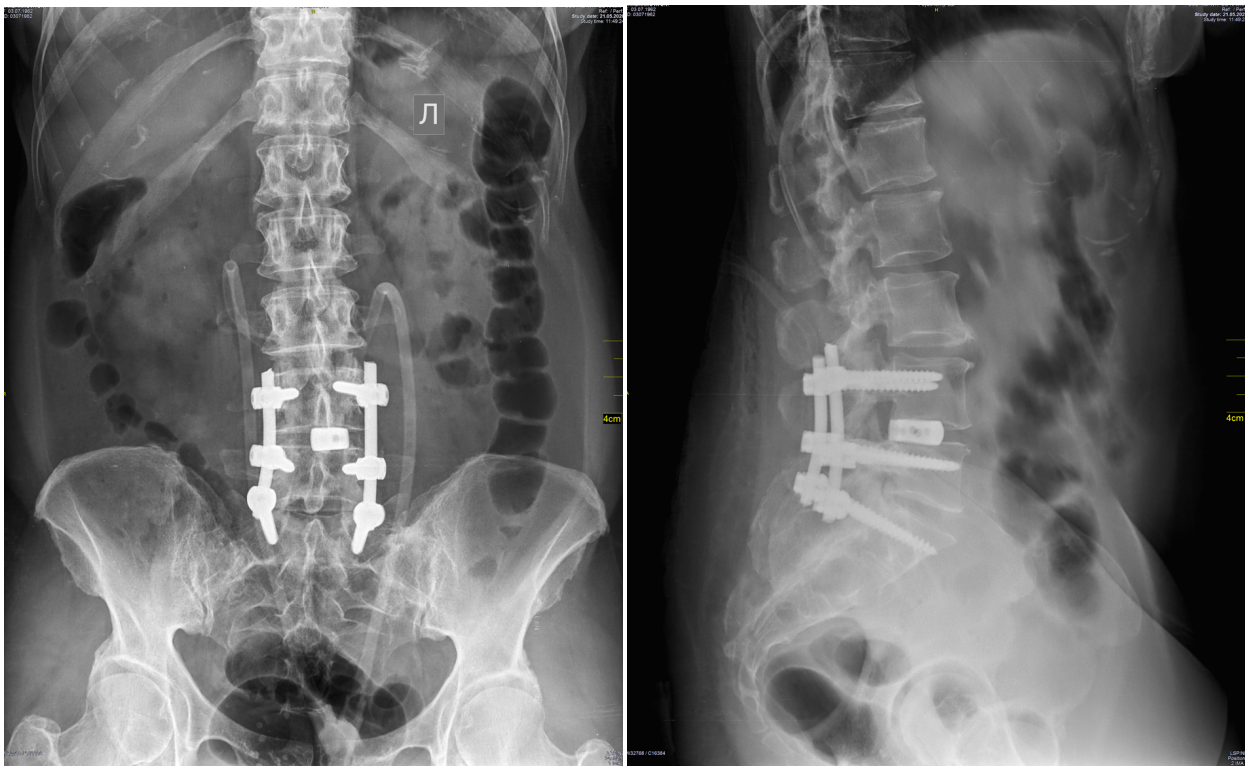


Рис. 5. Рентгенограммы после повторной операции – на уровне L_{IV}–L_V–S_I, визуализирована 6-винтовая система ТПФ и межтеловой кейдж, ранее установленный в позвоночно-двигательном сегменте L_{IV}–L_V.

Fig. 5. X-rays after reoperation – at the L_{IV}–L_V–S_I level a 6-screw TPF-system and an interbody cage previously installed in the spinal motion segment L_{IV}–L_V are visualized.

и в отдалённом периоде нет рецидива формирования грыж. При развитии ASP пациенту объясняют, что данная ситуация может лечиться повторным оперативным вмешательством с продлением фиксирующей металлоконструкции и дополнительной стабилизацией новых оперированных смежных сегментов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Rivière C, Lazennec JY, Van Der Straeten C, Auvinet E, Cobb J, Muirhead-Allwood S. The influence of spine-hip relations on total hip replacement: A systematic review. *Orthop Traumatol Surg Res*. 2017; 103(4): 559-568. doi: 10.1016/j.otsr.2017.02.014

2. Weinberg DS, Gebhart JJ, Liu RW. Hip-spine syndrome: A cadaveric analysis between osteoarthritis of the lumbar spine and hip joints. *Orthop Traumatol Surg Res*. 2017; 103(5): 651-656. doi: 10.1016/j.otsr.2017.05.010

3. Rajaee SS, Bae HW, Kanim LE, Delamarter RB. Spinal fusion in the United States: analysis of trends from 1998 to 2008. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2012; 37: 67-76.

4. Lee JC, Choi SW. Adjacent segment pathology after lumbar spinal fusion. *Asian Spine J*. 2015; 9(5): 807-817. doi: 10.4184/asj.2015.9.5.807

5. Никитин А.С., Асратян С.А., Новиков А.Е. Синдром поражения смежного уровня поясничного отдела позвоночника после спондилодеза. *Вестник ИвГМА*. 2015; 2: 66-70

6. Lee JC, Kim Y, Soh JW, Shin BJ. Risk factors of adjacent segment disease requiring surgery after lumbar spinal fusion: comparison of posterior lumbar interbody fusion and posterolateral fusion. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2014; 39(5): E339-E345. doi: 10.1097/BRS.0000000000000164

7. Hilibrand AS, Robbins M. Adjacent segment degeneration and adjacent segment disease: the consequences of spinal fusion? *Spine J*. 2004; 4(6 Suppl): 190S-194S. doi: 10.1016/j.spinee.2004.07.007

8. Никитин А.С. Синдром оперированного позвоночника. *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2016. 116(5): 112-118. doi: 10.17116/jnevro201611651112-118

9. Животенко А.П., Гольдберг О.А., Сороковиков В.А., Кошкарёва З.В., Шурыгина И.А. Формирование эпидурального фиброза при повреждении твёрдой мозговой оболочки при ляминэктомии в эксперименте. *Современные проблемы науки и образования*. 2019; 4: 60. doi: 10.17513/spno.29118

10. Животенко А.П., Кошкарева З.В., Сороковиков В.А. Профилактика послеоперационного рубцово-спаечного эпидурита: современное состояние вопроса. *Хирургия позвоночника*. 2019; 16(3): 74-81. doi: 10.14531/ss2019.3.74-81

11. Hashimoto K, Aizawa T, Kanno H, Itoi E. Adjacent segment degeneration after fusion spinal surgery – a systematic review. *Int Orthop*. 2019; 43(4): 987-993. doi: 10.1007/s00264-018-4241-z

12. Riew KD, Norvell DC, Chapman JR, Skelly AC, Dettori JR. Introduction/Summary statement: adjacent segment pathology. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2012; 37(22 Suppl): S1-S7. doi: 10.1097/BRS.0b013e31826cef01

13. Harrop JS, Youssef JA, Maltenfort M, et al. Lumbar adjacent segment degeneration and disease after arthrodesis and total disc arthroplasty. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2008; 33(15): 1701-1707. doi: 10.1097/BRS.0b013e31817bb956

14. Heo DH, Cho YJ, Cho SM, Choi HC, Kang SH. Adjacent segment degeneration after lumbar dynamic stabilization using pedicle screws and a nitinol spring rod system with 2-year minimum follow-up. *J Spinal Disord Tech*. 2012; 25(8): 409-414. doi: 10.1097/BSD.0b013e318231665d

15. Baliga S, Treon K, Craig NJ. Low back pain: current surgical approaches. *Asian Spine J*. 2015; 9(4): 645-657. doi: 10.4184/asj.2015.9.4.645

16. Шнякин П.Г., Ботов А.В., Амельченко А.А. Хирургические методы лечения рецидива болевого синдрома при дегенеративной патологии поясничного отдела позвоночника.

Анналы клинической и экспериментальной неврологии. 2018; 12(3): 61-68. doi: 10.25692/ACEN.2018.3.8

REFERENCES

1. Rivière C, Lazennec JY, Van Der Straeten C, Auvinet E, Cobb J, Muirhead-Allwood S. The influence of spine-hip relations on total hip replacement: A systematic review. *Orthop Traumatol Surg Res*. 2017; 103(4): 559-568. doi: 10.1016/j.otsr.2017.02.014

2. Weinberg DS, Gebhart JJ, Liu RW. Hip-spine syndrome: A cadaveric analysis between osteoarthritis of the lumbar spine and hip joints. *Orthop Traumatol Surg Res*. 2017; 103(5): 651-656. doi: 10.1016/j.otsr.2017.05.010

3. Rajaee SS, Bae HW, Kanim LE, Delamarter RB. Spinal fusion in the United States: analysis of trends from 1998 to 2008. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2012; 37: 67-76.

4. Lee JC, Choi SW. Adjacent segment pathology after lumbar spinal fusion. *Asian Spine J*. 2015; 9(5): 807-817. doi: 10.4184/asj.2015.9.5.807

5. Nikitin AS, Asratyan SA, Novikov AE. Syndrome of the adjacent level damage in the lumbar spine after spinal fusion. *Bulletin of the Ivanovo Medical Academy*. 2015; 2: 66-70. (In Russ).

6. Lee JC, Kim Y, Soh JW, Shin BJ. Risk factors of adjacent segment disease requiring surgery after lumbar spinal fusion: comparison of posterior lumbar interbody fusion and posterolateral fusion. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2014; 39(5): E339-E345. doi: 10.1097/BRS.0000000000000164

7. Hilibrand AS, Robbins M. Adjacent segment degeneration and adjacent segment disease: the consequences of spinal fusion? *Spine J*. 2004; 4(6 Suppl): 190S-194S. doi: 10.1016/j.spinee.2004.07.007

8. Nikitin AS. Failed back surgery syndrome. *Zhurnal nevrologii i psikhiatrii imeni S.S. Korsakova*. 2016; 116(5): 112-118. doi: 10.17116/jnevro201611651112-118 (In Russ.)

9. Zhivotenko AP, Goldberg OA, Sorokovikov VA, Koshkareva ZV, Shurygina IA. Formation of epidural fibrosis in case of dura mater damage during laminectomy in the experiment. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2019; 4: 60. doi: 10.17513/spno.29118 (In Russ.)

10. Zhivotenko AP, Koshkareva ZV, Sorokovikov VA. Prevention of postoperative scar-commissural epiduritis: current status of the issue. *Khirurgiya pozvonochnika*. 2019; 16(3): 74-81. doi: 10.14531/ ss2019.3.74-81 (In Russ.)

11. Hashimoto K, Aizawa T, Kanno H, Itoi E. Adjacent segment degeneration after fusion spinal surgery – a systematic review. *Int Orthop*. 2019; 43(4): 987-993. doi: 10.1007/s00264-018-4241-z

12. Riew KD, Norvell DC, Chapman JR, Skelly AC, Dettori JR. Introduction/Summary statement: adjacent segment pathology. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2012; 37(22 Suppl): S1-S7. doi: 10.1097/BRS.0b013e31826cef01

13. Harrop JS, Youssef JA, Maltenfort M, et al. Lumbar adjacent segment degeneration and disease after arthrodesis and total disc arthroplasty. *Spine (Phila Pa 1976)*. 2008; 33(15): 1701-1707. doi: 10.1097/BRS.0b013e31817bb956

14. Heo DH, Cho YJ, Cho SM, Choi HC, Kang SH. Adjacent segment degeneration after lumbar dynamic stabilization using pedicle screws and a nitinol spring rod system with 2-year minimum follow-up. *J Spinal Disord Tech*. 2012; 25(8): 409-414. doi: 10.1097/BSD.0b013e318231665d

15. Baliga S, Treon K, Craig NJ. Low back pain: current surgical approaches. *Asian Spine J*. 2015; 9(4): 645-657. doi: 10.4184/asj.2015.9.4.645

16. Shnyakin P.G., Botov A.V., Amelchenko A.A. Surgical methods of treatment of back pain syndrome recurrence in the degenerative pathology of the lumbar spine. *Annals of clinical and experimental neurology*. 2018; 12(3): 61-68. doi: 10.25692/ACEN.2018.3.8 (In Russ.)

Сведения об авторах

Животенко Александр Петрович – младший научный сотрудник научно-клинического отдела нейрохирургии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: sivotenko1976@mail.ru, http://orcid.org/0000-0002-4032-8575

Потапов Виталий Энгельсович – кандидат медицинских наук, заведующий нейрохирургическим отделением, ведущий научный сотрудник научно-клинического отдела нейрохирургии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: pva454@yandex.ru, http://orcid.org/0000-0001-9167-637X

Кошкарёва Зинаида Васильевна – кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник научно-клинического отдела нейрохирургии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии, http://orcid.org/ 0000-0002-4387-5048

Сороковиков Владимир Алексеевич – доктор медицинских наук, профессор, директор, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии»; заведующий кафедрой травматологии, ортопедии и нейрохирургии, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, http://orcid.org/0000-0002-9008-6383

Information about the authors

Aleksandr P. Zhivotenko – Research Officer at the Research Clinical Department of Neurosurgery, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: sivotenko1976@mail. ru, http://orcid.org/0000-0002-4032-8575

Vitaliy E. Potapov – Cand. Sc. (Med.), Head of Neurosurgical Unit, Leading Research Officer at the Research Clinical Department of Neurosurgery, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: pva454@yandex.ru, http://orcid.org/0000-0001-9167-637X

Zinaida V. Koshkareva – Cand. Sc. (Med.), Leading Research Officer at the Research Clinical Department of Neurosurgery, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, http:// orcid.org/0000-0002-4387-5048

Vladimir A. Sorokovikov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Director, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology; Head of the Department of Traumatology, Orthopedy and Neurosurgery, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, http://orcid.org/0000-0002-9008-6383

Статья получена: 02.09.2020. Статья принята: 16.09.2020. Статья опубликована: 26.10.2020.
Received: 02.09.2020. Accepted: 16.09.2020. Published: 26.10.2020.

DOI: 10.29413/ABS.2020-5.5.8

Черепно-мозговая травма и нейровоспаление: обзор основных биомаркеров*

Зудова А.И. [1, 2], **Сухоросова А.Г.** [1, 2], **Соломатина Л.В.** [1, 2]

[1] ФГАОУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б.Н. Ельцина», Институт естественных наук и математики (620002, г. Екатеринбург, ул. Мира, 19, Россия); [2] ФГБУН Институт иммунологии и физиологии Уральского отделения Российской академии наук (620049, г. Екатеринбург, ул. Первомайская, 106, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Зудова Алевтина Игоревна, e-mail: tina.zudova@mail.ru

Резюме

Черепно-мозговая травма является одной из основных причин как острой, так и долговременной заболеваемости в человеческой популяции. Большое количество доклинических и клинических исследований не даёт полного описания и понимания патофизиологических процессов, происходящих при черепно-мозговой травме и инициируемым ей нейровоспалением.

Нейровоспалительная реакция является очень сложным взаимодействием между клетками врождённой и адаптивной иммунной системы. Врождённая иммунная система активируется неспецифическими сигналами опасности, которые высвобождаются из повреждённых клеток и тканей, что, в свою очередь, приводит к фильтрации нейтрофилов, активации микроглии и астроцитов, высвобождению комплемента, а также выбросу гистамина тучными клетками. Впоследствии активируется адаптивный иммунный ответ, что приводит к развитию более отдалённых эффектов нейровоспаления. Мы представили обзор биомаркеров и их роль в прогнозе исхода при черепно-мозговой травме.

Среди рассматриваемых в данной статье биомаркеров наиболее специфичными в отношении черепно-мозговой травмы и нейровоспаления являются интерлейкин-6, интерлейкин-8, интерлейкин-10 и матриксные металлопротеиназы. Интерлейкин-6 может быть использован в качестве предиктора исхода, риска осложнений черепно-мозговой травмы. Интерлейкин -8 коррелирует с летальностью; Интерлейкин-10 наиболее специфичен в отношении пациентов с положительными результатами компьютерной томографии при лёгкой черепно-мозговой травме без временных ограничений. Активация матриксных металлопротеиназ обуславливает изменение проницаемости гематоэнцефалического барьера и дисфункцию нервно-сосудистой системы. Данных по остальным показателям, рассматриваемым в статье, недостаточно, чтобы использовать их в качестве специфичных для черепно-мозговой травмы биомаркеров.

Для более объективной оценки состояния пациента следует определять несколько биомаркеров в совокупности, так как именно комплекс показателей позволяет более полно оценить состояние пациента с черепно-мозговой травмой.

Ключевые слова: *черепно-мозговая травма, биомаркеры, нейровоспаление*

Для цитирования: Зудова А.И., Сухоросова А.Г., Соломатина Л.В. Черепно-мозговая травма и нейровоспаление: обзор основных биомаркеров. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(5): 60-67. doi: 10.29413/ABS.2020-5.5.8

Traumatic Brain Injury and Neuroinflammation: Review of the Main Biomarkers

Zudova A.I. [1, 2], **Sukhorosova A.G.** [1, 2], **Solomatina L.V.** [1, 2]

[1] Institute of Natural Sciences and Mathematics, Ural Federal University named after the first President of Russia B.N. Yeltsin (ul. Mira 19, Yekaterinburg 620002, Russian Federation); [2] Institute of Immunology and Physiology of the Ural Branch of the Russian Academy of Sciences (ul. Pervomayskaya 106, 620046, Yekaterinburg Russia, Russian Federation)

Corresponding author: Alevtina I. Zudova, e-mail: tina.zudova@mail.ru

Abstract

Traumatic brain injury is one of the main causes of both acute and long-term morbidity that concern that affects individuals in all demographics.

The processes that occur during traumatic brain injury and neuroinflammation cannot be fully explained in most clinical and preclinical researches.

Neuroinflammation is a very complex interaction between the cells of the innate and adaptive immune systems.

The development of reactions of the innate immune system occurs under the influence of various signals that are released from damaged cells and tissues. This leads to the activation of neutrophils, microglia and astrocytes, the release of complement, as well as the release of histamine by mast cells.

Subsequently, activation of an adaptive immune response leads to the development of later effects of neuroinflammation.

The topic of biomarkers in traumatic brain injury is extensive and rapidly developing. We presented an overview of the most common and well-studied biomarkers in the literature regarding head injury in humans and their role in predicting the outcome in traumatic brain injury.

Among the presented biomarkers, the most specific for traumatic brain injury are interleukins-6, -8, -10 and matrix metalloproteinases. We can use interleukin-6 to predict the outcome and risk of complications of traumatic brain injury.

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

The concentration of interleukin-8 shows the relationship of the biomarker with mortality. We can use interleukin-10 to confirm the results of computed tomography in traumatic brain injury. Matrix metalloproteinases present the degree of violation of the blood-brain barrier and brain dysfunction. Other indicators need a more complete study to clarify their role in this pathology. Of course, for a more reliable conclusion about the patient›s condition, it is preferable to use the data of several biomarkers at the same time.

Key words: *brain injuries, biomarkers, neuroinflammation*

For citation: Zudova A.I., Sukhorosova A.G., Solomatina L.V. Traumatic Brain Injury and Neuroinflammation: Review of the Main Biomarkers. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(5): 60-67. doi: 10.29413/ABS.2020-5.5.8

ПРОЦЕДУРА ПОИСКА ЛИТЕРАТУРЫ

В основном мы использовали данные статей, опубликованных в период с 2016 года по 2020 г. на «Web of Science» и относящихся к категориям Q1–Q3, но небольшая часть информации, касающаяся определений и классификаций, была взята из статей более ранних лет (2008, 2010, 2015 гг.).

Статьи включают материалы исследований и обзоров, проведённых в рамках изучения черепно-мозговой травмы и процессов нейровоспаления, а также биомаркеров, определяемых при данных патологиях. В период с 2016 г. по 2020 г. на платформе «Web of Science» (квартили Q1–Q3) было выявлено 1657 статей. Окончательный список избранных исследований был составлен на основе новизны и непосредственного отношения к основному направлению данного обзора.

Поиск был осуществлён по следующим ключевым словам: черепно-мозговая травма, биомаркеры черепно-мозговой травмы, нейровоспаление, биомаркеры нейровоспаления.

ЧЕРЕПНО-МОЗГОВАЯ ТРАВМА: ОСНОВНЫЕ ПОНЯТИЯ

Черепно-мозговая травма – это изменение функции мозга или другие признаки патологии головного мозга, вызванные внешней силой [1]. Черепно-мозговая травма может включать очаговое внутричерепное кровоизлияние, эпидуральную и субдуральную гематомы, гипоксемию, гипотензию, отёк, повреждение аксонов, гибель нейронов, глиоз и нарушение гематоэнцефалического барьера [2]. Первоначальное механическое повреждение инициирует патологические биохимические процессы, так называемое «вторичное повреждение», что способствует развитию нейровоспаления [2].

В современном мире черепно-мозговая травма является одним из социально-значимых заболеваний. По данным министерства здравоохранения Российской Федерации, в 2018 г. было зарегистрировано 256 случаев черепно-мозговой травмы на 100 тыс. населения; абсолютное число случаев внутричерепных травм за этот период времени составило 375 990 случаев [3].

Существует несколько систем классификации черепно-мозговой травмы, но чаще всего используются классификации по клинической тяжести или по физическому механизму воздействия.

Согласно данным института нейрохирургии имени Н.Н. Бурденко, черепно-мозговые травмы можно классифицировать по биомеханике, виду и генезу повреждения, типу черепно-мозговой травмы (изолированная, сочетанная или комбинированная), характеру, форме и тяжести повреждений, течению или исходу травмы [4]. По тяжести черепно-мозговой травмы в соответствии с шкалой комы Глазго подразделяются на лёгкую (13–15 баллов), средней тяжести (9–12 баллов), тяжёлую (3–8 баллов) [4].

По данным K.E. Saatman et al. [5], различают симптоматическую, этиологическую, патологоанатомическую, механистическую (биологический механизм травмы) и прогностическую классификации черепно-мозговой травмы [5].

НЕЙРОВОСПАЛЕНИЕ ПРИ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЕ

Нейровоспаление, возникающее при черепно-мозговой травме, является суммацией взаимодействий различных компонентов иммунной и нервной систем организма. Оно возникает после действия повреждающего фактора и может продолжаться в течение длительного периода (до нескольких десятков лет) [6].

После воздействия внешнего фактора при травме происходит первичное повреждение головного мозга с нарушением целостности нервных и глиальных клеток, кровеносных сосудов [6]. В дальнейшем первичное повреждение вызывает биохимические каскады [6], приводящие к вторичному повреждению в головном мозге [2].

Вторичные нарушения включают: эксайтотоксичность, окислительный стресс, нарушение митохондрий, повреждение гематоэнцефалического барьера и нейровоспаление [6].

При эксайтотоксичности повреждённые нейроны секретируют во внеклеточное пространство нейромедиатор глутамат, активируя рецепторы амино-3-гидрокси-5-метилизоксазол-4-пропионовую кислоту и N-метил-d-аспартат. Активация рецепторов обеспечивает поступление в клетки ионов натрия и кальция. За счёт увеличения концентрации кальция в нейронах осуществляется активация внутриклеточных ферментов: протеинфосфатаз, фосфолипаз и эндонуклеаз, что обеспечивает расщепление структур клеток (белков, фосфолипидов мембран, нитей дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК) и приводит к гибели нейронов путём некроза и апоптоза [6, 7].

Также повышение уровня кальция в клетке обеспечивает изменение потенциала мембран митохондрий, что приводит к нарушению биохимических процессов, протекающих в митохондриях и высвобождению во внутриклеточное пространство веществ, запускающих апоптоз [6, 7].

При черепно-мозговой травме происходит интенсивное образование активных форм кислорода и оксида азота клетками активированной микроглии [2]. Помимо этого, образование активных форм кислорода вызывают оксигемоглобин, метгемоглобин и брадикинин [7]. Брадикинин вызывает продукцию активных форм кислорода опосредованно через арахидоновую кислоту, которая активирует NADPH-оксидазу-2. Активные формы кислорода обеспечивают каскад реакций, приводящих к окислению белков, липидов, нуклеиновых кислот клеток, изменяя их структуру и функции, тем самым обеспечивая ещё большее нарушение и гибель клеток головного мозга.

В результате механического повреждения и возникшего отёка головного мозга происходит нарушение гематоэнцефалического барьера [9], так как активируется матриксная металлопротеиназа-9, которая разрушает межклеточные контакты, обеспечивая увеличение проницаемости гематоэнцефалического барьера [6], что ведёт за собой проникновение в очаг клеток иммунной системы нейтрофилов, лейкоцитов, моноцитов и циркулирующих факторов крови [6, 9], усугубляющих отёк головного мозга [6].

После повреждения головного мозга происходит выделение внутриклеточных эндогенных молекулярных фрагментов, ассоциированных с повреждениями [2], и патоген-ассоциированных молекулярных фрагментов [9]. Связывание молекулярных фрагментов, ассоциированных с повреждениями, с толл-подобными рецепторами приводит к активации микроглии с её дальнейшей трансформацией по типу M1 или по типу M2 [10]. Хотя имеются данные о наличии смешанного фенотипа [7]. Тип M1 является провоспалительным, тип M2-противовоспалительным [9, 11]. Дифференцировка пути трансформации микроглии (тип M1 или тип M2) определяется присутствием липополисахарида и интерферона, интерлейкина-4 и интерлейкина-13 [6, 7]. После дифференцировки, микроглия начинает выделять цитокины и другие факторы: M1 – интерлейкин-1β, фактор некроза опухоли-α, интерлейкин-12, трансформирующий ростовой фактор-β, активные формы кислорода [10], M2 – интерлейкин-10 [6, 10]. Именно этим обусловлено защитное и повреждающее действия микроглии на головной мозг. Кроме того, под воздействием выделяемых веществ происходит увеличение проницаемости гематоэнцефалического барьера, обусловливающее ещё большее повреждение ткани головного мозга. Также активированная микроглия экспрессирует NADPH-оксидазу-2, обеспечивающую продукцию активных форм кислорода [8, 12].

Астроциты оказывают двоякое влияние на головной мозг после черепно-мозговой травмы. Они защищают здоровые ткани головного мозга от воздействия токсинов повреждённого вещества мозга, образуя глиальный рубец [2, 6]. Но при этом они также выделяют хемокины, цитокины, активные формы кислорода, металлопротеиназу-9, вызывая воспаление и увеличение проницаемости гематоэнцефалического барьера [2, 13]. Кроме того, глиальный рубец может как способствовать, так и препятствовать регенерации повреждённой ткани [6, 13].

Процессы, происходящие при нейровоспалении, характеризуются изменением уровней определённых веществ в биологических жидкостях в зависимости от объёма повреждения, количества вовлечённых в воспаление клеток и других факторов, эти вещества могут рассматриваться в качестве биомаркеров нейровоспаления и черепно-мозговой травмы.

БИОМАРКЕРЫ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЫ И НЕЙРОВОСПАЛЕНИЯ

После черепно-мозговой травмы происходит активация различных клеточных элементов и, как следствие, усиленная выработка хемокинов, цитокинов и других факторов, обладающих как провоспалительными, так и противовоспалительными свойствами. По изменению концентрации этих веществ в биологических жидкостях можно делать прогнозы и выводы о состоянии пациента, то есть использовать в качестве биомаркеров.

Интерлейкин-1β

Представляет собой провоспалительный цитокин семейства интерлейкина-1, секретируется активированными клетками микроглии и макрофагами [14] и регулирует продукцию других цитокинов, индуцирует лихорадку, стимулирует фагоцитоз и апоптоз клеток [15]. Активная секреция интерлейкина-1β после черепно-мозговой травмы способствует повышению возбудимости и эксайтотоксичности через глутамат-эргический и ГАМК-эргический механизмы и изменению концентрации ионов кальция, что потенциально может привести к развитию эпилепсии [16]. Другой источник также подтверждает взаимосвязь повышенного уровня интерлейкина-1β в спинномозговой жидкости/сыворотке с повышенным риском развития посттравматической эпилепсии [14].

В статье T. Rodney et al. [15] были описаны противоречивые результаты: по данным одного исследования, проведённого в группе из 32 человек (женщины и мужчины с тяжёлой черепно-мозговой травмой), более низкий уровень интерлейкина-1β в спинномозговой жидкости в течение 5 дней после травмы означал более благоприятные неврологические последствия в течение 6 месяцев после травмы; по данным другого исследования, уровень интерлейкина-1β не показал значительных различий в крови при оценке у мужчин в течение 48 часов после тяжёлой черепно-мозговой травмы по сравнению с контрольной группой (люди без черепно-мозговой травмы), а также умершими пациентами [15].

Таким образом, невозможно сделать однозначные выводы о корреляции между уровнем интерлейкина-1β и развитием неблагоприятных неврологических последствий, но исследования, подтверждающие данную взаимосвязь, существуют.

Интерлейкин-6

Продукция интерлейкина-6 активированной микроглией и астроцитами повышается при нейровоспалении, при этом в опытах на крысах было показано, что интерлейкин-6 выполняет нейропротективную функцию [15]. Интерлейкин-6 функционирует путём образования комплекса с мембраносвязанными или растворимыми белками, что приводит к активации сигнала по пути JAK/STAT [14]. Интерлейкин-6 вырабатывается повсеместно в организме, поэтому его концентрацию в сыворотке следует определять с осторожностью, так как повреждения за пределами центральной нервной системы также могут вызывать повышение данного биомаркера [14], что не позволяет объективно оценивать данный показатель при сочетанной травме.

В исследовании D.B. Yang et al. [17] определялись сывороточные концентрации нескольких цитокинов, в том числе интерлейкина-6 в сыворотке у пациентов с тяжёлой черепно-мозговой травмой. По сравнению с контрольной группой показатели данных определяемых веществ были значительно повышены [17].

В работе M.J. Feng et al. [18] показано, что более высокий уровень сывороточного интерлейкина-6 у пациентов с тяжёлой черепно-мозговой травмой связан с повышенным уровнем летальности (в первые 30 дней) и повышением риска развития посттравматических осложнений.

Данные статьи T. Rodney et al. [15] подтверждают, что повышение уровня интерлейкина-6 в крови в течение 48 часов после тяжёлой черепно-мозговой травмы связано с худшими отдалёнными исходами [15]. Авторы данного исследования также рассматривали сывороточный интерлейкин-6 в качестве возможного биомаркера-кандидата для прогнозирования повышения внутричерепного давления после изолированной черепно-мозговой травмы [15].

Следовательно, повышенный уровень интерлейкина-6 в сыворотке крови при черепно-мозговой травме, может быть использован в качестве показателя клинического исхода, риска развития осложнений.

Интерлейкин-8

Интерлейкин-8 вырабатывается различными иммунными клетками (моноцитами, макрофагами и другими тканевыми клетками) и обладает свойствами хемоаттрактанта. Он привлекает в очаг воспаления нейтрофилы, что опосредует воспалительный процесс [15].

По данным T. Rodney et al. [15] повышенный уровень интерлейкина-8 в плазме крови в течение 24 часов после тяжёлой черепно-мозговой травмы коррелирует с летальностью: «повышение уровня интерлейкина-8 в плазме в течение 10 часов после черепно-мозговой травмы точно предсказывало летальность в течение следующего месяца» [15]. Более высокие уровни интерлейкина-8 как в спинномозговой жидкости, так и в плазме крови у пациентов со средней или тяжёлой черепно-мозговой травмой, полученные через 6–24 часов после травмы, коррелируют с плохими исходами, представленными в расширенной шкале исходов Глазго от 1 до 4 баллов в 6 месяцев после травмы [15].

В обзоре T. Bogoslovsky et al. [16] показана связь уровня интерлейкина-8 в сыворотке с часовыми значениями внутричерепного давления и церебрального перфузионного давления у пациентов с тяжёлой черепно-мозговой травмой ($n = 24$, госпитализация при шкале комы Глазго < 9). Таким образом, повышение уровня интерлейкина-8 может спрогнозировать внутричерепную гипертензию и церебральную гипоперфузию до их проявления в клинике [16].

Концентрация интерлейкина-8 через 6 часов после тяжёлой черепно-мозговой травмы является пиковой, её значение в 3,5 раза превышает значения таковой у здоровых людей контрольной группы. В крови умерших пациентов концентрация интерлейкина-8 была более чем в 2 раза выше, чем у выживших пациентов [19].

На основании данных исследований можно сделать вывод: повышенный уровень интерлейкина-8 в сыворотке коррелирует с летальностью, показателями расширенной шкалы исхода Глазго, развитием внутричерепного давления и церебрального перфузионного давления, а также даёт возможность прогнозировать вторичное повреждение головного мозга при черепно-мозговой травме.

Интерлейкин-10

Интерлейкин-10 является мощным противовоспалительным цитокином, способным уменьшать синтез провоспалительных цитокинов, таких как фактор некроза опухоли-α, интерлейкин-6 и интерлейкин-1, и подавлять активацию рецепторов цитокинов [15]. Повышение уровня интерлейкина-10 в сыворотке в первые сутки после повреждения коррелирует с тяжестью черепно-мозговой травмы и с уровнем летальности [15]. Однако обзорная статья T. Rodney et al. [15] показывает, что уровни интерлейкина-10 не имели значимых различий у пациентов с благоприятными и неблагоприятными исходами. Исследование A.P. Di Battista et al. [19] подтверждает повышение уровня интерлейкина-10 через 6, 12 и 24 часа после черепно-мозговой травмы у пациентов с неблагоприятными последствиями и у пациентов с летальным исходом. «Интерлейкин-10 был самым достоверным предиктором смерти из всех проанализированных цитокинов (пик, 6 часов; отношение шансов – 2,82; 95% доверительный интервал 1,63–4,87)» [19].

В исследовании L. Lagerstedt et al. [20] определялась связь нескольких маркеров с результатами компьютерной томографии у пациентов с лёгкой черепно-мозговой травмой. Анализ данных показал, что интерлейкин-10 может быть интересным и клинически полезным диагностическим инструментом, способным различать положительные и отрицательные результаты компьютерной томографии у пациентов с лёгкой черепно-мозговой травмой и может конкурировать с S100B – наиболее изученным белком диагностики черепно-мозговой травмы. «Специфичность S100B при чувствительности 100 % составляла 18 % (95% доверительный интервал 10,8–25,2), тогда как интерлейкин-10 достигал специфичности 27 % (95% доверительный интервал 18,9–35,1)» [20].

Согласно приведённым данным, мы можем рассматривать связь уровня интерлейкина-10 с неблагоприятными исходами черепно-мозговой травмы и летальностью.

Фактор некроза опухоли-α

В головном мозге фактор некроза опухоли-α в норме участвует во многих процессах, но при травме его концентрация увеличивается и вызывает прогрессирование заболевания, воспаление и другие процессы [15]. Механизм действия фактора некроза опухоли-α на клеточном уровне обусловлен активацией им рецепторов TNF-R1 (p55) и TNF-R2 (p75). Запуск дальнейших каскадных реакций приводит к гибели клеток путём апоптоза [14].

При черепно-мозговой травме значение фактора некроза опухоли-α выше, чем в контрольной группе [17]. При этом пик наблюдается в первые часы после травмы [21]. Уровень фактора некроза опухоли-α у пациентов с тяжёлой черепно-мозговой травмой коррелирует с летальностью [18] и полиорганной недостаточностью [14, 21]. Повышенные показатели фактора некроза опухоли-α через 6 и 12 часов после травмы были связаны с неблагоприятными неврологическими исходами у пациентов [19]. В исследовании посмертных образцов людей мужского пола была обнаружена связь уровня фактора некроза опухоли-α с повышенным внутричерепным давлением, но не установлена существенная связь с тяжестью травмы [15]. Корреляцию уровня фактора некроза опухоли-α с риском развития внутричерепного давления подтверждают данные статьи M.M. Banoei et al. [21].

Следовательно, повышение концентрации фактора некроза опухоли-α в очаге воспаления приводит к активации процессов гибели нейронов и к нейродегенерации, а также коррелирует с тяжестью травмы и летальностью.

С-реактивный белок

Уровень С-реактивного белка повышается при тяжёлой черепно-мозговой травме [17, 18], при этом значение

данного показателя выше у пациентов с летальным исходом и у пациентов с неблагоприятными событиями после травмы [18].

В исследовании R.P. Anada et al. [22] для оценки степеней тяжести травмы, наряду с шкалой комы Глазго, определяли уровень С-реактивного белка, который был выше у пациентов с черепно-мозговой травмой лёгкой, средней и тяжёлой степени по сравнению с контрольной группой. При этом в зависимости от степени тяжести уровень С-реактивного белка был различен, что позволяет использовать его для более объективной диагностики пациентов с черепно-мозговой травмой [22].

Однако С-реактивный белок не является маркером, специфичным только для черепно-мозговой травмы, поэтому при наличии других травм или патологий, вызывающих изменение уровня С-реактивного белка, оценка полученных результатов не будет объективна [22].

Тканевой ингибитор металлопротеиназ-1

В экспериментах на мышах показана нейропротективная роль тканевого ингибитора металлопротеиназ-1, в то время как данные пациентов с тяжёлой черепно-мозговой травмой указывают на связь с тяжестью травмы [14] и летальностью [14, 23]. В большинстве случаев более высокая летальность в течение 30 дней наблюдалась при уровне тканевого ингибитора металлопротеиназ-1 выше 220 нг/мл [14, 21].

Таким образом, роль тканевого ингибитора металлопротеиназ-1 при черепно-мозговой травме изучена не в полной мере, чтобы установить его связь с тяжестью черепно-мозговой травмы и летальностью.

Трансформирующий фактор роста-β

При черепно-мозговой травме происходит нарушение гематоэнцефалического барьера, вследствие чего становится возможным поступление фибриногена в головной мозг. Это, в свою очередь, приводит к активации сывороточного трансформирующего фактора роста-β [14]. Активированный трансформирующий фактор роста-β обладает автоиндукцией в астроцитах, то есть обеспечивает собственный синтез [14]. Помимо этого, происходит выделение трансформирующего фактора роста-β активированной микроглией М1-типа (провоспалительной) [10].

Можно сделать вывод, что трансформирующий фактор роста-β, являясь возможным маркером летального исхода и возникновения посттравматической эпилепсии [21], на данный момент времени требует дальнейшего изучения. Хотя данных о связи клинического исхода и уровня трансформирующего фактора роста-β у людей нет, у мышей в условиях травмы головы было определено более высокое соотношение уровня трансформирующего фактора роста-β в спинномозговой жидкости и сыворотке, что указывало на повышенный риск развития посттравматической эпилепсии [7].

Вещество Р

Вещество Р – белок, содержащий 11 аминокислот [24, 25], относится к семейству тахикининов [14, 24, 25]. В организме человека вещество Р можно обнаружить в центральной и периферической нервной системе и нейронах кишечника [24, 25]. В головном мозге вещество Р находится в ядрах и в чувствительных к капсаицину сенсорных нейронах [25]. По большей части – в сером веществе мозга [24]. Предполагают, что вещество Р, связанное с эндотелиальной стенкой сосудов головного мозга, обеспечивает увеличение проницаемости гематоэнцефалического барьера и развитие вазогенного отёка [25].

Вещество Р связывается преимущественно с рецептором NK1 [14, 25], обладая к данному рецептору большим сродством, чем к NK2 и NK3 [24, 25], и усиливает транскрипцию матричных рибонуклеиновых кислот интерлейкина-12, интерлейкина-10, интерлейкина-6 и интерлейкина-8 [14]. Вещество Р повышает экспрессию молекулы межклеточной адгезии-1, что увеличивает проницаемость гематоэнцефалического барьера для лейкоцитов. Помимо этого, вещество Р вызывает активацию микроглии, астроцитов [14] и тучных клеток [24] с их дальнейшей секрецией различных факторов.

При черепно-мозговой травме концентрация вещества Р в сыворотке повышена и коррелирует с тяжестью травмы и уровнем летальности [14, 25]. Уровень вещества Р в сыворотке пациентов, превышающий значение 299 мкг/мл, связан с более высокой 30-дневной летальностью [14, 21], а также с повышением риска развития отёка головного мозга, нарушения двигательных и когнитивных функций [25]. При применении антагониста рецептора NK1 у лабораторных животных наблюдалось снижение проницаемости гематоэнцефалического барьера, отёка мозга и нарушения когнитивных функций [25].

Данные исследований представляют, что высокий уровень вещества Р приводит к увеличению проницаемости гематоэнцефалического барьера и к активации синтеза некоторых цитокинов, что приводит к усилению нейровоспаления и отеку головного мозга.

Моноцитарный хемоаттрактантный белок-1

Относится к хемокинам, при черепно-мозговой травме продуцируется астроцитами [23]. Роль моноцитарного хемоаттрактантного белка-1 при нейровоспалении заключается в привлечении моноцитов и макрофагов к месту травмы [23]. Исследование J.R. Huie et al. [23] показало, что моноцитарный хемоаттрактантный белок-1 обладает высокой чувствительностью и специфичностью при черепно-мозговой травме. У пациентов с тяжёлой и средней степенями тяжести черепно-мозговой травмы уровень моноцитарного хемоаттрактантного белка-1 повышен [19]. Моноцитарный хемоаттрактантный белок-1 может использоваться как прогностический маркер, так как его уровень повышен в первые сутки у пациентов с неблагоприятным исходом [19].

В исследовании лёгкой черепно-мозговой травмы при сравнении положительных и отрицательных результатов компьютерной томографии пациентов с уровнем маркеров, при чувствительности 100 % специфичность составляла 7 %, что было ниже, чем показатель для интерлейкина-10 (при чувствительности 100 % специфичность составляла 31 %) [20].

То есть, концентрация моноцитарного хемоаттрактантного белка-1 коррелирует с тяжестью черепно-мозговой травмы и даёт возможность прогнозировать исход травмы.

Фактор торможения миграции макрофагов

Фактор торможения миграции макрофагов является хорошо известным провоспалительным цитокином.

D.B. Yang et al. [17] стремились продемонстрировать связь концентрации фактора торможения миграции макрофагов в сыворотке крови с воспалением, степенью тяжести травмы, осложнениями после черепно-мозговой травмы и прогнозом. По сравнению с контролем концентрации фактора торможения миграции макрофагов и ряда других маркеров в сыворотке были значительно увеличены у пациентов, перенёсших черепно-мозговую травму [17]. Концентрации фактора торможения миграции макрофагов коррелировали с количеством лейкоцитов, концентрацией С-реактивного белка, интерлейкина-6, фактора некроза опухоли-α и шкалой комы Глазго [17]. Повышенные концентрации фактора торможения миграции макрофагов также были связаны с тяжестью полученной травмы. Но роль фактора торможения миграции макрофагов в отношении прогноза остаётся неясной [17]. Кроме того, нельзя с точностью сказать, что изменение концентрации фактора торможения миграции макрофагов имеет прогностическую ценность для определения 6-месячного неблагоприятного исхода внутричерепной травмы [17].

Таким образом, хотя концентрация фактора торможения миграции макрофагов в крови и коррелирует с тяжестью травмы, количеством лейкоцитов и концентрацией других компонентов воспаления, она не даёт возможности оценить прогноз черепно-мозговой травмы.

Матриксные металлопротеиназы

Матриксные металлопротеиназы – семейство кальций-зависимых цинксодержащих эндопептидаз, которые выполняют разнообразные физиологические и патологические функции, включая деградацию внеклеточного матрикса, регуляцию цитокинов, хемокинов, расщепление поверхностных рецепторов и другие [26]. Они подразделяются на категории в зависимости от субстрата: коллагеназы (матриксные металлопротеиназы-1, -8 и -13), эластазы (матриксные металлопротеиназы-7, -12), желатиназы (матриксные металлопротеиназы-2, -9), стромелизины (матриксные металлопротеиназы-3, -10, -11), и матриксные металлопротеиназы мембранного типа (матриксные металлопротеиназы-14, -15, -16, -17, матриксные металлопротеиназы мембранного типа) [14].

В течение первых 7 суток после черепно-мозговой травмы уровни металлопротеиназ повышаются в сыворотке и внеклеточной жидкости мозга [14]. Уровни различных металлопротеиназ в некоторых случаях могут служить в качестве биомаркера воспаления. Активация матриксных металлопротеиназ изменяет белки внеклеточного матрикса и способствует изменению проницаемости гематоэнцефалического барьера и дисфункции нервно-сосудистой системы [13]. Анализ внеклеточной мозговой жидкости у пациентов с тяжёлой черепно-мозговой травмой показал, что в первую очередь повышается экспрессия матриксных металлопротеиназ-8, -9, затем матриксных металлопротеиназ-2, -3 и, наконец, матриксной металлопротеиназы-7 [26]. Экспрессия нейтрофильной коллагеназы, матриксной металлопротеиназы-8, повышалась с увеличением внутричерепного давления [26]. Её концентрация была выше у пациентов с летальным исходом после черепно-мозговой травмы [26].

В результате первичного повреждения головного мозга активируется матриксная металлопротеиназа-9, которая увеличивает проницаемость гематоэнцефалического барьера [6]. Опыты на лабораторных мышах, нокаутных по матриксной металлопротеиназе-9, и мышах, получавших ингибиторы матриксной металлопротеиназы-9, демонстрируют меньшее функциональное нарушение и клеточную дегенерацию после черепно-мозговой травмы [14]. Количественное определение металлопротеиназ у пациентов с черепно-мозговой травмой выявило повышенную экспрессию матриксной металлопротеиназы-9 в течение 72 часов после травмы [26]. У пациентов с тяжёлой черепно-мозговой травмой концентрации матриксной металлопротеиназы-9 и клеточного фибронектина в плазме через 6, 12, 24 и 48 часов после травмы коррелировали с летальностью [16]. Но не удаётся окончательно определить, является ли матриксная металлопротеиназа-9 нейропротекторным или повреждающим агентом [26].

Предполагается, что посттравматические воспалительные цитокины, включая интерлейкин-1α, интерлейкин-2 и фактор некроза опухоли-α, усиливают транскрипцию матриксных металлопротеиназ-8 и -9 в центральной нервной системе [14]. В статье V. Dinet et al. [13] показано, что уровни матриксных металлопротеиназ-9 и -2 резко повышаются после черепно-мозговой травмы у грызунов [13]. Активность матриксной металлопротеиназы-3 увеличивается после черепно-мозговой травмы. Возможно, она принимает участие в синаптическом ремоделировании [13].

Это означает, что при черепно-мозговой травме изменяются уровни экспрессии разных типов матриксных металлопротеиназ. Наиболее изученной является матриксная металлопротеиназа-9. Увеличение её экспрессии после черепно-мозговой травмы способствует повышению проницаемости гематоэнцефалического барьера и связано с летальным исходом.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Черепно-мозговая травма является одним из наиболее распространённых заболеваний в мире и характеризуется разнообразными проявлениями и последствиями. Большинство процессов, происходящих при черепно-мозговой травме, взаимосвязаны, они дополняют и усиливают действие друг друга. Неблагоприятные последствия и осложнения внутричерепных травм связаны с вторичным повреждением и развитием нейровоспаления. Процессы нейровоспалительной реакции опосредованы активацией клеточных элементов (глиальных клеток, клеток иммунной системы) и секрецией различных веществ (цитокинов, хемокинов и т. д.). Механизмы развития нейровоспаления очень сложны – события развиваются одно за другим, образуя каскадные реакции, которые порой замыкаются в порочный круг. Поэтому очень важно изучение и понимание происходящих процессов в организме после черепно-мозговой травмы, уровни каких веществ изменяются в биологических жидкостях, и определение наиболее специфичных из них. Выявление биомаркеров помогает оценить тяжесть травмы и риски отдалённых последствий, а также повышает эффективность терапии пациентов с черепно-мозговой травмой и нейровоспалением.

Финансирование

Работа выполнена в рамках госзадания ИИФ УрО РАН (регистрационный номер НИОКТР № АААА-А18-118020590108-7).

ЛИТЕРАТУРА

1. Menon DK, Schwab K, Wright DW, Maas AI, et al. Position statement: definition of traumatic brain injury. *Arch Phys Med Rehabil.* 2010; 91(11): 1637-1640. doi: 10.1016/j.apmr.2010.05.017
2. Yilmaz C, Karali K, Fodelianaki G, Gravanis A, Chavakis T, Charalampopoulos I, et al. Neurosteroids as regulators of neuroinflammation. *Front Neuroendocrinol.* 2019; 55: 100788. doi: 10.1016/j.yfrne.2019.100788
3. Министерство здравоохранения Российской Федерации. *Социально-значимые заболевания населения России в 2018 году (статистические материалы)*. М.; 2019.
4. Лихтерман Л.Б. Классификация черепно-мозговой травмы. Часть II. Современные принципы классификации ЧМТ. *Судебная медицина.* 2015; 1(3): 37-48.
5. Saatman KE, Duhaime AC, Bullock R, Maas AIR, Valadka A, Manley GT, et al. Classification of traumatic brain injury for targeted therapies. *J Neurotrauma.* 2008; 25(7): 719-738. doi: 10.1089/neu.2008.0586
6. Schimmel SJ, Acosta S, Lozano D. Neuroinflammation in traumatic brain injury: A chronic response to an acute injury. *Brain Circ.* 2017; 3(3): 135-142. doi: 10.4103/bc.bc_18_17
7. Ladak AA, Enam SA, Ibrahim MT. A Review of the molecular mechanisms of traumatic brain injury. *World Neurosurg.* 2019; 131: 126-132. doi: 10.1016/j.wneu.2019.07.039
8. Sahel DK, Kaira M, Raj K, Sharma S, Singh S. Mitochondrial dysfunctioning and neuroinflammation: recent highlights on the possible mechanisms involved in traumatic brain injury. *Neurosci Lett.* 2019; 710: 134347. doi: 10.1016/j.neulet.2019.134347
9. Nasr IW, Chun Y, Kannan S. Neuroimmune responses in the developing brain following traumatic brain injury. *Exp Neurol.* 2019; 320: 112957. doi: 10.1016/j.expneurol.2019.112957
10. Needham EJ, Helmy A, Zanier ER, Jones JL, Coles AJ, Menon DK. The immunological response to traumatic brain injury. *J Neuroimmunol.* 2019; 332: 112-125. doi: 10.1016/j.jneuroim.2019.04.005
11. Pearn ML, Niesman IR, Egawa J, Sawada A, Almenar-Queralt A, Shah SB, et al. Pathophysiology associated with traumatic brain injury: current treatments and potential novel therapeutics. *Cell Mol Neurobiol.* 2017; 37(4): 571-585. doi: 10.1007/s10571-016-0400-1
12. Russo MV, McGavern DB. Inflammatory neuroprotection following traumatic brain injury. *Science.* 2016; 353(6301): 783-755. doi: 10.1126/science.aaf6260
13. Dinet V, Petry KG, Badaut J. Brain-immune interactions and neuroinflammation after traumatic brain injury. *Front Neurosci.* 2019; 13: 1178. doi: 10.3389/fnins.2019.01178
14. Casault C, Al Sultan AS, Banoei M, Couillard P, Kramer A, Winston BW. Cytokine responses in severe traumatic brain injury: where there is smoke, is there fire? *Neurocrit Care.* 2019; 30(1): 22-32. doi: 10.1007/s12028-018-0522-z
15. Rodney T, Osier N, Gill J. Pro- and anti-inflammatory biomarkers and traumatic brain injury outcomes: A review. *Cytokine.* 2018; 110: 248-256. doi: 10.1016/j.cyto.2018.01.012
16. Bogoslovsky T, Gill J, Jeromin A, Davis C, Diaz-Arrastia R. Fluid biomarkers of traumatic brain injury and intended context of use. *Diagnostics (Basel).* 2016; 6(4): 37. doi: 10.3390/diagnostics6040037
17. Yang DB, Yu WH, Dong XQ, Zhang ZY, Du Q, Zhu Q, et al. Serum macrophage migration inhibitory factor concentrations correlate with prognosis of traumatic brain injury. *Clin Chim Acta.* 2017; 469: 99-104. doi: 10.1016/j.cca.2017.03.030
18. Feng MJ, Ning W Bin, Wang W, Lv ZH, Liu XB, Zhu Y, et al. Serum S100A12 as a prognostic biomarker of severe traumatic brain injury. *Clin Chim Acta.* 2018; 480: 84-91. doi: 10.1016/j.cca.2018.01.044
19. Di Battista AP, Rhind SG, Hutchison MG, Hassan S, Shiu MY, Inaba K, et al. Inflammatory cytokine and chemokine profiles are associated with patient outcome and the hyperadrenergic state following acute brain injury. *J Neuroinflammation.* 2016; 13: 40. doi: 10.1186/s12974-016-0500-3
20. Lagerstedt L, Egea-Guerrero JJ, Rodríguez-Rodríguez A, Bustamante A, Montaner J, El Rahal A, et al. Early measurement of interleukin-10 predicts the absence of CT scan lesions in mild traumatic brain injury. *PLoS One.* 2018; 13(2): e0193278. doi: 10.1371/journal.pone.0193278
21. Banoei MM, Casault C, Metwaly SM, Winston BW. Metabolomics and biomarker discovery in traumatic brain injury. *J Neurotrauma.* 2018; 35(16): 1831-1848. doi: 10.1089/neu.2017.5326
22. Anada RP, Wong KT, Jayapalan JJ, Hashim OH, Ganesan D. Panel of serum protein biomarkers to grade the severity of traumatic brain injury. *Electrophoresis.* 2018; 39(18): 2308-2315. doi: 10.1002/elps.201700407
23. Huie JR, Diaz-Arrastia R, Yue JK, Sorani MD, Puccio AM, Okonkwo DO, et al. Testing a multivariate proteomic panel for traumatic brain injury biomarker discovery: a TRACK-TBI pilot study. *J Neurotrauma.* 2019; 36(1): 100-110. doi: 10.1089/neu.2017.5449
24. Corrigan F, Mander KA, Leonard AV, Vink R. Neurogenic inflammation after traumatic brain injury and its potentiation of classical inflammation. *J Neuroinflammation.* 2016; 13(1): 264. doi: 10.1186/s12974-016-0738-9
25. Vink R, Gabrielian L, Thornton E. The role of substance P in secondary pathophysiology after traumatic brain injury. *Front Neurol.* 2017; 8: 304. doi: 10.3389/fneur.2017.00304
26. Jassam YN, Izzy S, Whalen M, McGavern DB, El Khoury J. Neuroimmunology of traumatic brain injury: time for a paradigm shift. *Neuron.* 2017; 95(6): 1246-1265. doi: 10.1016/j.neuron.2017.07.010

REFERENCES

1. Menon DK, Schwab K, Wright DW, Maas AI, et al. Position statement: definition of traumatic brain injury. *Arch Phys Med Rehabil.* 2010; 91(11): 1637-1640. doi: 10.1016/j.apmr.2010.05.017
2. Yilmaz C, Karali K, Fodelianaki G, Gravanis A, Chavakis T, Charalampopoulos I, et al. Neurosteroids as regulators of neuroinflammation. *Front Neuroendocrinol.* 2019; 55: 100788. doi: 10.1016/j.yfrne.2019.100788
3. Ministry of Health of the Russian Federation. *Socially significant diseases of the Russian population in 2018 (statistical materials)*. M.; 2019. (In Russ.)
4. Lichterman L.B. Classification of cranial trauma. *Sudebnaya meditsina*. 2015; 1(3): 37-48. (In Russ.)
5. Saatman KE, Duhaime AC, Bullock R, Maas AIR, Valadka A, Manley GT, et al. Classification of traumatic brain injury for targeted therapies. *J Neurotrauma.* 2008; 25(7): 719-738. doi: 10.1089/neu.2008.0586
6. Schimmel SJ, Acosta S, Lozano D. Neuroinflammation intraumatic brain injury: A chronic response to an acute injury. *Brain Circ.* 2017; 3(3): 135-142. doi: 10.4103/bc.bc_18_17
7. Ladak AA, Enam SA, Ibrahim MT. A Review of the molecular mechanisms of traumatic brain injury. *World Neurosurg.* 2019; 131: 126-132. doi: 10.1016/j.wneu.2019.07.039
8. Sahel DK, Kaira M, Raj K, Sharma S, Singh S. Mitochondrial dysfunctioning and neuroinflammation: recent highlights on the possible mechanisms involved in traumatic brain injury. *Neurosci Lett.* 2019; 710: 134347. doi: 10.1016/j.neulet.2019.134347
9. Nasr IW, Chun Y, Kannan S. Neuroimmune responses in the developing brain following traumatic brain injury. *Exp Neurol.* 2019; 320: 112957. doi: 10.1016/j.expneurol.2019.112957
10. Needham EJ, Helmy A, Zanier ER, Jones JL, Coles AJ, Menon DK. The immunological response to traumatic brain injury. *J Neuroimmunol.* 2019; 332: 112-125. doi: 10.1016/j.jneuroim.2019.04.005
11. Pearn ML, Niesman IR, Egawa J, Sawada A, Almenar-Queralt A, Shah SB, et al. Pathophysiology associated with traumatic brain injury: current treatments and potential novel therapeutics. *Cell Mol Neurobiol.* 2017; 37(4): 571-585. doi: 10.1007/s10571-016-0400-1
12. Russo MV, McGavern DB. Inflammatory neuroprotection following traumatic brain injury. *Science.* 2016; 353(6301): 783-755. doi: 10.1126/science.aaf6260

13. Dinet V, Petry KG, Badaut J. Brain-immune interactions and neuroinflammation after traumatic brain injury. *Front Neurosci.* 2019; 13: 1178. doi: 10.3389/fnins.2019.01178

14. Casault C, Al Sultan AS, Banoei M, Couillard P, Kramer A, Winston BW. Cytokine responses in severe traumatic brain injury: where there is smoke, is there fire? *Neurocrit Care.* 2019; 30(1): 22-32. doi: 10.1007/s12028-018-0522-z

15. Rodney T, Osier N, Gill J. Pro- and anti-inflammatory biomarkers and traumatic brain injury outcomes: A review. *Cytokine.* 2018; 110: 248-256. doi: 10.1016/j.cyto.2018.01.012

16. Bogoslovsky T, Gill J, Jeromin A, Davis C, Diaz-Arrastia R. Fluid biomarkers of traumatic brain injury and intended context of use. *Diagnostics (Basel).* 2016; 6(4): 37. doi: 10.3390/diagnostics6040037

17. Yang DB, Yu WH, Dong XQ, Zhang ZY, Du Q, Zhu Q, et al. Serum macrophage migration inhibitory factor concentrations correlate with prognosis of traumatic brain injury. *Clin Chim Acta.* 2017; 469: 99-104. doi: 10.1016/j.cca.2017.03.030

18. Feng MJ, Ning W Bin, Wang W, Lv ZH, Liu XB, Zhu Y, et al. Serum S100A12 as a prognostic biomarker of severe traumatic brain injury. *Clin Chim Acta.* 2018; 480: 84-91. doi: 10.1016/j.cca.2018.01.044

19. Di Battista AP, Rhind SG, Hutchison MG, Hassan S, Shiu MY, Inaba K, et al. Inflammatory cytokine and chemokine profiles are associated with patient outcome and the hyperadrenergic state following acute brain injury. *J Neuroinflammation.* 2016; 13: 40. doi: 10.1186/s12974-016-0500-3

20. Lagerstedt L, Egea-Guerrero JJ, Rodríguez-Rodríguez A, Bustamante A, Montaner J, El Rahal A, et al. Early measurement of interleukin-10 predicts the absence of CT scan lesions in mild traumatic brain injury. *PLoS One.* 2018; 13(2): e0193278. doi: 10.1371/journal.pone.0193278

21. Banoei MM, Casault C, Metwaly SM, Winston BW. Metabolomics and biomarker discovery in traumatic brain injury. *J Neurotrauma.* 2018; 35(16): 1831-1848. doi: 10.1089/neu.2017.5326

22. Anada RP, Wong KT, Jayapalan JJ, Hashim OH, Ganesan D. Panel of serum protein biomarkers to grade the severity of traumatic brain injury. *Electrophoresis.* 2018; 39(18): 2308-2315. doi: 10.1002/elps.201700407

23. Huie JR, Diaz-Arrastia R, Yue JK, Sorani MD, Puccio AM, Okonkwo DO, et al. Testing a multivariate proteomic panel for traumatic brain injury biomarker discovery: a TRACK-TBI pilot study. *J Neurotrauma.* 2019; 36(1): 100-110. doi: 10.1089/neu.2017.5449

24. Corrigan F, Mander KA, Leonard AV, Vink R. Neurogenic inflammation after traumatic brain injury and its potentiation of classical inflammation. *J Neuroinflammation.* 2016; 13(1): 264. doi: 10.1186/s12974-016-0738-9

25. Vink R, Gabrielian L, Thornton E. The role of substance P in secondary pathophysiology after traumatic brain injury. *Front Neurol.* 2017; 8: 304. doi: 10.3389/fneur.2017.00304

26. Jassam YN, Izzy S, Whalen M, McGavern DB, El Khoury J. Neuroimmunology of traumatic brain injury: time for a paradigm shift. *Neuron.* 2017; 95(6): 1246-1265. doi: 10.1016/j.neuron.2017.07.010

Сведения об авторах

Зудова Алевтина Игоревна – студентка, Институт естественных наук и математики Уральского федерального университета имени первого Президента России Б.Н. Ельцина, e-mail: tina.zudova@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-0086-1201

Сухоросова Анна Георгиевна – студентка, Институт естественных наук и математики Уральского федерального университета имени первого Президента России Б.Н. Ельцина, e-mail: suhorosovaa@gmail.com, https://orcid.org/0000-0002-9850-9387

Соломатина Лилия Владимировна – кандидат медицинских наук, старший преподаватель кафедры медицинской биохимии и биофизики, Институт естественных наук и математики Уральского федерального университета имени первого Президента России Б.Н. Ельцина, e-mail: slv10@list.ru, https://orcid.org/0000-0002-4900-5019

Information about the authors

Alevtina I. Zudova – Student, Institute of Natural Sciences and Mathematics, Ural Federal University named after the first President of Russia B.N. Yeltsin, e-mail: tina.zudova@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-0086-1201

Anna G. Sukhorosova – Student, Institute of Natural Sciences and Mathematics, Ural Federal University named after the first President of Russia B.N. Yeltsin, e-mail: suhorosovaa@gmail.com, https://orcid.org/0000-0002-9850-9387

Liliya V. Solomatina – Cand. Sc. (Med.), Senior Lecturer of the Department of Medical Biochemistry and Biophysics of the Institute of Natural Sciences and Mathematics, Ural Federal University named after the first President of Russia B.N. Yeltsin, e-mail: slv10@list.ru, https://orcid.org/0000-0002-4900-5019

Статья получена: 10.06.2020. Статья принята: 02.09.2020. Статья опубликована: 26.10.2020.
Received: 10.06.2020. Accepted: 02.09.2020. Published: 26.10.2020.

DOI: 10.29413/ABS.2020-5.5.9

Электронейромиографические показатели у больных со стенозирующим процессом позвоночного канала на шейном уровне

Ипполитова Е.Г. [1], Дамдинов Б.Б. [1], Кошкарева З.В. [1], Верхозина Т.К. [1, 2]

[1] ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1, Россия);
[2] Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (664049, г. Иркутск, Юбилейный, 100, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Дамдинов Баир Батыевич, e-mail: iscst@mail.ru

Резюме

Одной из основных причин болевого синдрома в шейном отделе позвоночника, вызывающей развитие неврологического дефицита, является стенозирующий процесс позвоночного канала с компрессией сосудисто-невральных структур. Для определения тактики лечения, прогнозирования последствий заболевания большое значение приобретает своевременная диагностика функционального состояния невральных структур.

Методика исследований. *Информативным методом для диагностики стенозирующих процессов шейного отдела позвоночника, наряду с рентгенографией и МРТ, является электронейромиография (ЭНМГ). В основу анализа взяты 35 пациентов со стенозирующим процессом позвоночного канала на шейном уровне, из них мужчин – 17, женщин – 18, средний возраст пациентов составил 47,7 ± 9,9 года.*

Результаты исследований. *При исследовании изменений функционального состояния подкрыльцового, лучевого, локтевого и срединного нервов при стенозирующих процессах отмечено однонаправленное отклонение всего комплекса ЭНМГ-показателей конечности с болевым синдромом и контрлатеральной конечности. Регистрируется снижение амплитуды максимальных М-ответов ввиду поражения периферического мотонейрона и дегенерации аксона. Избирательное поражение медленнопроводящих переднероговых мотонейронов не вызывает снижение скорости проведения импульса за счёт демиелинизации. Двусторонние изменения поздних электронейромиографических феноменов (F-волна), возможно, вызваны общей реакцией периферической и центральной нервной системы.*

Заключение. *У пациентов со стенозирующим процессом шейного отдела позвоночника с выраженными клиническими проявлениями показатели ЭНМГ могут быть использованы как для определения показаний к хирургическому лечению, так и для оценки динамики изменений в послеоперационном периоде.*

Ключевые слова: *стеноз позвоночного канала, электронейромиография*

Для цитирования: Ипполитова Е.Г., Дамдинов Б.Б., Кошкарева З.В., Верхозина Т.К. Электронейромиографические показатели у больных со стенозирующим процессом позвоночного канала на шейном уровне. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(5): 68-72. doi: 10.29413/ABS.2020-5.5.9

Electroneuromyographic Parameters in Patients with Stenosing Process of the Cervical Spinal Canal

Ippolitova E.G. [1], Damdinov B.B. [1], Koshkareva Z.V. [1], Verhozina T.K. [1, 2]

[1] Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology (Bortsov Revolyutsii str. 1, Irkutsk 664003, Russian Federation);
[2] Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education of the Ministry of Health of Russia (Yubileyny 100, Irkutsk 664049, Russian Federation)

Corresponding author: Bair B. Damdinov, e-mail: iscst@mail.ru

Abstract

One of the main causes of pain in the cervical spine, which causes the development of neurological deficit, is the stenosing process of the spinal canal with compression of the neurovascular structures. To determine the tactics of treatment, to predict the consequences of the disease, timely diagnosis of the functional state of neural structures is of great importance.

Materials and methods. *An informative method for diagnosing stenosing processes of the cervical spine, along with radiography and MRI, is electroneuromyography (ENMG). The analysis was based on 35 patients with a stenosing process of the spinal canal at the cervical level (17 men, 18 women), the average age of patients was 47.7 ± 9.9 years.*

Results. *In the study of changes in the functional state of the axillary, radial, ulnar and median nerves, with stenosing processes, a unidirectional deviation of the entire ENMG complex of indicators of the limb with pain syndrome and contralateral limb was noted. A decrease in the amplitude of the maximum M-responses is recorded due to damage to the peripheral motor neuron and axon degeneration. Selective damage to the slow-conducting anterior motoneurons does not cause a decrease in the speed of impulse conduction due to demyelination. Bilateral changes in late electroneuromyographic phenomena (F-wave) are possibly caused by a general reaction of the peripheral and central nervous systems.*

Conclusion. *In patients with a stenosing process of the cervical spine with severe clinical manifestations, ENMG values can be used both to determine indications for surgical treatment and to assess the dynamics of changes in the postoperative period.*

Key words: *spinal stenosis, electroneuromyography*

For citation: Ippolitova E.G., Damdinov B.B., Koshkareva Z.V., Verhozina T.K. Electroneuromyographic Parameters in Patients with Stenosing Process of the Cervical Spinal Canal. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(5): 68-72. doi: 10.29413/ABS.2020-5.5.9

ВВЕДЕНИЕ

Болевой синдром в шейном отделе позвоночника возникает у 60–75 % взрослого населения. Происхождение боли, её локализация и характер иррадиации, являются определяющим фактором выбора тактики лечения пациентов. Основной причиной развития неврологического дефицита и болевого синдрома является стенозирующий процесс позвоночного канала с компрессией сосудисто-невральных структур [1, 2]. На сегодня нерешённой проблемой является «синдром неудачно оперированного позвоночника». По данным А.С. Никитина, разные авторы в катамнезе указывают на развитие данного синдрома в 7–73 % случаев, из которых у 20 % пациентов требуются повторное хирургическое вмешательство [2]. Большое значение в данной ситуации приобретает своевременная диагностика функционального состояния невральных структур для предупреждения развития патологического состояния, определения тактики лечения с прогнозированием течения заболевания и его последствий [3, 4]. Достаточно информативным методом для диагностики стенозирующих процессов шейного отдела позвоночника, наряду с рентгенографией и МРТ, является электронейромиография (ЭНМГ) верхних конечностей с определением наиболее диагностически значимых показателей – амплитуды вызванных потенциалов, скорости проведения импульса и F-волны [5, 6], позволяющих судить о состоянии проводимости всей сегментарной дуги. В доступной нам литературе мы не встретили работ по изучению параметров ЭНМГ у пациентов со стенозом позвоночного канала на шейном уровне в динамике консервативного или хирургического лечения, которые позволили бы прогнозировать их результаты.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Целью настоящей работы явилось изучение электронейромиографических параметров при стимуляции нервных волокон верхних конечностей у больных со стенозирующим процессом позвоночного канала на шейном уровне.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В основу анализа взяты 35 пациентов со стенозирующим процессом позвоночного канала на шейном уровне, из них мужчин – 17, женщин – 18. Средний возраст пациентов составил 47,7 ± 9,9 года. У всех пациентов был остеохондроз II–III периода. По давности заболевания больные распределены следующим образом: до 3 мес. – 2 чел., от 3 до 6 мес. – 2 чел., 6–12 мес. – 5 чел., 1–3 года – 7 чел., более 3 лет – 19 чел. Стеноз позвоночного канала диагностирован с помощью МРТ-исследований. С моносегментарным стенозом было 27 пациентов, с двухсегментарным стенозом – 8. По локализации моносегментарного стенозирующего процесса заболевшие распределены на уровнях: C_{III}–C_{IV} – 3 чел., C_{IV}–C_{V} – 0 чел., C_{V}–C_{VI} – 10 чел., C_{VI}–C_{VII} – 14 чел. Ведущими причинами формирования стеноза позвоночного канала были: костно-хрящевой экзостоз – у 29 больных (83 %), грыжа межпозвонкового диска – у 3 пациентов (8,5 %), сочетание костно-хрящевого экзостоза с грыжей межпозвонкового диска – у 3 пациентов (8,5%).

При анализе полученных клинико-неврологических данных миелопатия выявлена у 4 пациентов, корешковый синдром диагностирован в 31 случае. Изолированные чувствительные нарушения по типу гипестезии отмечались у 16 больных, двигательный дефицит диагностирован у 15 человек.

Степень тяжести клинико-неврологических расстройств оценивалась по шкалам ВАШ, NDI (n = 35). Интенсивность болевого синдрома по ВАШ в шейном отделе позвоночника: медиана – 76,5 (53; 88,5). Интенсивность болевого синдрома ВАШ с иррадиацией в плечевой пояс и верхнюю конечность: медиана – 87,5 (79; 98,75). По шкале NDI – 32 (27,5; 49,25). Все пациенты получали консервативное лечение, включающее наряду с медикаментозным физиолечение, иглорефлексотерапию и массаж, которое давало кратковременный эффект. В последующем, всем больным было выполнено декомпрессивно-стабилизирующее хирургическое вмешательство с использованием переднего доступа и межтелового спондилодеза. По поводу двухсегментарного стеноза хирургическое вмешательство выполнялось на уровнях C_{IV}–C_{V}–C_{VI} (1 пациент) и C_{V}–C_{VI}–C_{VII} (6 пациентов). Один пациент оперирован повторно в связи с развитием синдрома поражения смежного сегмента (вышележащий сегмент) спустя 3 года после предшествовавшего хирургического лечения.

Для определения степени функциональных нарушений нервов плечевого сплетения при стенозирующих процессах позвоночного канала на шейном уровне (сегменты C_{IV}–C_{V}, C_{V}–C_{VI}) использовались стандартные ЭНМГ-методики с определением скорости проведения импульса, амплитуды вызванных потенциалов. Исследовались параметры М-ответа при стимуляции подкрыльцового (*n. axillaris*), лучевого (*n. radialis*), срединного (*n. medianus*) и локтевого (*n. ulnaris*) нервов с определением позднего нейрографического ответа (F-волны) – двигательного ответа мышцы на возвратный разряд мотонейронов. Исследование проводилось с помощью нейромиоанализатора «Нейромиан» (Медиком-МТД, г. Таганрог).

Статистическая обработка результатов исследований проведена методом Стьюдента с определением t-критерия для независимых выборок.

Исследование выполнено в соответствии с «Этическими принципами проведения научных медицинский исследований с участием человека» с поправками 2000 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утверждёнными Приказом № 266 Минздрава РФ от 19.06.2003 г. Исследование одобрено комитетом по биомедицинской этике ИНЦХТ.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

По данным ЭНМГ-исследований оценивалось состояние периферических нервов верхних конечностей у пациентов со стенозирующим процессом позвоночного канала на шейном уровне. Анализировались пороговые значения прямого мышечного ответа (М-ответа), амплитуда и латентность (время прохождения импульса по терминалям аксонов) при стимуляции *n. axillaris*, *n. radialis*, *n. medianus* и *n. ulnaris*, параметры F-волны.

Наряду с исследованием показателей прямого мышечного ответа одним из важных нейрофизиологических критериев оценки радикулопатии является анализ параметров F-волны [4]. Так, амплитуда F-волны показывает способность мотонейронов к производству возвратного ответа и может являться косвенным

показателем поражения как аксонов, так и проводящих путей при сохранности мотонейронального пула в целом. Амплитуду F-волны возможно использовать для оценки антидромной возбудимости двигательного спинального центра [7]. Измерение скорости проведения возбуждения в проксимальном отделе имеет большое значение при высоких уровнях поражения двигательных корешков шейного отдела позвоночника. Максимальная латентность F-волны характеризует наиболее низкопроводящие волокна, принимающие участие в проведении импульса. Показатель максимальной латентности F-волны и соответствующий ему показатель минимальной скорости проведения импульса можно использовать для определения границы между нормой и патологией, так как они достаточно стабильны в норме и имеют высокий уровень чувствительности при выявлении начальных патологических проявлений. В целом описываемые изменения F-волн регистрируются раньше изменений параметров М-ответа и дистальной скорости распространения возбуждения, поэтому и позволяют выявить патологические изменения на ранних сроках заболевания [8].

При стимуляции *n. medianus*, формирующегося из латерального и медиального пучков плечевого сплетения, порог вызывания прямого мышечного ответа повышен для конечности с болевым синдромом, статистически значимо снижена амплитуда М-ответа и скорость проведения импульса по двигательным волокнам (табл. 1). Наличие отклонений параметров ЭНМГ от нормы для интактной конечности можно объяснить тем, что ноцицептивная импульсация из асимметрично расположенного очага оказывает разное влияние на мышцы конечности с болевым синдромом и интактной конечности, но в основном это влияние носит тормозную направленность. По этой причине и термин «интактная конечность» носит условный характер. Патологический очаг, коим является сочетание костно-хрящевого экзостоза и грыжи межпозвонкового диска, тормозит активность периферического и центрального звена двигательного аппарата не только на стороне поражения, но и на противоположной стороне. Охранное торможение может реализоваться через тонкие афферентные волокна, по которым в спинной мозг поступает ноцицептивная импульсация. В спинном мозге эта информация по интраспинальным путям передаётся в симметричный двигательный центр, также оказывая на него тормозное воздействие

При стимуляции *n. axillaris*, *n. radialis* и *n. ulnaris* конечности с болевым синдромом и интактной конечности параметры прямого мышечного ответа имеют отличия, которые не являются статистически значимыми. Скорость проведения импульса по моторным волокнам лучевого, локтевого и подкрыльцового нервов сохраняется в пределах нормальных значений, поскольку у пациентов со стенозом позвоночного канала на шейном уровне с корешковым синдромом повреждения заднего корешка не наблюдается.

При анализе F-волн (табл. 2) наблюдается снижение их амплитуды и появление частых повторных разрядов, а также большое количество блоков F-волн. При исследовании латентного периода возникновения F-волн, как минимального, так и максимального, статистически значимой разницы показателей для конечности с болевым синдромом и интактной конечности не выявлено. Отмечено снижение минимальной и средней скоростей проведения возбуждения, что выразилось в нарастании дисперсии минимальной и максимальной латентностей с обеих сторон и свидетельствовало о несостоятельности проводящих путей. В исследуемой группе пациентов частота блоков F-волны составила от 29 до 42 %, что может указывать как на поражение мотонейронов двигательных корешков, так и на повреждение аксонов нервных стволов.

Таблица 1

ЭНМГ-показатели у больных со стенозирующим процессом позвоночного канала на шейном уровне.

Table 1

ENMG indicators in patients with cervical spinal canal stenosis

Нерв	Порог М-ответа (мВ)		Норма	Амплитуда М-ответа (мкВ)		Норма	Скорость проведения импульса (м/с)		Норма
	с болевым синдромом	без болевого синдрома		с болевым синдромом	без болевого синдрома		с болевым синдромом	без болевого синдрома	
n. axillaris	19,1 ± 9,8	16,3 ± 9,8	12,0 ± 2,0	0,19 ± 0,07	0,41 ± 0,4	1,2 ± 1,1	51,9 ± 9,7	50,5 ± 1,7	< 50
n. radialis	20,9 ± 10,6	21,2 ± 13,1	12,0 ± 4,0	0,9 ± 1,3	0,47 ± 0,57	1,2 ± 1,1	55,3 ± 6,7	57,6 ± 8,1	< 50
n. medianus	17,3 ± 11,5	13,5 ± 9,1	10,0 ± 2,2	0,9 ± 0,95*	1,8 ± 2,6	2,4 ± 1,1	46,4 ± 6,8*	50,7 ± 6,2	< 50
n. ulnaris	9,2 ± 3,6	10,6 ± 5,5	6,0 ± 0,6	3,1 ± 2,2	2,5 ± 2,2	2,4 ± 1,2	54,1 ± 7,6	54,2 ± 6,3	< 50

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

Таблица 2

Характеристика F-волн у больных со стенозирующим процессом позвоночного канала на шейном уровне

Table 2

Characteristics of F-waves in patients with cervical spinal canal stenosis

Латентность минимальная (мс)		Латентность максимальная (мс)		Блоки F-волн (%)	
конечность с болевым синдромом	конечность без болевого синдрома	конечность с болевым синдромом	конечность без болевого синдрома	конечность с болевым синдромом	конечность без болевого синдрома
37,5 ± 8,5	32,0 ± 8,1	70,3 ± 7,7	67,2 ± 12,2	29 ± 19,2	42,3 ± 11,6

Одной из особенностей при исследовании F-волн у пациентов со стенозирующим процессом позвоночного канала на шейном уровне явилось наличие достаточно большого количества повторных волн не только на стороне с болевым синдромом, но и на интактной конечности. В нормальных условиях функционирования вероятность ответа на возбуждение одного и того же мотонейрона крайне мала. При сокращении числа мотонейронов и преобразовании их возбудимости, когда одни мотонейроны реагируют только на достаточно сильные раздражители, а другие, наоборот, становятся гипервозбудимыми, появляются многократные, повторные F-волны с практически одинаковой формой и амплитудой и изменчивой латентностью. Кроме того, болевая импульсация из очага поражения также может явиться причиной появления повторных волн.

По данным литературы [5, 9], для корешкового поражения характерна диссоциация между нормальными показателями ЭНМГ для исследуемых нервов верхних конечностей и латерализованой патологией F-волны. В проведённых нами исследованиях изменений функционального состояния подкрыльцового, лучевого, локтевого и срединного нервов, вызванных патологией сегментарного аппарата спинного мозга, отмечено однонаправленное отклонение всего комплекса ЭНМГ-показателей конечности с болевым синдромом и контрлатеральной конечности. Так, у исследуемых со стенозирующим процессом позвоночного канала на шейном уровне регистрируется снижение амплитуды максимальных М-ответов ввиду поражения периферического мотонейрона и дегенерации аксона. Отсутствие снижения скорости проведения импульса за счёт демиелинизации, которое можно ожидать при дегенеративных аксональных процессах, возможно связано с избирательным поражением медленнопроводящих переднероговых мотонейронов, когда наиболее крупные быстропроводящие остаются нетронутыми. Двусторонние изменения поздних электронейромиографических феноменов (F-волна), возможно, вызваны общей реакцией периферической и центральной нервной системы.

Таким образом, наиболее диагностически значимыми ЭНМГ-параметрами у пациентов со стенозирующим процессом позвоночного канала на шейном уровне явились амплитуда М-ответа и скорость проведения возбуждения по двигательным и сенсорным волокнам, а также амплитуда F-волны, её минимальная и максимальная скорость с определением дисперсии. Все эти показатели позволяют выявлять неврологическую патологию на ранних стадиях её развития, когда клинические проявления радикулопатии не диагностируются неврологами из-за отсутствия ярко выраженной клинической симптоматики. У пациентов с остеохондрозом II–III периода и стенозирующим процессом шейного отдела позвоночника с давностью заболевания от года и свыше 3 лет с выраженными клиническими проявлениями вышеуказанные показатели могут быть использованы как для определения показаний к хирургическому лечению, так и для оценки динамики изменений в послеоперационном периоде.

ЛИТЕРАТУРА

1. Melancia JL, Francisco AF, Antunes JL. Spinal stenosis. *Handb Clin Neurol.* 2014; 119: 541-549. doi: 10.1016/B978-0-7020-4086-3.00035-7

2. Дамдинов Б.Б., Сороковиков В.А., Ларионов С.Н., Кошкарева З.В., Скляренко О.В., Животенко А.П., Кириенко А.Н. Особенности изменения сагиттального баланса шейного отдела позвоночника при шейно-плечевом синдроме. *Хирургия позвоночника.* 2019; 16(2): 42-48. https://doi.org/10.14531/ss2019.2.42-48

3. Cheng I, Ho S, Kennedy DJ. Electrodiagnostic testing before surgery for spinal stenosis. *PMR.* 2014; 6(10): 945-950. doi: 10.1016/j.pmrj.2014.09.010

4. Ипполитова Е.Г., Верхозина Т.К., Кошкарева З.В., Скляренко О.В. Маркерные показатели электронейромиографии в диагностике остеохондроза позвоночника. *Сибирский медицинский журнал (Иркутск).* 2018; 1: 13-17.

5. Иванова Т.Н., Кулакова Н.Г. Диагностическое значение анализа параметров F-волны при воспалительных заболеваниях позвоночника. *Хирургия позвоночника.* 2010; 4: 86-89.

6. Zheng C, Zhu Y, Yang S, Lu F, Jin X, Weber R, Jiang J. A study of dynamic F-waves in juvenile spinal muscular atrophy of the distal upper extremity. *J Neurol Sci.* 2016; 367: 298-304. doi: 10.1016/j.jns.2016.06.032

7. Zheng C, Lyu F, Ma X, Xia X, Jin X, Yin J, Jiang J, Zhu Y. Cervical flexion F-waves in the patients with Hirayama diseases. *Zhonghua Wai Ke Za Zhi.* 2015; 53(2): 95-100.

8. Abraham A, Gotkine M, Drory VE, Blumen SC. Effect of neck flexion on somatosensory and motor evoked potentials in Hirayama disease. *Neurol Sci.* 2013; 334(1-2): 102-105. doi: 10.1016/j.jns.2013.07.2519

9. Hug A, Hähnel S, Weidner N. Diagnostics and conservative treatment of cervical and lumbar spinal stenosis. *Nervenarzt.* 2018; 89(6): 620-631. doi: 10.1007/s00115-018-0516-2

REFERENCES

1. Melancia JL, Francisco AF, Antunes JL. Spinal stenosis. *Handb Clin Neurol.* 2014; 119: 541-549. doi: 10.1016/B978-0-7020-4086-3.00035-7

2. Damdinov BB, Sorokovikov VA, Larionov SN, Koskareva ZV, Sklyarenko OV, Zhivotenko AP, Kirienko AN. Peculiarities of changing the sagittal balance of the cervical spine in cervical-shoulder syndrome. *Spine Surgery.* 2019; 16(2): 42-48. https://doi.org/10.14531/ss2019.2.42-48. (In Russ.)

3. Cheng I, Ho S, Kennedy DJ. Electrodiagnostic testing before surgery for spinal stenosis. *PMR*. 2014; 6(10): 945-950. doi: 10.1016/j.pmrj.2014.09.010

4. Ippolitova EG, Verkhozina TK, Koshkareva Z.V., Sklyarenko O.V. Marker indicators of electroneuromyography in the diagnosis of osteochondrosis of the spine. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal (Irkutsk).* 2018; 1: 13-17. (In Russ.)

5. Ivanova TN, Kulakova NG. Diagnostic value of analysis of F-wave parameters in inflammatory diseases of the spine. *Spine Surgery.* 2010; 4: 86-89. (In Russ.)

6. Zheng C, Zhu Y, Yang S, Lu F, Jin X, Weber R, Jiang J. A study of dynamic F-waves in juvenile spinal muscular atrophy of the distal upper extremity. *J Neurol Sci.* 2016; 367: 298-304. doi: 10.1016/j.jns.2016.06.032

7. Zheng C, Lyu F, Ma X, Xia X, Jin X, Yin J, Jiang J, Zhu Y. Cervical flexion F-waves in the patients with Hirayama diseases. *Zhonghua Wai Ke Za Zhi.* 2015; 53(2): 95-100.

8. Abraham A, Gotkine M, Drory VE, Blumen SC. Effect of neck flexion on somatosensory and motor evoked potentials in Hirayama disease. *Neurol Sci.* 2013; 334(1-2): 102-105. doi: 10.1016/j.jns.2013.07.2519

9. Hug A, Hähnel S, Weidner N. Diagnostics and conservative treatment of cervical and lumbar spinal stenosis. *Nervenarzt.* 2018; 89(6): 620-631. doi: 10.1007/s00115-018-0516-2

Сведения об авторах

Ипполитова Елена Геннадьевна – научный сотрудник научно-клинического отдела нейрохирургии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: iscst@mail.ru, http://orcid.org/0000-0001-7292-2061

Дамдинов Баир Батыевич – младший научный сотрудник научно-клинического отдела нейрохирургии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: iscst@mail.ru) http://orcid.org/0000-0001-9189-3323

Верхозина Татьяна Константиновна – кандидат медицинских наук, заведующая отделением функциональных методов диагностики и лечения, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии»; доцент кафедры рефлексотерапии и косметологии, Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, http://orcid.org/0000-0003-3136-5005

Кошкарёва Зинаида Васильевна – кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник научно-клинического отдела нейрохирургии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», http://orcid.org/0000-0002-4387-5048

Information about the authors

Elena G. Ippolitova – Research Officer at the Clinical Research Department of Neurosurgery, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: iscst@mail.ru, http://orcid.org/0000-0001-7292-2061

Bair B. Damdinov – Junior Research Officer at the Clinical Research Department of Neurosurgery, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: iscst@mail.ru

Tatiana K. Verkhozina – Cand. Sc. (Med.), Head of the Department of Functional Diagnostics and Treatment, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology; Associate Professor at the Department of Reflexotherapy and Cosmetology, Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, http://orcid.org/0000-0003-3136-5005

Zinaida V. Koshkareva – Cand. Sc. (Med.), Leading Research Officer at the Scientific-Clinical Department of Neurosurgery, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, http://orcid.org/0000-0002-4387-5048

Статья получена: 02.09.2020. Статья принята: 16.09.2020. Статья опубликована: 26.10.2020.
Received: 02.09.2020. Accepted: 16.09.2020. Published: 26.10.2020.

ОФТАЛЬМОЛОГИЯ
OPHTALMOLOGY

DOI: 10.29413/ABS.2020-5.5.10

Кросслинкинг тонких роговиц: современное видение проблемы. Обзор литературы

Бикбов М.М., Русакова Ю.А., Усубов Э.Л., Рахимова Э.М.

ГБУ «Уфимский научно-исследовательский институт глазных болезней Академии наук Республики Башкортостан» (450008, г. Уфа, ул. Пушкина, 90, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Русакова Юлия Александровна, e-mail: lioness-16@mail.ru

Резюме

Ультрафиолетовый кросслинкинг – патогенетически ориентированный способ лечения первичных и вторичных эктазий роговицы, вызывающих нерегулярный астигматизм и нарушение зрения. При развитых стадиях заболевания исходная толщина роговицы может оказаться ниже 400 мкм, что является противопоказанием к применению стандартного «Дрезденского» протокола процедуры. В таких случаях возможно применение модифицированных протоколов УФ-кросслинкинга. В данной статье представлены современные известные методы кросслинкинга, применяемые при прогрессирующем кератоконусе в развитой и далекозашедшей стадии при тонкой роговице. Представленные методы объединены с учётом принципиальных подходов – применением вспомогательных средств и без них. В основе обоих подходов лежит временное искусственное увеличение толщины роговицы на время процедуры с целью снижения вероятности повреждения глубоких слоёв роговицы. Эволюция протоколов кросслинкинга при тонких роговицах начиналась с применения гипоосмотических растворов, увеличивающих толщину роговицы до безопасных величин. Однако подобный подход оказался нестабильным и изменение показателей пахиметрии в ходе процедуры создавало трудности в её стандартизации. Применение средств, увеличивающих толщину роговицы за счёт создания дополнительного слоя в виде контактной или биологической линзы выглядело более обнадёживающим. В то же время низкая проницаемость этих дополнительных слоёв для кислорода, столь необходимого для процесса сшивания макромолекул при УФ-кросслинкинге, ограничивала общую эффективность процедуры. В результате прогрессивного развития технологий и совершенствования устройств, логическим продолжением тренда модификации протокола кросслинкинга стало внедрение индивидуального подхода кастомизации протокола. В описанных модифицированных протоколах с учётом различных принципов хирургического подхода при ультрафиолетовом облучении изложены результаты, оценена их эффективность и безопасность при применении у пациентов с тонкой роговицей.

Ключевые слова: *кросслинкинг, УФ-облучение, кератоконус, тонкая роговица*

Для цитирования: Бикбов М.М., Русакова Ю.А., Усубов Э.Л., Рахимова Э.М. Кросслинкинг тонких роговиц: современное видение проблемы. Обзор литературы. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(5): 73-80. doi: 10.29413/ABS.2020-5.5.10

Crosslinking of Thin Corneas: a Modern Vision of the Problem. Literature Review

Bikbov M.M., Rusakova Iu.A., Usubov E.L., Rakhimova E.M.

Ufa Eye Research Institute (Pushkina str. 90, Ufa 450008, Russian Federation)

Corresponding author: Iuliia A. Rusakova, e-mail: lioness-16@mail.ru

Abstract

Ultraviolet crosslinking is a pathogenetically oriented method of treating primary and secondary corneal ectasias that cause irregular astigmatism and visual impairment. Advanced stage of the disease, when the initial thickness of the cornea is below 400 mc, is a contraindication to the use of the standard «Dresden» protocol of the procedure. In such cases, it is possible to use modified UV crosslinking protocols. This article presents the modern crosslinking methods used for progressive keratoconus in advanced stages with a thin cornea. The presented methods are combined taking into account principled approaches – using additional tools and without them. Both approaches are based on a temporary artificial increase in the thickness of the cornea during the procedure in order to reduce the likelihood of damage to the deep layers of the cornea. The evolution of crosslinking protocols for thin corneas began with the use of hypoosmolar solutions that increase the thickness of the cornea to safe values. However, such an approach was not stable and the change in pachymetry parameters during the procedure created difficulties in its standardization. The use of different staff to increase the thickness of the cornea by providing an additional layer like a contact or biological lens seemed more encouraging. At the same time, the low permeability of these additional layers to oxygen, much needed for the UV crosslinking process of macromolecules, limited the overall effectiveness of the procedure. As a result of the progressive development of technologies and the improvement of devices, the logical continuation of the trend of modifying

the crosslinking protocol was the introduction of an individual approach to customization of the protocol. The described modified protocols, taking into account the different principles of the surgical approach in ultraviolet radiation, set forth the results, evaluate their effectiveness and safety when applied to patients with a thin cornea.

Key words: *crosslinking, UV irradiation, keratoconus, thin cornea*

For citation: Bikbov M.M., Rusakova Iu.A., Usubov E.L., Rakhimova E.M. Crosslinking of Thin Corneas: a Modern Vision of the Problem. Literature Review. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(5): 73-80. doi: 10.29413/ABS.2020-5.5.10

Хроническое дистрофическое заболевание роговицы, которое характеризуется прогрессирующим её истончением и эктазией, вызывающими нерегулярный астигматизм и нарушение зрения, называют кератоконусом. В основе всех кератоэктазий, и в частности кератоконуса, лежит прогрессирующая деградация коллагеновой структуры роговицы и, соответственно, снижение её прочностно-механических свойств, приводящие к помутнению и значительному снижению остроты зрения. Заболевание чаще наблюдается у лиц молодого трудоспособного возраста. Качественные и количественные изменения состава коллагена органа зрения, отрицательно сказываются на его структуре [1, 2, 3].

С целью укрепления роговой оболочки глаза при хронических дегенеративных процессах успешно применяется ультрафиолетовый (УФ) кросслинкинг роговицы (UV Corneal Crosslinking, КР), представленный G. Wollensak et al. в 2003 г. и многие годы являющийся минимально инвазивной, патогенетически ориентированной процедурой для остановки прогрессирования кератоконуса [4].

Взаимодействие между рибофлавином и УФ-А излучением вызывает реакцию фотоокисления, в результате чего образуются активные формы кислорода и новые перекрёстные связи между фибриллами стромального коллагена, кератоцитами и белками межклеточной адгезии, которые приводят к стабилизации биомеханических свойств роговицы. Рибофлавин повышает чувствительность тканей роговицы к действию УФ, индуцирует химические взаимодействия и поглощает энергию излучения, оказывая протективное действие на внутриглазные структуры [1, 5].

Стандартная процедура КР – СКР, также известная как «Дрезденский протокол», проводится на роговицах с остаточной толщиной не менее 400 мкм: после деэпителизации следует насыщение роговицы 0,1% водным раствором рибофлавина в течение 30 мин. Затем роговица подвергается воздействию УФ-А излучения (с длиной волны 370 нм) при мощности 3 мВт/см^2 в течение 30 минут для достижения на поверхности суммарной энергии 5,4 Дж/см^2 [6]. Применяемая для КР указанная мощность УФ-излучения (3 мВт/см^2) ниже известного порога повреждающего действия для эндотелия роговицы. При этом максимальное значение фотохимического ущерба для эндотелиальных клеток вследствие УФ-активации свободно-радикальных процессов составляет 0,35 мВт/см^2. В насыщенной рибофлавином роговице толщиной 400 мкм УФ-излучение, достигающее уровня эндотелия, имеет мощность 0,18 мВт/см^2, что в 2 раза ниже критического значения [7].

В исследованиях *in vitro* G. Wollensak et al. определили цитотоксический эффект рибофлавин-УФ сшивания для кератоцитов – 0,5 мВт/см^2. В клинических условиях при использовании СКР такое воздействие может наблюдаться на глубине роговицы до 300 мкм [8]. Продолжительные наблюдения пациентов с прогрессирующим кератоконусом после СКР неизменно демонстрируют стабильную плотность эндотелиальных клеток.

В клинической практике большинство роговиц, нуждающихся в КР, могут не соответствовать предоперационному критерию включения. Согласно исследованию, около 25 % пациентов с кератоконусом имеют толщину роговицы < 400 мкм [9]. Толщина роговицы значительно уменьшается во время операции КР из-за возможного высыхания и обезвоживания роговицы в течение длительного периода воздействия УФ [10].

В данном обзоре речь пойдёт о различных модификациях «Дрезденского протокола», позволяющих применять кросслинкинг при тонких роговицах, избегая при этом возможных осложнений.

КРОССЛИНКИНГ БЕЗ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ СРЕДСТВ

С полным сохранением эпителия – трансэпителиальный кросслинкинг

Стандартный КР с деэпителизацией может вызвать необратимое повреждение эндотелия в тонкой роговице [11]. Трансэпителиальный кросслинкинг – ТЭК, позволяет лечить этим способом тонкие роговицы, при этом цитотоксический эффект ограничивается на глубине стромы в 200 мкм, что является преимуществом по сравнению со стандартным методом и не вызывает гибели эндотелиальных клеток. Однако этот же фактор может снижать эффективность процедуры в сравнении со стандартным протоколом. Биомеханическая жёсткость увеличивается примерно на 64 % после ТЭК по сравнению с 320 % после СКР [12, 13].

Выполнение КР с неповреждённым эпителием снижает риск развития инфекционного кератита, является комфортным для пациента, уменьшает вероятность развития хейза и интраоперационное истончение роговицы, вероятно, из-за меньшего повреждения ткани и уменьшения реакции заживления раны [14, 15]. Сохранный эпителий, однако, представляет и ряд проблем. С одной стороны, рибофлавин, являясь высокомолекулярной гидрофильной молекулой, не проникает в неповреждённый эпителий. С целью повышения проницаемости рибофлавина через эпителий роговицы при выполнении процедуры применялись такие вещества, как этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТУК), бензалкония хлорид (БАХ), гентамицин и трометамол [16, 17, 18]. С другой стороны, прекорнеальная плёнка рибофлавина и пропитанный рибофлавином эпителий могут поглощать падающий свет УФ-А, вызывая ослабление эффекта КР [19]. Вдобавок интактный эпителий может уменьшить диффузию кислорода в строму, а неадекватная стромальная концентрация рибофлавина может ещё больше ослабить эффект КР [20].

A. Leccisotti et al. при проведении КР использовали рибофлавин с декстраном, ЭДТУК, БАХ и трометамол и отмечали улучшение зрительных и топографических показателей, но с меньшим эффектом, чем при СКР [15].

A. Caporosi et al. использовали рибофлавин с декстраном, а ЭДТУК и трометамол применял в качестве

усилителей проницаемости эпителия. Первоначальное улучшение некорригированной остроты зрения (НКОЗ) и корригированной остроты зрения (КОЗ) в первые 3–6 месяцев после КР постепенно сменилось возвращением к предоперационному уровню. Эффект после ТЭК сохранялся до 12 месяцев, но последующее ухудшение данных максимальной кератометрии (Kmax) наблюдалось через 2 года [21]. Другие авторы использовали рибофлавин с 0,01% БАХ в качестве усилителя проницаемости в 26 глазах и не отмечали изменений в НКОЗ, КОЗ и пахиметрии роговицы в течении года наблюдения и наблюдали прогрессирование болезни почти в 50 % случаев [22].

Ряд исследователей применяют метод ТЭК с применением ионофореза для улучшения проникновения молекул рибофлавина в роговицу (И-ТЭК) [23]. Ионофорез – это неинвазивный метод, при котором электрический ток малой мощности используется для облегчения проникновения ионизированного вещества в ткань. Рибофлавин, будучи отрицательно заряженной молекулой с молекулярной массой 376,4 г/моль, является идеальной молекулой для ионофореза. При И-ТЭК насыщение роговицы раствором рибофлавина выполняется с помощью ионофореза в течение 10 минут, после чего проводят стандартное поверхностное УФ-А облучение (370 нм, 3 мВт/см^2) в течение 30 минут.

Согласно результатам исследования М.М. Бикбова и Г.М. Бикбовой, кросслинкинг с ионофорезом приводит к снижению среднего уровня кератометрии, астигматизма и улучшению НКОЗ через 1 год после процедуры. Дооперационная и послеоперационная плотность эндотелиальных клеток оставалась неизменной [23].

По данным M. Cassagne, насыщение роговицы рибофлавином при И-ТЭК показало более низкую концентрацию рибофлавина в строме роговицы (почти в 2 раза) [24].

L. Jouve отмечал, что демаркационная линия верифицируется в 35 % случаев после И-ТЭК, по сравнению с 95 % случаев после СКР. Плотность эндотелиальных клеток, толщина роговицы в центре и Kmax оставались стабильными в течение всего периода исследования. Метод показал свою безопасность, но меньшую эффективность в сравнении со стандартным протоколом [25].

Другие авторы сообщили, что И-ТЭК оказался таким же эффективным, как и стандартная методика, но на ранней стадии кератоконуса [26].

Исследования с применением трансэпителиальной техники и применения альтернативных методов насыщения роговицы продолжаются. На сегодняшний день различными исследователями, в частности C. Mazotta, M. Balidis, F. Malecaze, ведутся работы по повышению эффективности ТЭК путём повышения концентрации рибофлавина, кислорода и энергии облучения – Boost (усиленный, форсированный) кросслинкинг. Эти работы носят экспериментальный характер и ещё не внедрены в широкую клиническую практику.

Частичная деэпителизация

В 2009 г. G. Kymionis et al. описали методику кросслинкинга с частичной деэпителизацией, когда над вершиной конуса в самом тонком месте роговицы эпителий сохраняется по типу «островка». Это позволяет избежать послеоперационных осложнений, связанных с недостаточной толщиной роговицы, а процедура деэпителизации выполняется согласно данным кератотопографии. Парацентральная часть роговицы с удалённым эпителием способствует лучшему проникновению рибофлавина, что является преимуществом в сравнении с трансэпителиальным кросслинкингом. Авторы сообщили о стабилизации процесса в сроки до 9 месяцев без интра- и послеоперационных осложнений [27].

C. Mazzotta и V. Ramovecchi сообщали, что эффект КР виден на глубине 150 мкм в области сохранного эпителия, тогда как в области удалённого эпителия – на глубине 250 мкм, что указывает на более низкий эффект КР. В течение года наблюдения прогрессирования кератоконуса не наблюдалось, однако имела место потеря эндотелиальных клеток после этой процедуры [28, 29]. По данным ОСТ, демаркационная линия определяется только в деэпителизированной части роговицы и отсутствует в зоне «островка», поэтому для оценки эффективности метода нужны дальнейшие исследования [30].

Также была предложена методика УФ-А КР с дозированной деэпителизацией роговицы, достигаемой с помощью специального инструмента, имеющего на своей поверхности шипы. При его многократном прикладывании к роговице происходит механическое нарушение целостности эпителия, что также способствует лучшему насыщению роговицы (Hafezi F., 2007, 2010; Pollhammer M., 2009).

В 2014 г. С.Б. Измайловой был разработан скарификатор, позволяющий проводить дозированную деэпителизацию, не повреждая Боуменову мембрану. Это позволяло проводить адекватную сатурацию роговицы для КР и снизить выраженность частоты послеоперационых явлений.

Все эти методы направлены на улучшение насыщаемости рибофлавином роговицы, и посредством этого – на улучшение биомеханической прочности роговицы после кросслинкинга, в сравнении с И-ТЭК.

КРОССЛИНКИНГ С ПРИМЕНЕНИЕМ ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ СРЕДСТВ

С применением мягкой контактной линзы (МКЛ-КР)

S. Jacob et al. впервые описали метод МКЛ-КР у пациентов (14 глаз) с толщиной роговицы 350–400 мкм после удаления эпителия. Мягкую контактную линзу (МКЛ), имеющую толщину приблизительно 0,9 мм, пропитывали 0,1% изоосмолярным рибофлавином в течение 30 минут, после чего укладывали на роговицу. Интраоперационно измеряли толщину роговицы вместе с МКЛ и при показателях пахиметрии > 400 микрон, облучение проводили согласно «Дрезденскому протоколу» [31]. Преимуществом метода является отсутствие необходимости индуцированного увеличения толщины роговицы до необходимых величин. Однако пропитанная рибофлавином контактная линза снижает доступность кислорода и поглощает ультрафиолетовое излучение, снижая его уровень поверхностного излучения на 40–50 % [32].

G. Wollensak в своём исследовании на свиных глазах отметил, что биомеханический эффект МКЛ-КР на роговицу свиньи примерно на треть меньше, чем после СКР, а эффективность может быть улучшена путём уменьшения или исключения рибофлавиновой плёнки на контактной линзе [33].

H. Zhang экспериментально доказал, что МКЛ-КР, как и СКР, вызывал значительное усиление биомеханики роговицы, но в меньшей степени и, в основном, в передних её слоях [34].

Malhotra C. et al. исследовали глубину залегания демаркационной линии и плотность эндотелиальных клеток после МКЛ-КР, применяя 0,1% раствор рибофлавина на основе декстрана или гидроксипропилметилцеллюлозы (ГПМЦ). Демаркационная линия при использовании рибофлавина на основе ГПМЦ оказалась глубже – 308 мкм, по сравнению с группой, где применяли рибофлавин с декстраном – 235 мкм. Плотность эндотелиальных клеток оставалась неизменной в обеих исследуемых группах [35].

По данным других авторов, ускоренный МКЛ-КР останавливал прогрессирование кератоконуса у 80 % пациентов, приводя к уплощению роговицы у 45 % и значительно улучшал показатели КОЗ и кератометрии без каких-либо признаков повреждения эндотелия роговицы [36].

Группа отечественных авторов проводили кросслинкинг у пациентов с толщиной роговицы от 380–440 мкм в акселерированном режиме (18 мВт/см^2) и с использованием МКЛ Конкор ЛБ55Т (Россия). Согласно их данным, глубина залегания демаркационной линии по ОКТ составила 250–270 мкм [37].

По нашему мнению, для объективной оценки данной методики необходимы многоцентровые исследования с применением различных видов МКЛ и большим количеством пациентов, а также более длительные сроки наблюдения.

С применением лентикулы

M. Sachdev et al. описали методику, при которой в качестве линзы, увеличивающей толщину роговицы, выступает лентикула, удалённая у пациентов, перёнесших лазерную коррекцию зрения по методике SMILE. Суть процедуры заключается в том, что после деэпителизации, лентикула размещается на собственной роговице пациента таким образом, чтобы закрыть зону наибольшего истончения. Затем 0,1% раствором рибофлавина одномоментно насыщаются и роговица, и лентикула. Интраоперационная ультразвуковая пахиметрия выполняется для подтверждения достаточной толщины роговицы. Дальнейшие шаги полностью соответствуют процедуре СКР. Автор сообщает, что данная методика безопасна, т. к. лентикула является биологически однородным материалом для роговицы пациента и её толщина теоретически может быть подобрана соответственно толщине собственной роговицы пациента. Однако этот метод может снижать доступность кислорода для кросслинкинга и подбор лентикулы представляет определённые сложности ввиду её ограниченного диаметра, неравномерной толщины от центра к периферии. Тем не менее, необходимы долгосрочные исследования, чтобы установить безопасность и эффективность этого метода [38, 39].

С применением биолинзы – БЛ-КР

Для восполнения недостающей толщины роговицы пациента в ряде случаев использовали остаточную строму донорской роговицы после проведения автоматизированной задней послойной кератопластики или трансплантации десцеметовой мембраны. Толщина биолинзы определялась как разница между фактической толщиной роговицы пациента, после 30 минут насыщения декстралинком (регистрационное удостоверение № ФСР2010/09071) и толщиной в 420 мкм, необходимой для безопасного проведения УФ-облучения, диаметр составлял 9,5 мм. Выделенный стромальный лоскут – биолинза укладывалась на поверхность роговицы пациента, после чего переходили к этапу УФ-облучения роговицы в акселерированном режиме (9 мВт/см^2). В ходе наблюдения отмечали характерные для методики УФ-кросслинкинга изменения морфофункциональных показателей. Способ ультрафиолетового кросслинкинга роговицы у пациентов с применением биолинзы при тонких роговицах осуществляется следующим образом. Сначала проводят оптикокогерентную томографию (ОКТ) для определения толщины эпителиального слоя и всей роговицы в самом тонком месте. Путём вычитания толщины эпителия от общей толщины роговицы определяют предварительные данные минимальной толщины роговицы. Толщина биолинзы выбирается так, чтобы она обеспечивала увеличение толщины роговицы до значения не менее 450 мкм. Противопоказанием к выполнению процедуры является наличие остаточной толщины роговицы менее 300 мкм [39].

С применением гипоосмолярного раствора

При воздействии гипоосмолярного раствора роговица набухает, увеличиваясь в толщине почти вдвое [40]. Этот эффект был использован F. Hafezi et al., чтобы вызывать транзиторный отёк роговицы с помощью гипоосмолярного рибофлавина без декстрана (310 мОсм/л), тем самым увеличивая её толщину [41]. После деэпителизации роговицы изотонический рибофлавин наносили на роговицу каждые 3 минуты в течение 30 минут. Затем проводили ультразвуковую пахиметрию в самой тонкой точке. Гипоосмолярный рибофлавин (без декстрана) закапывали каждые 20 секунд до тех пор, пока толщина роговицы не увеличилась как минимум до 400 мкм. Затем глаз облучали УФА-излучением при 3 мВт/см^2. Абсолютное увеличение толщины роговицы с использованием гипоосмолярного раствора рибофлавина в этом исследовании варьировало от 36 до 110 мкм. Авторы сообщили о стабилизации заболевания через 6 месяцев наблюдения и отсутствии изменений в плотности эндотелия.

Исследование других авторов показало, что течение заболевания оставалось стабильным в течение 1 года наблюдения после кросслинкинга. В своём исследовании они использовали только гипоосмолярный рибофлавин, использование которого не привело к образованию стойкого хейза по сравнению с использованием изоосмолярного рибофлавина [42, 43]. Несмотря на использование гипоосмолярного рибофлавина, толщина роговицы в самой тонкой точке была < 400 мкм из-за высыхания роговицы во время УФ-облучения [44].

В связи с этим M. Koç et al. рекомендовали облучение роговицы в акселерированном режиме (9 мВт/см^2 – 10 минут), т. к. этот режим, по их данным, показал лучшие анатомические изменения именно в тонких роговицах по сравнению с более толстыми [45].

A. Stojanovic et al. обнаружили, что эффект после кросслинкинга с использованием гипоосмотического рибофлавина ниже, чем при CXL в нормальных роговицах [46]. Это может быть связано с тем, что через гидратированную роговицу диффузия кислорода снижается [47].

«Увеличение толщины стромы роговицы после использования гипоосмолярного рибофлавина связано с гидрофильными свойствами стромальных протеогликанов, которые вызывают образование «озёр без коллагена» [25]. Это может эффективно разбавить количество коллагеновых фибрилл, доступных для КР.

F. Hafezi et al. сообщали о случае неудачного кросслинкинга роговицы толщиной 268 мкм. Несмотря на то, что с использование гипоосмолярного раствора рибофлавина позволило достичь толщины роговицы более 400 мкм и процедура была безопасной, прогресс заболевания наступил в течение 6 месяцев наблюдения с повышением преломляющей силы роговицы на 2,3 Дпрт. В связи с этим авторы рекомендовали проводить КР при минимальной предоперационной толщине стромы 330 мкм [48].

ИНДИВИДУАЛЬНЫЙ КРОССЛИНКИНГ РОГОВИЦЫ

Суть метода заключается в возможности применения более низкой мощности УФ-облучения при сохранении стандартного времени процедуры, и, наоборот, сохраняя мощность УФ-обучения, сокращать время. Этот подход имеет преимущество, т. к. диффузия кислорода в строму не затрудняется. Группой исследователей во главе с F. Hafezi был разработан экспериментально подтверждённый численный алгоритм, который учитывает наличие кислорода, рибофлавина и ультрафиолета в строме во время проведения КР [49]. Это позволяет прогнозировать эффект биомеханической жёсткости после КР, но также требует времени ультрафиолетового излучения для определённой глубины проникновения. У небольшого числа пациентов с кератоконусом с тонкими роговицами было проведено клиническое исследование индивидуального КР. Авторы стремились достичь глубины проникновения облучения в строму роговицы, не доходя до эндотелия около 70 мкм. Эндотелиальных осложнений не наблюдалось в течение 1 года наблюдения, однако наблюдалась более высокая частота прогрессии болезни (11 % против 7,6 %) по сравнению с СКР.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Существующие модификации стандартного «Дрезденского протокола», которые используются при допустимых пороговых значениях толщины роговицы показывают относительно высокую эффективность при прогрессирующем кератоконусе. Однако доля пациентов с развитой стадией и субпороговой толщиной роговицы (ниже 400 мкм), требующих патогенетически ориентированного метода лечения с целью стабилизации течения болезни, остаётся высокой. Предложенные усовершенствованные подходы, представленные в статье, показывают различную эффективность и в большинстве своём исследованы на небольшой когорте пациентов. Применяемые методы имеют преимущества и недостатки и не учитывают индивидуальную особенность течения и клинического проявления заболевания у пациентов. Вследствие этого они не могут выступать в качестве универсального или «золотого стандарта» при далеко зашедших стадиях болезни.

Так, КР с гипоосмолярным рибофлавином, трансэпителиальный кросслинкинг и И-ТЭК являются хорошими альтернативными методами только на ранних стадиях кератоконуса. Наряду с частичной деэпителизацией они имеют дополнительные преимущества за счёт снижения рисков послеоперационных осложнений инфекционного и ятрогенного характера, но более низкий рефракционный эффект. Кросслинкинг с применением МКЛ, лентикулы и биолинзы являются перспективными хирургическими методами, позволяющими значительно снизить негативное влияние УФ-облучения при низкой толщине роговицы, в то же время расширяющими показания к применению метода. Индивидуальный кросслинкинг роговицы позволяет адаптировать под пациента параметры ультрафиолетового излучения и применять метод при любой толщине роговицы. Данный подход лечения многообещающий для лечения развитых стадий кератоконуса и может претендовать на звание «универсального» протокола.

Большинство применяемых протоколов эффективно останавливают прогрессирование кератоконуса, не вызывая каких-либо побочных эффектов во время или после операции, но для доказательства безопасности и эффективности этих модифицированных протоколов требуются длительные и многоцентровые исследования.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бикбов М.М., Халимов А.Р., Усубов Э.Л. Ультрафиолетовый кросслинкинг роговицы. *Вестник Российской академии медицинских наук*. 2016; 71(3): 224-232. doi: 10.15690/vramn562

2. Бикбов М.М., Бикбова Г.М. *Эктазии роговицы.* М.: Офтальмология; 2011.

3. Бикбов М.М., Бикбова Г.М., Халимов А.Р., Усубов Э.Л., Казакбаева Г.М. *Эктазии роговицы. Избранные лекции*. М.: Апрель; 2018.

4. Wollensak G, Spoerl E, Seiler T. Riboflavin/ultraviolet-a-induced collagen crosslinking for the treatment of keratoconus. *Am J Ophthalmol*. 2003; 135: 620-627. doi: 10.1016/s0002-9394(02)02220-1

5. Deshmukh R, Hafezi F, Kymionis GD, Kling S, Shah R, Padmanabhan P, et al. Current concepts in crosslinking thin corneas. *Indian J Ophthalmol.* 2019; 67(1): 8-15. doi: 10.4103/ijo.IJO_1403_18

6. Wollensak G. Crosslinking treatment of progressive keratoconus: New hope. *Curr Opin Ophthalmol.* 2006; 17: 356-360. doi: 10.1097/01.icu.0000233954.86723.25

7. Wollensak G, Spoerl E, Wilsch M, Seiler T. Endothelial cell damage after riboflavin-ultraviolet-A treatment in the rabbit. *J Cataract Refract Surg.* 2003; 29(9): 1786-1790. doi: 10.1016/s0886-3350(03)00343-2

8. Wollensak G, Spoerl E, Reber F, Seiler T. Keratocyte cytotoxicity of riboflavin/UVA-treatment in vitro. *Eye (Lond).* 2004; 18(7): 718-722. doi: 10.1038/sj.eye.6700751

9. Han Y, Xu Y, Zhu W, Liu Y, Liu Z, Dou X, et al. Thinner corneas appear to have more striking effects of corneal collagen crosslinking in patients with progressive keratoconus. *J Ophthalmol.* 2017; 2017: 6490915. doi: 10.1155/2017/6490915

10. Vinciguerra P, Albè E, Mahmoud A, Trazza S, Hafezi F, Roberts C. Intra- and postoperative variation in ocular response analyzer parameters in keratoconic eyes after corneal cross-linking. *J Refract Surg.* 2010; 26(9): 669-676. doi: 10.3928/1081597X-20100331-01

11. Wollensak G, Spörl E, Reber F, Pillunat L, Funk R. Corneal endothelial cytotoxicity of riboflavin/UVA treatment in vitro. *Ophthalmic Res.* 2003; 35: 324-328. doi: 10.1159/000074071

12. Wollensak G, Iomdina E. Biomechanical and histological changes after corneal crosslinking with and without epithelial debridement. *J Cataract Refract Surg.* 2009; 35: 540-546. doi: 10.1016/j.jcrs.2008.11.036

13. Spadea L, Mencucci R. Transepithelial corneal collagen cross-linking in ultrathin keratoconic corneas. *Clin Ophthalmol Auckl NZ.* 2012; 6: 1785-1792. doi: 10.2147/OPTH.S37335

14. Filippello M, Stagni E, O'Brart D. Transepithelial corneal collagen crosslinking: Bilateral study. *J Cataract Refract Surg.* 2012; 38(2): 283-291. doi: 10.1016/j.jcrs.2011.08.030

15. Leccisotti A, Islam T. Transepithelial corneal collagen cross-linking in keratoconus. *J Refract Surg.* 2010; 26: 942-948. doi: 10.3928/1081597X-20100212-09

16. Baiocchi S, Mazzotta C, Cerretani D, Caporossi T, Caporossi A. Corneal crosslinking: Riboflavin concentration in corneal stroma exposed with and without epithelium. *J Cataract Refract Surg.* 2009; 35(5): 893-899. doi: 10.1016/j.jcrs.2009.01.009

17. Chang S, Chi R, Wu C, Su M. Benzalkonium chloride and gentamicin cause a leak in corneal epithelial cell membrane. *Exp Eye Res.* 2000; 71: 3-10. doi: 10.1006/exer.2000.0849

18. Majumdar S, Hippalgaonkar K, Repka M. Effect of chitosan, benzalkonium chloride and ethylenediaminetetraacetic acid on permeation of acyclovir across isolated rabbit cornea. *Int J Pharm.* 2008; 348(1-2): 175-178. doi: 10.1016/j.ijpharm.2007.08.017

19. Wollensak G, Aurich H, Wirbelauer C, Sel S. Significance of the riboflavin film in corneal collagen crosslinking. *J Cataract Refract Surg.* 2010; 36: 114-120. doi: 10.1016/j.jcrs.2009.07.044

20. Bottós K, Schor P, Dreyfuss J, Nader H, Chamon W. Effect of corneal epithelium on ultraviolet-A and riboflavin absorption. *Arq Bras Oftalmol.* 2011; 74: 348-351. doi: 10.1590/s0004-27492011000500008

21. Caporossi A, Mazzotta C, Paradiso A, Baiocchi S, Marigliani D, Caporossi T. Transepithelial corneal collagen crosslinking for progressive keratoconus: 24-month clinical results. *J Cataract Refract Surg.* 2013; 39: 1157-1163. doi: 10.1016/j.jcrs.2013.03.026

22. Gatzioufas Z, Raiskup F, O'Brart D, Spoerl E, Panos GD, Hafezi F. Transepithelial corneal cross-linking using an enhanced riboflavin solution. *J Refract Surg.* 2016; 32(6): 372-377. doi: 10.3928/1081597X-20160428-02

23. Bikbova G, Bikbov M. Transepithelial corneal collagen cross-linking by iontophoresis of riboflavin. *Acta Ophthalmologica.* 2013; 92(1): 30-34. doi: 10.1111/aos.12235

24. Cassagne M, Laurent C, Rodrigues M, Galinier A, Spoerl E, Galiacy S, et al. Iontophoresis transcorneal delivery technique for transepithelial corneal collagen crosslinking with riboflavin in a rabbit model. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2016; 57: 594-603. doi: 10.1167/iovs.13-12595

25. Jouve L, Borderie V, Sandali O, Temstet C, Basli E, Laroche L, et al. Conventional and iontophoresis corneal cross-linking for keratoconus: Efficacy and assessment by optical coherence tomography and confocal microscopy. *Cornea.* 2017; 36: 153-162. doi: 10.1097/ICO.0000000000001062

26. Cantemir A, Alexa A, Anton N, Ciuntu R, Danielescu C, Chiselita D, et al. Evaluation of iontophoretic collagen cross-linking for early stage of progressive keratoconus compared to standard cross-linking: A non-inferiority study. *Ophthalmol Ther.* 2017; 6: 147-160. doi: 10.1007/s40123-017-0076-8

27. Kymionis G, Diakonis V, Coskunseven E, Jankov M, Yoo SH, Pallikaris IG. Customized pachymetric guided epithelial debridement for corneal collagen cross linking. *BMC Ophthalmol.* 2009; 9: 10. doi: 10.1186/1471-2415-9-10

28. Mazzotta C, Ramovecchi V. Customized epithelial debridement for thin ectatic corneas undergoing corneal crosslinking: Epithelial island cross-linking technique. *Clin Ophthalmol Auckl NZ.* 2014; 8: 1337-1343. doi: 10.2147/OPTH.S66372

29. Cagil N, Sarac O, Can G, Akcay E, Can M. Outcomes of corneal collagen crosslinking using a customized epithelial debridement technique in keratoconic eyes with thin corneas. *Int Ophthalmol.* 2017; 37: 103-109. doi: 10.1007/s10792-016-0234-3

30. Kaya V, Utine C, Yilmaz O. Efficacy of corneal collagen cross-linking using a custom epithelial debridement technique in thin corneas: A confocal microscopy study. *J Refract Surg.* 2011; 27: 444-450. doi: 10.3928/1081597X-20101201-01

31. Jacob S, Kumar D, Agarwal A, Basu S, Sinha P, Agarwal A. Contact lens-assisted collagen cross-linking (CACXL): A new technique for cross-linking thin corneas. *J Refract Surg.* 2014; 30(6): 366-372. doi: 10.3928/1081597X-20140523-01

32. Chen X, Stojanovic A, Eidet J, Utheim T. Corneal collagen cross-linking (CXL) in thin corneas. *Eye Vis Lond Engl.* 2015; 2: 15. doi: 10.1186/s40662-015-0025-3

33. Wollensak G, Spörl E, Herbst H. Biomechanical efficacy of contact lens-assisted collagen cross-linking in porcine eyes. *Acta Ophthalmol.* 2019; 97(1): 84-90. doi: 10.1111/aos.13828

34. Zhang H, Roozbahani M, Piccinini A, Golan O, Hafezi F, Scarcelli G, et al. Depth-dependent reduction of biomechanical efficacy of contact lens-assisted corneal cross-linking analyzed by Brillouin microscopy. *J Refract Surg.* 2019; 35(11): 721-728. doi: 10.3928/1081597X-20191004-01

35. Malhotra C, Arun K, Gupta A, Ram J, Ramatchandirane B, Dhingra D, et al. Demarcation line depth after contact lens-assisted corneal crosslinking for progressive keratoconus: comparison of dextran-based and hydroxypropyl methylcellulose-based riboflavin solutions. *J Cataract Refract Surg.* 2017; 43(10): 1263-1270. doi: 10.1016/j.jcrs.2017.07.032

36. Knyazer B, Kotlas RM, Chorny A, Lifshitz T, Achiron A, Mimouni M. Corneal cross-linking in thin corneas: 1-year results of accelerated contact lens-assisted treatment of keratoconus. *J Refract Surg.* 2019; 35(10): 642-648. doi: 10.3928/1081597X-20190903-01

37. Славова М.А., Шипилов В.А., Апостолова А.С. Сравнительный анализ результатов ускоренного кросслинкинга коллагена тонкой роговицы при первичном кератоконусе и ятрогенных кератэктазиях. *Современные технологии в офтальмологии.* 2019; (5): 304-308. doi: 10.25276/2312-4911-2019-5-304-308

38. Sachdev M, Gupta D, Sachdev G, Sachdev R. Tailored stromal expansion with a refractive lenticule for crosslinking the ultrathin cornea. *J Cataract Refract Surg.* 2015; 41: 918-923. doi: 10.1016/j.jcrs.2015.04.007

39. Голубева Ю.Ю., Терещенко А.В., Трифаненкова И.Г., Вишнякова Е.Н., Демьянченко С.К. Методика ультрафиолетового кросслинкинга в лечении прогрессирующего кератоконуса при «тонкой роговице». *Современные технологии в офтальмологии.* 2019; (4): 59-62. doi: 10.25276/2312-4911-2019-4-59-62

40. Maurice D, Giardini A. Swelling of the cornea in vivo after the destruction of its limiting layers. *Br J Ophthalmol.* 1951; 35(12): 791-797. doi: 10.1136/bjo.35.12.791

41. Hafezi F, Mrochen M, Iseli HP, Seiler T. Collagen crosslinking with ultraviolet-A and hypoosmolar riboflavin solution in thin corneas. *J Cataract Refract Surg.* 2009; 35: 621-624. doi: 10.1136/bjo.35.12.791

42. Raiskup F, Spoerl E. Corneal cross-linking with hypoosmolar riboflavin solution in thin keratoconic corneas. *Am J Ophthalmol.* 2011; 152(1): 28-32.e1. doi: 10.1016/j.ajo.2011.01.016

43. Raiskup F, Hoyer A, Spoerl E. Permanent corneal haze after riboflavin-UVA-induced cross-linking in keratoconus. *J Refract Surg.* 2009; 25: S824-828. doi: 10.3928/1081597X-20090813-12

44. Schmidinger G, Pachala M, Prager F. Pachymetry changes during corneal crosslinking: Effect of closed eyelids and hypotonic riboflavin solution. *J Cataract Refract Surg.* 2013; 39: 1179-1183. doi: 10.1016/j.jcrs.2013.03.021

45. Koç M, Uzel M, Koban Y, Tekin K, Taşlpnar A, Yilmazbaş P. Accelerated corneal cross-linking with a hypoosmolar riboflavin solution in keratoconic thin corneas: Short-term results. *Cornea.* 2016; 35(3): 350-354. doi: 10.1097/ICO.0000000000000701

46. Stojanovic A, Zhou W, Utheim T. Corneal collagen cross-linking with and without epithelial removal: A contralateral study with 0.5% hypotonic riboflavin solution. *BioMed Res Int.* 2014; 2014: 619398. doi: 101155/2014/619398

47. Larrea X, Büchler P. A transient diffusion model of the cornea for the assessment of oxygen diffusivity and consumption. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2009; 50: 1076-1080. doi: 10.1167/iovs.08-2479

48. Hafezi F. Limitation of collagen cross-linking with hypoosmolar riboflavin solution: Failure in an extremely thin cornea. *Cornea.* 2011; 30: 917-919. doi: 10.1097/ICO.0b013e31820143d1

49. Kling S, Hafezi F. An algorithm to predict the biomechanical stiffening effect in corneal cross-linking. *J Refract Surg.* 2017; 33(2): 128-136. doi: 10.3928/1081597X-20161206-01

REFERENCES

1. Bikbov MM, Khalimov AR, Usubov EL. Ultraviolet corneal crosslinking. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2016; 71(3): 224-232. doi: 10.15690/vramn562 (In Russ.)
2. Bikbov MM, Bikbova GM. *Corneal ectasia.* Moscow: Oftalmologiya; 2011. (In Russ.)
3. Bikbov MM, Bikbova GM, Khalimov AR, Usubov EL, Kazakbayeva GM. *Corneal ectasia. Selected lectures.* Moscow: Aprel; 2018. (In Russ.)
4. Wollensak G, Spoerl E, Seiler T. Riboflavin/ultraviolet-a-induced collagen crosslinking for the treatment of keratoconus. *Am J Ophthalmol*. 2003; 135: 620-627. doi: 10.1016/s0002-9394(02)02220-1
5. Deshmukh R, Hafezi F, Kymionis GD, Kling S, Shah R, Padmanabhan P, et al. Current concepts in crosslinking thin corneas. *Indian J Ophthalmol.* 2019; 67(1): 8-15. doi: 10.4103/ijo.IJO_1403_18
6. Wollensak G. Crosslinking treatment of progressive keratoconus: New hope. *Curr Opin Ophthalmol.* 2006; 17: 356-360. doi: 10.1097/01.icu.0000233954.86723.25
7. Wollensak G, Spoerl E, Wilsch M, Seiler T. Endothelial cell damage after riboflavin-ultraviolet-A treatment in the rabbit. *J Cataract Refract Surg.* 2003; 29(9): 1786-1790. doi: 10.1016/s0886-3350(03)00343-2
8. Wollensak G, Spoerl E, Reber F, Seiler T. Keratocyte cytotoxicity of riboflavin/UVA-treatment in vitro. *Eye (Lond).* 2004; 18(7): 718-722. doi: 10.1038/sj.eye.6700751
9. Han Y, Xu Y, Zhu W, Liu Y, Liu Z, Dou X, et al. Thinner corneas appear to have more striking effects of corneal collagen crosslinking in patients with progressive keratoconus. *J Ophthalmol.* 2017; 2017: 6490915. doi: 10.1155/2017/6490915
10. Vinciguerra P, Albè E, Mahmoud A, Trazza S, Hafezi F, Roberts C. Intra- and postoperative variation in ocular response analyzer parameters in keratoconic eyes after corneal crosslinking. *J Refract Surg.* 2010; 26(9): 669-676. doi: 10.3928/1081597X-20100331-01
11. Wollensak G, Spörl E, Reber F, Pillunat L, Funk R. Corneal endothelial cytotoxicity of riboflavin/UVA treatment in vitro. *Ophthalmic Res.* 2003; 35: 324-328. doi: 10.1159/000074071
12. Wollensak G, Iomdina E. Biomechanical and histological changes after corneal crosslinking with and without epithelial debridement. *J Cataract Refract Surg.* 2009; 35: 540-546. doi: 10.1016/j.jcrs.2008.11.036
13. Spadea L, Mencucci R. Transepithelial corneal collagen cross-linking in ultrathin keratoconic corneas. *Clin Ophthalmol Auckl NZ.* 2012; 6: 1785-1792. doi: 10.2147/OPTH.S37335
14. Filippello M, Stagni E, O'Brart D. Transepithelial corneal collagen crosslinking: Bilateral study. *J Cataract Refract Surg.* 2012; 38(2): 283-291. doi: 10.1016/j.jcrs.2011.08.030
15. Leccisotti A, Islam T. Transepithelial corneal collagen cross-linking in keratoconus. *J Refract Surg*. 2010; 26: 942-948. doi: 10.3928/1081597X-20100212-09
16. Baiocchi S, Mazzotta C, Cerretani D, Caporossi T, Caporossi A. Corneal crosslinking: Riboflavin concentration in corneal stroma exposed with and without epithelium. *J Cataract Refract Surg.* 2009; 35(5): 893-899. doi: 10.1016/j.jcrs.2009.01.009
17. Chang S, Chi R, Wu C, Su M. Benzalkonium chloride and gentamicin cause a leak in corneal epithelial cell membrane. *Exp Eye Res.* 2000; 71: 3-10. doi: 10.1006/exer.2000.0849
18. Majumdar S, Hippalgaonkar K, Repka M. Effect of chitosan, benzalkonium chloride and ethylenediaminetetraacetic acid on permeation of acyclovir across isolated rabbit cornea. *Int J Pharm*. 2008; 348(1-2): 175-178. doi: 10.1016/j.ijpharm.2007.08.017
19. Wollensak G, Aurich H, Wirbelauer C, Sel S. Significance of the riboflavin film in corneal collagen crosslinking. *J Cataract Refract Surg.* 2010; 36: 114-120. doi: 10.1016/j.jcrs.2009.07.044
20. Bottós K, Schor P, Dreyfuss J, Nader H, Chamon W. Effect of corneal epithelium on ultraviolet-A and riboflavin absorption. *Arq Bras Oftalmol.* 2011; 74: 348-351. doi: 10.1590/s0004-27492011000500008
21. Caporossi A, Mazzotta C, Paradiso A, Baiocchi S, Marigliani D, Caporossi T. Transepithelial corneal collagen crosslinking for progressive keratoconus: 24-month clinical results. *J Cataract Refract Surg.* 2013; 39: 1157-1163. doi: 10.1016/j.jcrs.2013.03.026
22. Gatzioufas Z, Raiskup F, O'Brart D, Spoerl E, Panos GD, Hafezi F. Transepithelial corneal cross-linking using an enhanced riboflavin solution. *J Refract Surg.* 2016; 32(6): 372-377. doi: 10.3928/1081597X-20160428-02
23. Bikbova G, Bikbov M. Transepithelial corneal collagen cross-linking by iontophoresis of riboflavin. *Acta Ophthalmologica.* 2013; 92(1): 30-34. doi: 10.1111/aos.12235
24. Cassagne M, Laurent C, Rodrigues M, Galinier A, Spoerl E, Galiacy S, et al. Iontophoresis transcorneal delivery technique for transepithelial corneal collagen crosslinking with riboflavin in a rabbit model. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2016; 57: 594-603. doi: 10.1167/iovs.13-12595
25. Jouve L, Borderie V, Sandali O, Temstet C, Basli E, Laroche L, et al. Conventional and iontophoresis corneal cross-linking for keratoconus: Efficacy and assessment by optical coherence tomography and confocal microscopy. *Cornea.* 2017; 36: 153-162. doi: 10.1097/ICO.0000000000001062
26. Cantemir A, Alexa A, Anton N, Ciuntu R, Danielescu C, Chiselita D, et al. Evaluation of iontophoretic collagen cross-linking for early stage of progressive keratoconus compared to standard cross-linking: A non-inferiority study. *Ophthalmol Ther.* 2017; 6: 147-160. doi: 10.1007/s40123-017-0076-8
27. Kymionis G, Diakonis V, Coskunseven E, Jankov M, Yoo SH, Pallikaris IG. Customized pachymetric guided epithelial debridement for corneal collagen cross linking. *BMC Ophthalmol.* 2009; 9: 10. doi: 10.1186/1471-2415-9-10
28. Mazzotta C, Ramovecchi V. Customized epithelial debridement for thin ectatic corneas undergoing corneal crosslinking: Epithelial island cross-linking technique. *Clin Ophthalmol Auckl NZ.* 2014; 8: 1337-1343. doi: 10.2147/OPTH.S66372
29. Cagil N, Sarac O, Can G, Akcay E, Can M. Outcomes of corneal collagen crosslinking using a customized epithelial debridement technique in keratoconic eyes with thin corneas. *Int Ophthalmol.* 2017; 37: 103-109. doi: 10.1007/s10792-016-0234-3
30. Kaya V, Utine C, Yilmaz O. Efficacy of corneal collagen cross-linking using a custom epithelial debridement technique in thin corneas: A confocal microscopy study. *J Refract Surg.* 2011; 27: 444-450. doi: 10.3928/1081597X-20101201-01
31. Jacob S, Kumar D, Agarwal A, Basu S, Sinha P, Agarwal A. Contact lens-assisted collagen cross-linking (CACXL): A new technique for cross-linking thin corneas. *J Refract Surg.* 2014; 30(6): 366-372. doi: 10.3928/1081597X-20140523-01
32. Chen X, Stojanovic A, Eidet J, Utheim T. Corneal collagen cross-linking (CXL) in thin corneas. *Eye Vis Lond Engl.* 2015; 2: 15. doi: 10.1186/s40662-015-0025-3
33. Wollensak G, Spörl E, Herbst H. Biomechanical efficacy of contact lens-assisted collagen cross-linking in porcine eyes. *Acta Ophthalmol.* 2019; 97(1): 84-90. doi: 10.1111/aos.13828
34. Zhang H, Roozbahani M, Piccinini A, Golan O, Hafezi F, Scarcelli G, et al. Depth-dependent reduction of biomechanical efficacy of contact lens-assisted corneal cross-linking analyzed by Brillouin microscopy. *J Refract Surg.* 2019; 35(11): 721-728. doi: 10.3928/1081597X-20191004-01
35. Malhotra C, Arun K, Gupta A, Ram J, Ramatchandirane B, Dhingra D, et al. Demarcation line depth after contact lens-assisted corneal crosslinking for progressive keratoconus: comparison of dextran-based and hydroxypropyl methylcellulose-based riboflavin solutions. *J Cataract Refract Surg.* 2017; 43(10): 1263-1270. doi: 10.1016/j.jcrs.2017.07.032
36. Knyazer B, Kotlas RM, Chorny A, Lifshitz T, Achiron A, Mimouni M. Corneal cross-linking in thin corneas: 1-year results of accelerated contact lens-assisted treatment of keratoconus. *J Refract Surg.* 2019; 35(10): 642-648. doi: 10.3928/1081597X-20190903-01
37. Slavova MA, Shipilov VA, Apostolova AS. Comparative analysis of results of the accelerated crosslinking of collagen of a thin cornea at primary keratoconus and iatrogenic keratecta-

sia. *Sovremennyye tekhnologii v oftalmologii.* 2019; (5): 304-308. doi: 10.25276/2312-4911-2019-5-304-308 (In Russ.)

38. Sachdev M, Gupta D, Sachdev G, Sachdev R. Tailored stromal expansion with a refractive lenticule for crosslinking the ultrathin cornea. *J Cataract Refract Surg.* 2015; 41: 918-923. doi: 10.1016/j.jcrs.2015.04.007

39. Golubeva YuYu, Tereshchenko AV, Trifanenkova IG, Vishnyakova YeN, Demyanchenko SK. Ultraviolet crosslinking technique in the treatment of progressive keratoconus with a «thin cornea». *Sovremennyye tekhnologii v oftalmologii.* 2019; (4): 59-62. doi: 10.25276/2312-4911-2019-4-59-62 (In Russ.)

40. Maurice D, Giardini A. Swelling of the cornea in vivo after the destruction of its limiting layers. *Br J Ophthalmol.* 1951; 35(12): 791-797. doi: 10.1136/bjo.35.12.791

41. Hafezi F, Mrochen M, Iseli HP, Seiler T. Collagen crosslinking with ultraviolet-A and hypoosmolar riboflavin solution in thin corneas. *J Cataract Refract Surg.* 2009; 35: 621-624. doi: 10.1136/bjo.35.12.791

42. Raiskup F, Spoerl E. Corneal cross-linking with hypo-osmolar riboflavin solution in thin keratoconic corneas. *Am J Ophthalmol.* 2011; 152(1): 28-32.e1. doi: 10.1016/j.ajo.2011.01.016

43. Raiskup F, Hoyer A, Spoerl E. Permanent corneal haze after riboflavin-UVA-induced cross-linking in keratoconus. *J Refract Surg.* 2009; 25: S824-828. doi: 10.3928/1081597X-20090813-12

44. Schmidinger G, Pachala M, Prager F. Pachymetry changes during corneal crosslinking: Effect of closed eyelids and hypotonic riboflavin solution. *J Cataract Refract Surg.* 2013; 39: 1179-1183. doi: 10.1016/j.jcrs.2013.03.021

45. Koç M, Uzel M, Koban Y, Tekin K, Taşlpnar A, Yilmazbaş P. Accelerated corneal cross-linking with a hypoosmolar riboflavin solution in keratoconic thin corneas: Short-term results. *Cornea.* 2016; 35(3): 350-354. doi: 10.1097/ICO.0000000000000701

46. Stojanovic A, Zhou W, Utheim T. Corneal collagen cross-linking with and without epithelial removal: A contralateral study with 0.5% hypotonic riboflavin solution. *BioMed Res Int.* 2014; 2014: 619398. doi: 101155/2014/619398

47. Larrea X, Büchler P. A transient diffusion model of the cornea for the assessment of oxygen diffusivity and consumption. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2009; 50: 1076-1080. doi: 10.1167/iovs.08-2479

48. Hafezi F. Limitation of collagen cross-linking with hypoosmolar riboflavin solution: Failure in an extremely thin cornea. *Cornea.* 2011; 30: 917-919. doi: 10.1097/ICO.0b013e31820143d1

49. Kling S, Hafezi F. An algorithm to predict the biomechanical stiffening effect in corneal cross-linking. *J Refract Surg.* 2017; 33(2): 128-136. doi: 10.3928/1081597X-20161206-01

Сведения об авторах

Бикбов Мухаррам Мухтарамович – доктор медицинских наук, профессор, директор, ГБУ «Уфимский научно-исследовательский институт глазных болезней Академии наук Республики Башкортостан», https://orcid.org/0000-0002-9476-8883

Русакова Юлия Александровна – научный сотрудник отделения хирургии роговицы и хрусталика, ГБУ «Уфимский научно-исследовательский институт глазных болезней Академии наук Республики Башкортостан», e-mail: lioness-16@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-2884-9300

Усубов Эмин Логман оглы – кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией трансплантационной хирургии переднего отрезка глаза, ГБУ «Уфимский научно-исследовательский институт глазных болезней Академии наук Республики Башкортостан», https://orcid.org/0000-0002-1008-1516

Рахимова Эллина Маратовна – научный сотрудник отделения хирургии роговицы и хрусталика, ГБУ «Уфимский научно-исследовательский институт глазных болезней Академии наук Республики Башкортостан», e-mail: rakhimova_ellina@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-9616-6261

Information about the authors

Mukharram M. Bikbov – Dr. Sc. (Med.), Professor, Director, Ufa Eye Research Institute, https://orcid.org/0000-0002-9476-8883

Iuliia A. Rusakova – Research Officer of the Department of Corneal and Lens Surgery, Ufa Eye Research Institute, e-mail: lioness-16@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-2884-9300

Emin L. Usubov – Cand. Sc. (Med.), Head of the Anterior Segment Transplantation Surgery of the Eye, Ufa Eye Research Institute, https://orcid.org/0000-0002-1008-1516

Ellina M. Rakhimova – Research Officer of the Department of Corneal and Lens Surgery, Ufa Eye Research Institute, e-mail: rakhimova_ellina@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-9616-6261

Статья получена: 28.07.2020. Статья принята: 01.09.2020. Статья опубликована: 26.10.2020.
Received: 28.07.2020. Accepted: 01.09.2020. Published: 26.10.2020.

ПЕДИАТРИЯ
PEDIATRICS

DOI: 10.29413/ABS.2020-5.5.11

Оценка питания школьников и его влияние на физическое развитие и заболеваемость

Кудреватых М.А., Шатханова Н.А.

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

Автор, ответственный за переписку: Кудреватых Мария Алексеевна, e-mail: marusy0305@mail.ru

Резюме

Состояние здоровья современных школьников занимает одну из важных позиций в современном мире. Неправильное питание с интенсивной учебной нагрузкой и низкой физической активностью способствуют развитию «школьных» болезней.

Цель исследования. *Оценить фактическое питание детей школьного возраста на примере обучающихся третьих классов и определить его влияние на физическое развитие и школьную заболеваемость.*

Материалы и методы. *Обследование проводилось с ноября 2019 г. по март 2020 г. Всего исследовано 33 ребёнка в возрасте 8–9 лет. Питание детей изучено с помощью анкеты для родителей, в которую были включены вопросы, касающиеся частоты питания различными продуктами в течение недели. Физическое развитие оценено по росту, массе тела, окружности грудной клетки. Данные о заболеваемости выкопированы из медицинских карт (форма 026-у). Статистический анализ включал расчёт ошибки относительных величин.*

Результаты. *В рационе детей был выявлен недостаток белковых продуктов (мясо, яйца, птица). В среднем 3–4 раза в неделю 42 ± 1,50 % потребляют мясо, 52 ± 1,51 % птицу и 45 ± 1,51 % – яйца. Отмечено повышенное употребление продуктов, содержащих большое количество жиров и углеводов, так 1–2 раза в неделю 45 ± 1,51 % употребляют чипсы, а 55 ± 1,51 % пьют сладкие газированные напитки и соки. Оценка физического развития показала увеличение количества детей с дисгармоничным развитием (49 ± 1,51 % по всей выборке). Анализ заболеваемости показал преобладание заболеваний опорно-двигательного аппарата: нарушение осанки у 24 ± 1,29 % детей, плоскостопие 15 ± 1,08 %. Показатели массы тела были выше или ниже нормы у 24 ± 1,29 % школьников, из них снижение массы тела 18 ± 1,16 % и увеличение у 6 ± 0,72 % детей.*

Заключение. *В ходе исследования отмечен недостаток потребления белков, которые необходимы для реализации роста и развития, в то время как избыток углеводов угнетает эти процессы. Таким образом, питание занимает ведущую роль в состоянии здоровья и физическом развитии школьников.*

Ключевые слова: *физическое развитие, дети, оценка питания, заболеваемость, масса тела*

Для цитирования: Кудреватых М.А., Шатханова Н.А. Оценка питания школьников и его влияние на физическое развитие и заболеваемость. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(5): 81-85. doi: 10.29413/ABS.2020-5.5.11

Assessment of School Nutrition and Its Impact on Physical Development and Morbidity

Kudrevatykh M.A., Shatkhanova N.A.

Irkutsk State Medical University (ul. Krasnogo Vosstaniya 1, Irkutsk 664003, Russian Federation)

Corresponding author: Maria A. Kudrevatykh, e-mail: marusy0305@mail.ru

Abstract

Background. *The state of health of modern schoolchildren occupies one of the most important positions in the modern world. Improper nutrition with an intensive educational load and low physical activity contribute to the development of "school" diseases.*

Aim. *To assess the actual nutrition of school-age children using the example of third-grade students and to determine its impact on physical development and school morbidity.*

Materials and methods. *The survey was conducted from November 2019 to March 2020. 33 children aged 8–9 years were studied. The nutrition of children was studied using a questionnaire for parents, which included questions about the frequency of eating various foods during the week. Physical development was assessed by height, body weight, and chest circumference. Incidence data were copied from medical records (form 026-y). The statistical analysis included the calculation of the error of relative values.*

Results. *The children›s diet was found to lack protein products (meat, eggs, poultry). On average, 3–4 times a week, 42 ± 1.50 % consume meat, 52 ± 1.51 % poultry, and 45 ± 1.51 % eggs. There was an increased consumption of foods*

containing a large amount of fat and carbohydrates, so 1–2 times a week 45 ± 1.51 % eat chips, and 55 ± 1.51 % drink sweet carbonated drinks and juices. The assessment of physical development showed an increase in the number of children with disharmonious development (49 ± 1.51 % for the entire sample).
Analysis of morbidity revealed the prevalence of diseases of musculoskeletal system: postural disorder – 24 ± 1.29 % of children, flat foot – 15 ± 1.08 %. Body weight indicators were higher or lower than normal in 24 ± 1.29 % of schoolchildren, including a decrease in body weight in 18 ± 1.16 % and an increase – in 6 ± 0.72 % of children.
Conclusions. *The study noted a lack of protein consumption, which is necessary for the implementation of growth and development, while an excess of carbohydrates inhibits these processes. Thus, nutrition plays a leading role in the health and physical development of schoolchild.*

Key words: *physical development, children, nutrition assessment, morbidity, body weight*

For citation: Kudrevatykh M.A., Shatkhanova N.A. Assessment of School Nutrition and Its Impact on Physical Development and Morbidity. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(5): 81-85. doi: 10.29413/ABS.2020-5.5.11

ВВЕДЕНИЕ

Здоровое питание – важнейший компонент здорового образа жизни, обеспечивающий сохранение и укрепление здоровья. По данным Всемирной организации здравоохранения, состояние здоровья человека лишь на 8–10 % зависит от организации медицинской службы, на наследственность приходится 22 %, 50–55 % определяется образом жизни и питанием, остальное – климатическими и биологическими факторами. Пища – это источник питательных веществ и энергии, которые выполняют первоначальную роль в поддержании жизнедеятельности организма, а также необходимы для обеспечения физической активности и трудоспособности [1].

В стремительно развивающемся мире из общего числа факторов, оказывающих негативное влияние на здоровье детей, приоритетными являются школьный фактор [2] и нарушение правил питания [3]. Главным недостатком в питании детей школьного возраста является несбалансированный рацион питания и нерегулярный приём пищи [4]. Выраженная несбалансированность питания наряду с интенсивной учебной деятельностью и низкой физической активностью способствуют развитию «школьных» болезней – заболеваний опорно-двигательного аппарата, обмена веществ, органов зрения, желудочно-кишечного тракта, йододефицитные состояния и др. [5]; снижению работоспособности и успеваемости школьников; возникновению нарушений физического и умственного развития. Следовательно, оптимальное питание в детском и подростковом возрасте будет способствовать профилактике заболеваний, правильному физическому и нервно-психическому развитию, увеличивать адаптационные возможности организма [6, 7].

В современном мире актуальна проблема здорового питания, поэтому необходимо подробнее изучить влияние питания школьников на их физическое развитие и заболеваемость.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить фактическое питание детей школьного возраста на примере обучающихся третьих классов и определить его влияние на физическое развитие и школьную заболеваемость.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Обследование проводилось с ноября 2019 г. по март 2020 г. на базе МАОУ ЦО № 47 г. Иркутска. Исследование проводилось сплошным методом. В ходе исследования обследовано 266 детей в возрасте 8–9 лет, средний возраст школьников – 9 лет. После проведения анкетирования по вопросам питания для исследования были отобраны дети, анкеты которых были заполнены наиболее полно и включали все пункты опроса. Всего в группу для анализа вошли 33 учащихся, из них 48,5 % (16 чел.) мальчиков и 51,5 % (17 чел.) девочек. Физическое развитие детей было изучено по основным антропометрическим показателям (масса тела, рост, окружность грудной клетки) с определением соматотипа и гармоничности развития [8, 9], а также индекса массы тела (ИМТ), по формуле [8]:

$$I = \frac{m}{h^2},$$

где: m – масса тела в килограммах, h – рост в метрах, I – измеряется в кг/м^2.

Нормальные показатели ИМТ определяли по центильным таблицам [10]. Фактическое питание оценивали с помощью анкеты для родителей, в которую были включены вопросы, касающиеся частоты питания различными продуктами в течение недели. Для анализа структуры питания были выделены 6 основных групп пищевых

Таблица 1

Основные группы пищевых продуктов

Table 1

Basic groups of food

Название группы	Продукты
Продукты с наибольшим содержанием белка	Мясо, птица, яйца
Рыба и морепродукты	Рыба, морепродукты
Молоко и молочные продукты	Молоко, кисломолочные продукты, сыр, творог, сливочное масло, сметана
Продукты с преобладанием большого количества компонентов растительного происхождения	Хлеб ржаной и пшеничный, каша, картофель
Продукты, содержащие легкоусвояемые углеводы	Шоколад и шоколадные конфеты, выпечка и пироги
Вредные продукты	Колбаса, майонез, чипсы, сухари, сладкие газированные напитки и соки

продуктов (табл. 1). Также определялась частота употребления данных продуктов (табл. 2).

Таблица 2

Частота употребления продуктов питания

Table 2

Frequency of food intake

Частота употребления	Количество дней в неделю
никогда	0
редко	1–2
иногда	3–4
часто	5–6
очень часто	≥ 7

Состояние здоровья детей оценивали по индивидуальным картам развития (форма 026-у) путём выкопировки данных.

Исследование проводилось после получения письменного согласия родителей или законных представителей детей.

Статистическая обработка результатов произведена с помощью пакета программ MS Excel 16. Статистическую значимость разницы между относительными величинами оценивали по t-критерию Стьюдента, с вычислением ошибки относительной величины. Значения считали статистически значимыми при величине $t > 2$, при $p \leq 0{,}05$. Доверительные интервалы (ДИ), приводимые в работе, строились для доверительной вероятности $p = 95$ %

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анкетирование показало, что только у 33 учащихся из 266 детей родители смогли наиболее полно ответить на вопросы анкеты. Остальные 233 родителя пропускали некоторые пункты анкеты, потому как не могли на них ответить или сомневались в своём ответе в связи с недостаточной осведомлённостью рациона питания детей вне дома. Это может свидетельствовать о том, что только 12,4 ± 0,94 % семей осознанно относятся к питанию детей, либо знают, чем питаются их дети.

Изучение фактического питания показало, что дети школьного возраста потребляют продукты с большим количеством белка животного происхождения в среднем 3–4 раза в неделю, из них мясо потребляют 42 ± 1,50 %, птицу – 52 ± 1,51 %, яйца – 45 ± 1,51 %. Этого недостаточно, так как детям данной возрастной категории необходимо получать продукты с большим содержанием белка ежедневно.

Отмечено, что 73 ± 1,35 % школьников «редко» (табл. 2) употребляют рыбу и больше половины детей (52 ± 1,51 %) не едят морепродукты. Детям 8–9 лет рекомендуется есть рыбу 2–3 раза в неделю.

При обработке данных показано, что 45 ± 1,51 % учащихся употребляют молоко «очень часто» (табл. 2). Но, в то же время, отмечено «редкое» (табл. 2) употребление школьниками кисломолочных продуктов, творога, сметаны, сыра. Эти показатели удовлетворяют потребности детей.

Отмечено, что 3–4 раза в неделю 82 ± 1,16 % детей едят ржаной и пшеничный хлеб и 39 ± 1,48 % употребляют кашу. При каждом приёме пищи ребёнок должен есть хлеб. Картошку предпочитают есть 1–2 раза в неделю 45 ± 1,51 %, это удовлетворяет потребность школьников в данном продукте.

Наиболее опасен избыток сахара и рафинированных углеводов в рационе, так как эти вещества негативно влияют на процессы обмена веществ в организме и способствуют возникновению кариеса, ожирения, сахарного диабета 2-го типа [6]. Такие продукты, как шоколад и шоколадные конфеты употребляются «редко» (табл. 2) в 39 ± 1,48 %, 3–4 раза в неделю – в 15 ± 1,08 %, 5–6 раз в неделю – в 15 ± 1,08 % и ≥ 7 раз в неделю – также в 15 ± 1,08 %. Выпечку едят «иногда» 30 ± 1,39 % (табл. 2).

Один-два раза в неделю 55 ± 1,51 % употребляют сладкие газированные напитки и соки и 48 ± 1,51 % едят колбасу. В норме детям не рекомендуется употреблять газированные напитки и соки, так как они в большом количестве содержат сахар. Большинство детей не употребляет в пищу майонез 76 ± 1,29 %. Чипсы и сухари не едят 52 ± 1,51 %, однако, 45 ± 1,51 % всё же их употребляют 1–2 раза в неделю (табл. 3).

Чипсы и сухари содержат большое количество жиров, а также соль. При избытке жира нарушается усвоение белков.

Употребляют горячую пищу 4 раза в день 9 ± 0,87 % учащихся, 3 раза в день – 73 ± 1,35 %, 2 раза в день – 15 ± 1,08 %, 1 раз в день – 3 ± 0,52 % (табл. 3).

Обращает на себя внимание то, что продукты с преобладанием растительных компонентов, молоко и молочные продукты ежедневно употребляет примерно каждый

Таблица 3

Частота потребления разных групп продуктов

Table 3

Frequency of intake of different groups of products

Название группы продуктов	Частота потребления				
	никогда	редко	иногда	часто	очень часто
Продукты с наибольшим содержанием белка	5 %*	36 %	46 %	5 %	7 %
Рыба и морепродукты	33 %	59 %	6 %*	2 %	0 %
Молоко и молочные продукты	16 %	37 %	21 %	10 %	16 %
Продукты с преобладанием большого количества компонентов растительного происхождения	5 %	24 %	55 %*	11 %	5 %
Продукты, содержащие легкоусвояемые углеводы	16,5 %	33 %	22,5 %	16,5 %	10,5 %
Вредные продукты	47 %*	44 %	7 %	2 %	0 %

Примечание. * – значимые различия по частоте потребления продуктов в группе ($p \leq 0{,}05$)

10-й ребёнок, а мясо и рыбу – единицы. Зато легкоусвояемые углеводы присутствуют в рационе более чем у 80 % опрошенных, что не соответствует принятым нормам.

Оценка уровня физического развития (рис. 1) [11] выявила, что преобладает умеренно дисгармоничный уровень, который наблюдался у 49 ± 1,51 %, при этом с дефицитом массы у 82 ± 1,16 % и с избытком массы у 9 ± 0,87 %.

У 45 ± 1,51 % гармоничный уровень. У 6 ± 0,72 % резко дисгармоничный, при этом с дефицитом массы у 9 ± 0,87 %.

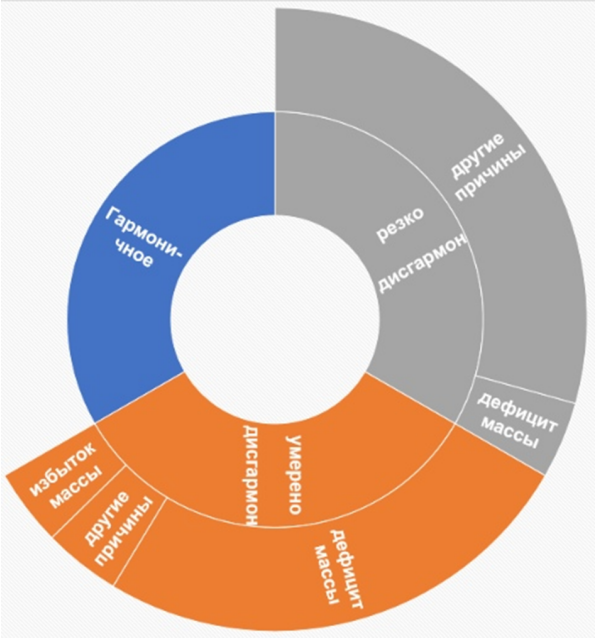


Рис. 1. Гармоничность физического развития.
Fig. 1. Balance of physical development.

Также определялся соматотип [8]: 58 ± 1,50 % учащихся были отнесены к мезосоматотипу, 36 ± 1,45% – к макросоматотипу и 6 ± 0,72 % – к микросоматотипу.

Дефицит и избыток массы тела определялся с помощью оценки индекса массы тела [8, 10] (рис. 2)

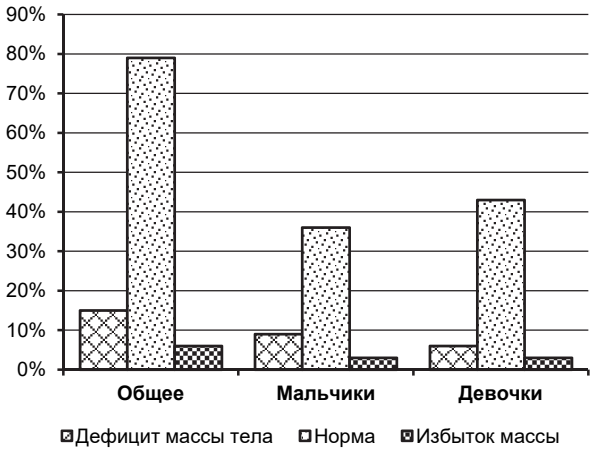


Рис. 2. Индекс массы тела.
Fig. 2. Body mass index.

Сравнение индекса масса тела у мальчиков и девочек показало, что дефицит массы тела встречается чаще у мальчиков в возрасте 8–9 лет, при этом избыток массы тела в равном соотношении у обоих полов.

Анализ заболеваемости показал, что 30 % детей относятся к группе практически здоровых, а остальные имеют заболевания различных систем и органов. При изучении состояния здоровья школьников младших классов были выявлены следующие отклонения. У 24 ± 1,29 % отмечается нарушение осанки, у 15 ± 1,08 % – плоскостопие, у 18 ± 1,16 % – дефицит массы тела, возможно, причиной могло быть несбалансированное и нерациональное питание. У 6 ± 0,72 % отмечено увеличение массы тела, в рационе этих детей преобладают продукты с высоким содержанием жиров и углеводов. У 3 ± 0,52 % – кариес, заболевание эндокринной системы (зоб).

В последнее десятилетие многие исследователи говорят о негативном влиянии школьного образования в России на здоровье современных школьников: так, сравнение числа практически здоровых первоклассников (примерно 12–15 %) с числом практически здоровых выпускников (примерно 5 %) свидетельствует о неэффективности создания необходимых условий для охраны и укрепления здоровья школьников. С 1-го по 8-й классы количество здоровых детей снижается в 4 раза; увеличивается число детей с диагнозом миопия – с 3 до 30 %, неуклонно растёт частота заболеваний опорно-двигательного аппарата среди детей школьного возраста – в 1,5–2 раза, возрастает частота встречаемости детей страдающих аллергическими заболеваниями – в 3 раза, заболеваниями крови – в 2,5 раза, нервными болезнями – в 2 раза [12].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У школьников наиболее остро ощущается потребность в белковых продуктах, которые необходимы не только для возмещения потерь в структурных клеточных элементах и энергии, но и для роста и развития организма. Также выявлено избыточное потребление продуктов, содержащих большое количество углеводов, которые угнетают рост и развитие детей. Одной из причин ухудшения физического развития может быть нерегулярное употребление жизненно важных продуктов.

У некоторых из обследованных детей отмечалась масса тела ниже или выше возрастной нормы и имелись такие «школьные» заболевания, как нарушение осанки, плоскостопие, кариес. Также почти у половины детей выявлен дисгармоничный уровень физического развития. Причиной возникновения вышесказанного могло послужить нерациональное и несбалансированное питание. Полученные данные не в полной мере отражают фактическое питание школьников, что обуславливает необходимость проведения новых исследований.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Рубина Е.А. *Физиология питания: учебник для студентов учреждений высшего профессионального образования*. М.: Академия; 2014.

2. Безруких М.М., Филиппова Т.А., Макеева А.Г. *Формула правильного питания*. М.: ОЛМА Медиа Групп; 2013.

3. Тапешкина Н.В., Клишина М.Н. *Организация школьного питания в современных условиях: проблемы и пути решения*. Сибирский медицинский журнал (Иркутск). 2013; 122(7): 113-117.

4. Синельников И.Ю. Влияние школы на состояние здоровья учащихся: стереотипы, реалии, риски. *Отечественная и зарубежная педагогика.* 2016; (2): 70-83.

5. Модестов А.А., Терлецкая Р.Н., Неволин Ю.С., Бондарь В.И. Оценка состояния здоровья школьников по данным выездного межтерриториального центра здоровья. *Социальные аспекты здоровья населения*. 2016; (5): 7.

6. Еделев Д.А., Лабутина Н.В. Аспекты здорового питания школьников. *Питание и здоровье.* 2014; (11): 64-66.

7. Макеева А.Г. Оценка эффективности использования образовательной программы в области правильного питания. *Новые исследования.* 2016; (2): 60-69.

8. Кучма В.Р. *Гигиена детей и подростков.* М.: ГЭОТАР-Медиа; 2015.

9. Кучма В.Р., Милушкина О.Ю., Скоблина Н.А. *Морфофункциональное развитие современных школьников.* М.: ГЭОТАР-Медиа; 2018.

10. Калмыкова А.С. (ред.). *Пропедевтика детских болезней.* М.: ГЭОТАР-Медиа; 2018.

11. Милушкина О.Ю. Физическое развитие и образ жизни современных школьников. *Вестник РГМУ*. 2013; (3): 68-71.

12. Баранов А.А., Намазова-Баранова Л.С., Альбицкий В.Ю., Терлецкая Р.Н., Антонова Е.В. Состояние и проблемы здоровья подростков России. *Проблемы социальной гигиены, здравоохранения и истории медицины.* 2014; 22(6): 10-14.

REFERENCES

1. Rubina EA. *Physiology of nutrition: a textbook for students.* M.: Akademia; 2014. (In Russ.)

2. Bezrukikh MM, Filippova TA, Makeeva AG. *Formula of proper nutrition*. M.: OLMA Media Grupp; 2013. (In Russ.)

3. Tapeshkina NV, Klishina MN. Organization of school meals in modern conditions: problems and solutions. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal (Irkutsk)*. 2013; 122(7): 113-117. (In Russ.)

4. Sinelnikov IYu. Influence of the school on health condition of pupils: stereotypes, realities, risks. *Otechestvennaya i zarubezhnaya pedagogika.* 2016; (2): 70-83. (In Russ.)

5. Modestov AA, Terletskaya RN, Nevolin YuS, Bondar VI. Assessing health status of schoolchildren based on data of the mobile interregional health center. *Social aspects of population health.* 2016; (5): 7. (In Russ.)

6. Edelev DA, Labutina NV. Aspects of healthy schoolchildren nutrition. *Nutrition and Health*. 2014; (11): 64-66. (In Russ.)

7. Makeeva AG. Evaluation of the effectiveness of the educational program in the field of proper nutrition. *New Research.* 2016; (2): 60-69. (In Russ.)

8. Kuchma VR. *Hygiene of children and adolescents*. M.: GEOTAR-Media; 2015. (In Russ.)

9. Kuchma VR, Milushkina OYu, Skoblina NA. *Morphofunctional development of modern schoolchildren*. M.: GEOTAR-Media; 2018. (In Russ.)

10. Kalmykova AS. *Propedeutics of childhood diseases*. M.: GEOTAR-Media; 2018. (In Russ.)

11. Milushkina OYu. Physical development and lifestyle of today's schoolchildren. *Bulletin of RSMU*. 2013; (3): 68-71. (In Russ.)

12. Baranov AA, Namazova-Baranova LS, Albitskiy VYu, Terletskaya RN, Antonova E.V. Condition and problems of adolescents› health of Russia. *Problems of social hygiene, health care and history of medicine*. 2014; 22(6): 10-14. (In Russ.)

Сведения об авторах

Кудреватых Мария Алексеевна – студентка, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: marusy0305@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-2354-2892

Шатханова Наталия Андреевна – студентка, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: snatasha1001@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-5307-9013

Information about the authors

Maria A. Kudrevatykh – Student, Irkutsk State Medical University, e-mail: marusy0305@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-2354-2892

Natalia A. Shatkhanova – Student, Irkutsk State Medical University, e-mail: snatasha1001@mail.ru, https://orcid.org/0000-0001-5307-9013

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

Статья получена: 10.06.2020. Статья принята: 17.08.2020. Статья опубликована: 26.10.2020.
Received: 10.06.2020. Accepted: 17.08.2020. Published: 26.10.2020.

ПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА
PREVENTIVE MEDICINE

DOI: 10.29413/ABS.2020-5.5.12

Влияние обезвоживания на развитие дисфункции эндотелия у юных спортсменов: сравнительный анализ эффективности нового медового изотонического напитка и общепринятых средств восстановления водно-электролитного баланса

Ким В.Н., Кривулина Г.Б., Просекин Г.А.

ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России
(634055, г. Томск, Московский тракт, 2, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Ким Виталий Николаевич, e-mail: doctorkim@rambler.ru

Резюме

Цель исследования. *Обоснование эффективности использования медового изотонического напитка «Gold F25 IsoDrink Light» (IsoDrink-L) на основе изучения процесса гидратации и функции эндотелия у юных спортсменов.*

Материалы и методы исследования. *Выполнено рандомизированное контролируемое исследование у юных спортсменов в возрасте до 18 лет. Основная группа (n = 40) в течение месяца потребляла IsoDrink-L; группа контроля (n = 34) – воду и изотоник «Х». С помощью прибора на основе биоимпеданса определяли общее количество жидкости, абсолютные и относительные доли внутри- и внеклеточной жидкости, а также соотношение внеклеточной жидкости и общего количества жидкости. Оценивали гематокрит, удельный вес и цветность утренней мочи, пробы с реактивной гиперемией и гипервентиляцией на плечевой артерии, включая определение индекса эндотелиальной чувствительности (ИЭЧ).*

Результаты. *У всех спортсменов обнаружено обезвоживание в виде внеклеточной дегидратации, клеточной гипергидратации, «сгущения крови», гипонатремии, увеличения удельного веса и цветности мочи, а также дисфункция эндотелия. Все симптомы исчезли после приёма IsoDrink-L в течение 1 месяца. В контроле динамики не отмечалось, при этом 95 % спортсменов принимали воду и 5 % – напиток «Х». ROC-анализ показал, что критерий ИЭЧ с чувствительностью 95,8 % и специфичностью 99,4 % обнаруживает дисфункцию эндотелия. Коэффициент канонической корреляции между множеством гидратационно-зависимых и эндотелий-зависимых признаков составил R = 0,71 (p < 0,0001). Установлена опасность бесконтрольного потребления воды для регидратации у юных спортсменов, а также высокая эффективность медового изотонического напитка и обоснованность его применения для коррекции дегидратации и дисфункции эндотелия. Выявлена низкая информированность спортсменов, врачей и тренеров о важности применения эффективных методов регидратации в детском спорте.*

Заключение. *Установлено, что нарушение водного баланса у юных спортсменов прямо или косвенно способствует развитию дисфункции эндотелия, повышая тем самым сердечно-сосудистый риск. Предложены оригинальные подходы к разработке медового изотоника для спортсменов детского возраста с доказанными гидратирующими и эндотелий-защитными свойствами.*

Ключевые слова: *дегидратация, дисфункция эндотелия, детский спорт, кардиоваскулярный риск, биоимпеданс, медовый изотоник*

Для цитирования: Ким В.Н., Кривулина Г.Б., Просекин Г.А. Влияние обезвоживания на развитие дисфункции эндотелия у юных спортсменов: сравнительный анализ эффективности нового медового изотонического напитка и общепринятых средств восстановления водно-электролитного баланса. *Acta biomedica scientifica.* 2020; 5(5): 86-98. doi: 10.29413/ABS.2020-5.5.12

The Effect of Dehydration on the Development of Endothelial Dysfunction in Young Athletes: a Comparative Analysis of the Effectiveness of a New Honey Isotonic Drink and Standard Means of Restoring Hydro-Electrolytic Balance

Kim V.N., Krivulina G.B., Prosekin G.A.

Siberian State Medical University, Tomsk, Russia (2 Moskovsky tract, Tomsk 634055, Russian Federation)

Corresponding author: Vitaliy N. Kim, e-mail: doctorkim@rambler.ru

Abstract

Aim of the research. *To prove the effectiveness of using isotonic honey drink "Gold F25 IsoDrink Light" (IsoDrink-L) based on the study of the hydration process and endothelial function in young athletes.*

Materials and methods. *A randomized controlled study was performed in young athletes under the age of 18 years. Athletes of the main group (n = 40) consumed IsoDrink-L for a month; athletes of the control group (n = 34) consumed water and isotonic drink "X". A bioimpedance-based device was used to determine the total amount of water, the absolute and relative proportions of intra- and extracellular water, as well as the ratio of extracellular water to the total amount of water. Hematocrit, specific gravity and color of morning urine, samples with reactive hyperemia and hyperventilation in the brachial artery, including the determination of the endothelial sensitivity index were assessed.*
Results. *All athletes had dehydration in the form of extracellular dehydration, cellular hyperhydration, "blood thickening", hyponatremia, increased specific gravity and urine color, as well as endothelial dysfunction. All symptoms disappeared after using IsoDrink-L for 1 month. No dynamics was observed in the control group, where 95 % of the athletes took water and 5 % – isotonic drink "X". ROC analysis showed that the endothelial sensitivity index with a sensitivity of 95.8 % and a specificity of 99.4 % detects endothelial dysfunction. The canonical correlation coefficient between the set of hydration-dependent and endothelium-dependent signs was R = 0.71 (p < 0.0001). We established the danger of uncontrolled water consumption for rehydration in young athletes, as well as the high efficiency of isotonic honey drink and the evidence for its use for the correction of dehydration and endothelial dysfunction. A low awareness of athletes, doctors and coaches about the importance of using effective methods of rehydration in children's sports was revealed.*
Conclusion. *It was found that water imbalance in young athletes directly or indirectly contributes to the development of endothelial dysfunction, thereby increasing cardiovascular risk. Original approaches to the development of honey isotonic drink for young athletes with proven hydrating and endothelium-protective properties are proposed.*

Key words: *dehydration, endothelial dysfunction, children's sports, cardiovascular risk, bioimpedance, honey isotonic drink*

For citation: Kim V.N., Krivulina G.B., Prosekin G.A. The Effect of Dehydration on the Development of Endothelial Dysfunction in Young Athletes: a Comparative Analysis of the Effectiveness of a New Honey Isotonic Drink and Standard Means of Restoring Hydro-Electrolytic Balance. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(5): 86-98. doi: 10.29413/ABS.2020-5.5.12

ВВЕДЕНИЕ

Охрана здоровья подрастающего поколения определяет будущее любой страны. Вместе с тем отчёты о состоянии детского здоровья, особенно среди учащихся, выявляют стойкую тенденцию к ухудшению его показателей в последние годы, в том числе широкую распространённость факторов риска развития атеросклероза [1]. И, поскольку именно в детстве закладывается фундамент здоровья и физического развития каждого индивидуума, приобретённые в детском возрасте отклонения в здоровье оказываются наиболее стойкими. В то же время, хотя и известно, что занятия спортом и физической культурой особенно важны для роста и формирования детского организма, из-за ранней спортивной специализации и широкого применения, значительных по объёму и интенсивности физических нагрузок проблемы медицинского обеспечения и медико-биологической поддержки в детско-юношеском спорте становятся всё более актуальными [2].

Одной из таких проблем является дегидратация организма спортсменов из-за перспирационных потерь и недостаточного потребления жидкости во время и после тяжёлой физической работы, в то время как современный научный консенсус предупреждает о том, что лимитирование работоспособности и ухудшение здоровья спортсменов высокой квалификации начинается с уровня потери воды, равного 2 % и выше [3]. Это особенно актуально для детского спорта, поскольку, в отличие от взрослых атлетов, спортсменам пре- и пубертатного возраста необходимо больше жидкости, поскольку чувство жажды у них возникает позднее [4]. В этой связи следует учитывать, что суммарные потери воды и натрия во время умеренной нагрузки длительностью 60 мин при температуре 20–25 °C даже у юных спортсменов могут достигать 1 л и более [5]. В результате развиваются дегидратация и гипонатремия вплоть до возможности развития тяжёлых форм энцефалопатии и неотложной угрозы для жизни спортсменов вследствие теплового удара [6]. При этом, хотя среди клинических проявлений обезвоживания превалируют неврологические симптомы, начальные нарушения возникают именно в кардиоваскулярной системе [7]. Наблюдаются тахикардия, полицитемическая гиповолемия, сгущение крови, гипотония и олигурия. Повышение при этом содержания аргинина, вазопрессина и гиперактивность ренин-ангиотензин-альдостеронового механизма, изначально направленного на срочное и адекватное восстановление содержания общей, вне- и внутриклеточной воды, начинает оказывать неблагоприятное влияние прежде всего на функцию системы кровообращения. Первым в этой ситуации страдает эндотелий, непосредственно участвующий в регуляции водно-электролитного баланса. В частности, результаты современных исследований показали, что гипернатремия приводит к повреждению эндотелиального гликокаликса и способствует нарушению реакции эндотелия на сдвиговую деформацию кровотока [8]. С другой стороны, межклеточные щели эндотелиального слоя, сквозь которые свободно перемещаются низкомолекулярные водорастворимые компоненты, такие как натрий, калий, хлор и глюкоза, испытывают на себе дополнительную нагрузку вследствие избыточного осмотического градиента и гидростатического давления [9]. В то же время установлено, что только интактный эндотелий через гликокаликс способен «чувствовать» напряжение сдвига, создаваемое кровотоком, и уменьшать влияние ангиотензин-превращающего фермента на сосуды [10]. Если учесть, что высокоинтенсивная физическая нагрузка вызывает оксидативный стресс с интенсификацией перекисного окисления липидов, гиперактивность симпатоадреналовой системы и артериальную гипертензию, когда мишенью и триггером выступает дисфункция эндотелия (ДЭ) [11], становится очевидным, что оценка его функции в условиях обезвоживания может представлять высокий научный и практический интерес.

Ещё одной актуальной проблемой является то, что количество спортсменов высокой квалификации в возрасте до 18 лет в общей популяции атлетов в последнее время прогрессивно увеличивается. В то же время специализированные продукты для питания спортсменов (СППС) детского возраста, включая изотонические напитки, практически отсутствуют. На рынке представлены товары главным образом зарубежного производства,

а доля отечественных спортивных напитков крайне мала [12]. Поэтому результаты настоящей работы могут внести конкретный вклад в улучшение сложившейся ситуации.

Исследование проведено в рамках прикладных НИР на основе соглашения о сотрудничестве РНИМУ им. Н.И. Пирогова, ФНКЦСМ ФМБА России, СибГМУ, Югорского колледжа-интерната олимпийского резерва (ЮКИОР) и производителя продуктов питания на основе апифитокомпонентов «Тенториум». Выдвинута рабочая гипотеза, согласно которой потери жидкости, снижение осмолярности и сгущение крови вследствие перспирационных потерь воды и натрия (гипоосмолярный синдром) [13], а также недостаточного потребления изотоников во время и после нагрузки могут стать причиной гипергидратации и дисфункции эндотелиальных клеток на фоне дегидратации внеклеточного пространства организма.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Главной целью работы стало обоснование эффективности по сравнению со стандартными средствами гидратации использования медового изотонического напитка «Gold F25 IsoDrink Light» (IsoDrink-L) на основе сравнительного изучения изменений степени гидратации и функции эндотелия у юных спортсменов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В 2017–2019 гг. на площадке ЮКИОР г. Ханты-Мансийска выполнено рандомизированное когортное контролируемое исследование среди спортсменов от 15 до 18 лет, у которых предварительно получено информированное согласие на участие в исследовании. Рандомизацию проводили с помощью случайных чисел согласно спискам обучающихся. В основную группу вошли 40 человек (хоккеисты, пловцы, лыжники и биатлонисты в возрасте 17,5 ± 0,4 года; мужчин – 91,4 %) с длительностью приёма IsoDrink-L 30 дней. Группу контроля составили 34 спортсмена (хоккеисты, пловцы, лыжники и биатлонисты в возрасте 17,3 ± 0,5 года, мужчин – 89 %), которые использовали методы регидратации, принятые в ЮКИОР: изотоник «Х» и воду. Доля спортсменов с квалификацией «кандидат в мастера спорта» и выше в основной группе составила 41,0 %, в контрольной – 39 %. Сравниваемые группы были однородными по возрасту, полу, видам спорта и мастерству, т. е. имеются полные основания говорить о репрезентативности выборок.

Гидратацию изучали с помощью оценки состава тела на приборе «InBody 770», при этом в число изучаемых показателей вошли: общее количество жидкости (ОКЖ), внутри- (ВнутрКЖ) и внеклеточная (ВнеКЖ) жидкость, а также фактическое соотношение ВнеКЖ/ОКЖ. Выполняли анкетирование по опросному листу [14] с оценкой водно-солевого баланса во время и после нагрузки, осведомлённости о средней потере воды за тренировку, характера восполнения потерь жидкости во время нагрузки, характеристикой подходов к восполнению жидкости после нагрузки, а также с указанием информации о восполнении потери воды во время работы и марки регидратирующего напитка. Кроме того, проводили пробу с реактивной гиперемией плечевой артерии (ПРГ ПА) [15] для оценки эндотелий-зависимой вазодилатации (ЭЗВД) с расчётом напряжения сдвига [16] и коэффициента чувствительности (К) артерии к напряжению сдвига, а также пробу с гипервентиляцией (ПГВ) для оценки эндотелий-зависимой вазоконстрикции (ЭЗВК) ПА [17]. На основании данных по ЭЗВД и ЭЗВК по методу В.Н. Кима с соавт. [18] определяли индекс эндотелиальной чувствительности (ИЭЧ), характеризующий готовность ПА к спазму, по формуле:

$$ИЭЧ = \frac{К(ПГВ)}{К(ПРГ)},$$

где: К *(ПГВ)* – коэффициент чувствительности эндотелия к напряжению сдвига с учетом напряжения сдвига и изменения диаметра ПА на 5 мин ПГВ; К *(ПРГ)* – коэффициент чувствительности эндотелия к напряжению сдвига с учётом сдвига (на первых секундах пробы) и изменения диаметра плечевой артерии на 75 сек ПРГ. При значении ИЭЧ < –1,89 чувствительность эндотелия считалась низкой.

Также проводили оценку показателей общего анализа крови, удельного веса и цветности утренней мочи по цветной карте (в баллах). Все исследования выполняли до и после курса использования IsoDrink-L (из расчёта по 50 г в сутки: 5 мерных ложек, разведённых в 1 л холодной воды).

Таблица 1

Энергетическая ценность и химико-аналитический состав IsoDrink-L

Table 1

Energy value and chemical composition of the IsoDrink-L

Показатель	Содержание концентрата		Доля от РУСП* в порции 25 г на 0,5 л воды, %
	на 100 г концентрата	в порции 25 г на 0,5л воды	
Углеводы (г), в т. ч.	88	22	
фруктоза, г	45,0	11,25	6
глюкоза, г	42,0	10,5	34**
сахароза, г	1,0	0,25	36**
Натрий, мг	1250	350	24**
Магний, мг	15	4	1*
Кальций, мг	350	88	9*
Калий, мг	350	88	4*
Хлориды, мг	2590	648	–
Энергетическая ценность, ккал/кДж	360/1480	90/376	–

Примечание. * – РУСП, рекомендуемый уровень суточного потребления по ТР ТС 022/2011; ** – Приложение № 5 (2011)

Использование IsoDrink-L в дни тренировок проводили по следующей схеме: во время тренировки и в течение двух часов после нагрузки: во время тренировок – 400 600 мл в час (100–150 мл мелкими глотками каждые 20 мин); после тренировок – по 100–150 мл каждые 30 мин. Новый изотоник прошёл экспертизу на соответствие заявленных ингредиентов и изоосмоляльность (325 ± 6 ммоль/кг воды) в ФИЦ «Питания и биотехнологий» и рекомендован к применению спортсменами с 14 лет. В таблице 1 приведены химико-аналитический состав, пищевая, энергетическая ценность и рекомендуемый уровень суточного потребления ингредиентов изотоника IsoDrink-L.

Статистический анализ осуществляли совместно с Центром «Биостатистика» под руководством к.т.н. доцента ФГАОУ ВО ТГУ В.П. Леонова с использованием пакетов SAS 9.4, Statistica 12, IBM-SPSS-24. За критическое значение уровня статистической значимости принимали 0,05. Применяли анализ ANOVA, критерии Краскела – Уоллиса и Ван дер Вардена. Дескриптивные статистики приведены в тексте как $M \pm m$, где M – среднее, m – ошибка среднего. Также использовали коэффициент Спирмена, анализ канонических корреляций и ROC-анализ.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При анализе исходных показателей распределения жидкости в организме, полученных с помощью биоимпедансных технологий, у всех юных спортсменов до применения изотоника IsoDrink-L в сравнении с референсными значениями (рис. 1–3) были отмечены признаки дегидратации.

Согласно полученным результатам, более значимые сдвиги наблюдались у лыжников, хоккеистов и биатлонистов, когда содержание общего количества, а также внутриклеточной и внеклеточной воды в организме находилось на верхней границе или выше референсных значений. В то же время соотношение ВнеКЖ/ОКЖ оказалось на нижней границе нормального диапазона (0,360–0,390), составив у лыжников 0,361, у хоккеистов – 0,361, у биатлонистов – 0,363, у пловцов – 0,368 ($p < 0,0001$). Таким образом, данные биоимпедансных исследований свидетельствовали о нарушении распределения воды и состоянии дегидратации организма даже у совсем юных спортсменов.

Учитывая обнаруженные факты, для дальнейшей оценки нарушенной гидратации мы для трактовки полученных данных обратились к основам физиологии распределения воды в организме (табл. 2).

В таблице 2 отображено нормальное распределение внутриклеточной и внеклеточной воды, подчинённое физиологическим константам [9] и формирующее водно-электролитный баланс. Так, из таблицы видно, что соотношение относительных долей ВнутрКЖ/ВнеКЖ в норме составляет 1,5 (36/24), и точно столько же (1,5 (60/40)) составляет соотношение абсолютных долей ВнутрКЖ/ВнеКЖ. При этом у всех спортсменов до начала курса IsoDrink-L отмечается отклонение от физиологических констант соотношений абсолютных долей в общем

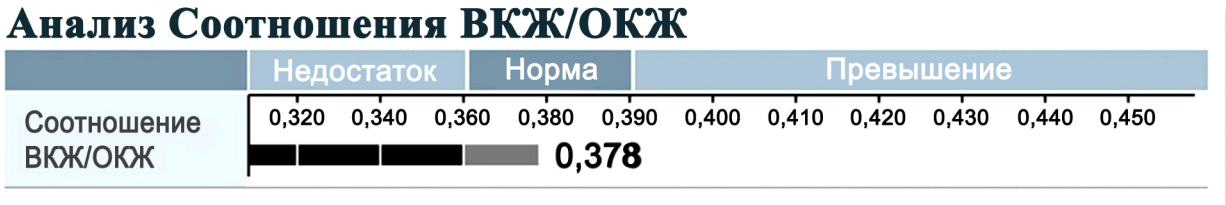


Рис. 1. Отчёт «InBody 770»: нормальное соотношение ВнеКЖ/ОКЖ в среднем составляет 0,378 (диапазон нормы – от 0,360 до 0,390).

Fig. 1. "InBody 770" report, normal ECW/TBW (extracellular water/total body water) ratio: left side of the scale – low indicator (< 0.360); middle part – normal ECW/TBW ratio (0.360–0.390; average 0.378); right side of the scale – excessive indicator (> 0.390).

Рис. 2. Распределение воды в организме у хоккеистов и лыжников. Здесь и на рис. 3: в круге (сверху вниз) – ОКЖ, ВнутрКЖ, ВнеКЖ; в овале – соотношение ВнеКЖ/ОКЖ.

Fig. 2. Body fluid distribution in hockey players and skiers. Here and on figure 3: in a big circle (from top to bottom) – TBW (total body water), ICW (intracellular water), ECW (extracellular water); in an oval –ECW/TBW ratio.

Рис. 3. Распределение жидкости в организме у биатлонистов и пловцов.
Fig. 3. Body fluid distribution in biathletes and swimmers.

Таблица 2

Распределение жидкости в организме (по Э. Морган-мл., С.М. Мэгид [9])

Table 2

Body fluid distribution (according to E. Morgan Jr., S.M. Magid [9])

Параметр	Внутриклеточная жидкость	Внеклеточная жидкость	
		интерстициальная	сосудистая
Относительное содержание в организме (% от массы тела)	**36**	19	5
		24	
Абсолютная доля в общем объёме (%)	**60**	32	8
		40	
Объём (л)	25	13,5	3,5

Таблица 3

Фактическое соотношение абсолютных и относительных долей внутриклеточной и внеклеточной воды в основной группе до и после приёма IsoDrink-L (n = 40) (M ± m)

Table 3

Actual ratio of absolute and relative shares of intracellular and extracellular water in the main group before and after taking IsoDrink-L (n = 40) (M ± m)

До приёма изотоника				После приёма изотоника			
абс. доля ВнутрКЖ, %	абс. доля ВнеКЖ, %	факт. отн. ВнутрКЖ/ВнеКЖ	*p*	абс. доля ВнутрКЖ, %	абс. доля ВнеКЖ, %	факт. отн. ВнутрКЖ/ВнеКЖ	*p*
63,8 ± 1,2	36,0 ± 0,7*	1,8	< 0,0001	61,2 ± 1,1**	38,1 ± 1,4**	1,6	0,25
отн. доля ВнутрКЖ, %	**отн. доля ВнеКЖ, %**	**факт. отн. ВнутрКЖ/ВнеКЖ**	***p***	**отн. доля ВнутрКЖ, %**	**отн. доля ВнеКЖ, %**	**факт. отн. ВнутрКЖ/ВнеКЖ**	***p***
42,5 ± 1,3*	22,3 ± 0,5*	1,9	< 0,0001	38,1 ± 1,3**	24,0 ± 1,2**	1,6	0,19

Примечание. *p* – уровень статистической значимости $p < 0,05$ при сравнении фактического соотношения с физиологической константой (1,5); *, ** – $p > 0,05$ при сравнении абсолютных и относительных долей с физиологическими константами ВнутрКЖ и ВнеКЖ соответственно

объёме и относительных долей от массы тела (табл. 3), которые по факту составили 1,8 и 1,9 ($p < 0,0001$).

Также были изменены значения абсолютных и относительных долей внутриклеточной и внеклеточной жидкости. В частности, исходно наблюдалось снижение абсолютной доли внеклеточной воды до 36,0 % (референсное значение – 40% ($p < 0,05$); дефицит –10 %) и небольшое превышение (до 63,8 %) абсолютной доли внутриклеточной воды над референсным значением (60 %). При этом относительная доля внеклеточной воды была несколько снижена до 22,3 % (референсное значение – 24%). Относительная доля внутриклеточной жидкости от массы тела была существенно превышена до 42,5 % (норма – 36 % ($p < 0,0001$); избыток +18 %). Вместе с тем очень важно отметить, что через 1 месяц тренировок на фоне применения IsoDrink-L отмечалась положительная динамика значений ВнутрКЖ и ВнеКЖ и фактического соотношения абсолютных и относительных долей этих показателей. Когда фактические показатели содержания и распределения воды в организме практически вернулись к своим физиологическим константам, тем самым была продемонстрирована высокая эффективность медового изотоника IsoDrink-L. Этого нельзя было сказать о группе контроля, в которой спортсмены на протяжении одного месяца использовали централизованно приобретаемый колледжем изотонический напиток «Х», а также применя-

Таблица 4

Показатели значений гематокрита и натрия крови, удельной плотности и цвета утренней мочи в основной группе до и после использования IsoDrink-L (n = 40) (M ± m)

Table 4

Values of blood hematocrit, blood sodium level, urina specific density and first-void urine color in the main group before and after using IsoDrink-L (n = 40) (M ± m)

Показатели	До приёма изотоника			После приёма изотоника		
	по факту	норма	*p*	по факту	норма	*p*
Гематокрит, %	50,09 ± 1,8	46,0	< 0,005	44,5 ± 1,8*	46,0	0,35
Натрий, ммоль/л	142,0 ± 1,9	140	0,54	139,0 ± 1,8	140	0,76
Плотность мочи, г/л	1,030 ± 0,001	1,020	< 0,005	1,024 ± 0,001*	1,020	0,66
Цвет мочи, баллы	5,9 ± 0,3	3	< 0,0001	4,7 ± 0,2*	3,0	< 0,005

Примечание. * – $p < 0,05$ при сравнении фактических значений до и после применения изотоника

Таблица 5

Эндотелий-зависимые показатели у спортсменов в исходном состоянии (M ± m)

Table 5

Endothelium-dependent indicators in athletes in the initial state (M ± m)

Показатели	Основная группа (*n* = 40)	Контрольная группа (*n* = 34)	*p*
ИЭЧ, усл. ед.	–6,1 ± 0,5	–6,1 ± 0,6	0,97
ЭЗВДПА 75 с ПРГ, %	7,5 ± 0,7*	7,8 ± 0,9*	0,0001
VpsПА 75 с ПРГ, см/сек	65,6 ± 4,9	63,1 ± 5,1	0,71
Сдвиг 15 с ПРГ, дин/см^2	43,53 ± 6,1*	44,01 ± 5,7*	0,45
ЭЗВК ПА 5 мин ПГВ, %	–9,1 ± 0,8*	–9,8 ± 1,2*	0,0001
Vps ПА 5 мин ПГВ, см/сек	48,3 ± 1,8	49,5 ± 2,1*	0,01
Сдвиг 5 мин ПГВ, дин/см^2	29,38 ± 4,8	30,04 ± 3,5	0,49
К (ПРГ), усл. ед.	0,1 ± 0,02	0,1 ± 0,05	0,91
К (ПГВ), усл. ед.	–0,61 ± 0,1	–0,62 ± 0,2	0,83

Примечание. * – $p < 0,05$ в сравнении с нормой (Celermajer D.S. et al., 1992; Nacao K. et al., 1997)

ли с целью регидратации организма обычную и бутилированную воду. Поэтому какой-либо позитивной динамики со стороны биоимпедансных параметров в контроле не наблюдалось, что было вполне ожидаемо.

Вместе с тем оценка показателей гематокрита и уровня натрия в крови, удельного веса и цвета утренней мочи подтвердила наличие сгущения крови и водно-электролитного дисбаланса у всех спортсменов, а также показала высокую эффективность применения IsoDrink-L (табл. 4). При этом в основной группе величины показателей гематокрита и натрия после коррекции оказались даже несколько ниже референсных уровней, включая также сравнительные данные с показателями до начала потребления изотоника.

В то же время у спортсменов в группе контроля через месяц тренировок на фоне приёма напитка «Х» и воды вышеназванные показатели очень незначительно отличались от исходных значений. При этом результаты опроса относительно способов регидратации показали, что 95 % юных спортсменов регулярно употребляли воду и только 5 % атлетов высокой квалификации использовали напиток «Х». Также было отмечено, что спортсмены имели слабое представление о средствах и способах регидратации и потребляли малые объёмы жидкостей во время и после нагрузок (45 % использовали менее 0,5 л во время и 73 % – менее 0,5 л после тренировочного занятия). От 0,5 до 1 л жидкости, главным образом, питьевой или бутилированной воды, потребляли лишь 25 % спортсменов во время и 30 % спортсменов – после тренировочных занятий.

Помимо этого, анализ исходных показателей проб с реактивной гиперемией и гипервентиляцией показал, что практически у всех спортсменов в исходном состоянии отмечалось нарушение ЭЗВД и ЭЗВК (табл. 5), что свидетельствовало о наличии дисфункции эндотелия.

В частности, показатель ЭЗВД в основной группе составил 7,5 %, в контрольной – 7,8 % (при норме 10 % и более; $p = 0,0001$). Значение ЭЗВК, характеризующее готовность ПА к спазму, в группах было более чем в 3 раза выше референсных значений (–3,0 %), составляя –9,1 % в основной группе и –9,8 % – в контрольной (различия по сравнению с референсными значениями статистически значимы; $p = 0,0001$).

Также отмечалось статистически значимое увеличение пиковой скорости кровотока в плечевой артерии на фоне пробы с гиперемией и снижение скорости кровотока на фоне пробы с гипервентиляцией. При этом было обнаружено, что исходный уровень ЭЗВД во время ПРГ при одинаковом напряжении сдвига на эндотелии оказался в 1,6 раза ниже, чем в норме, тогда как ЭЗВК во время ПГВ, то есть глубина ангиоспазма, была примерно в 3 раза выше, чем в норме. Учитывая полученные данные, далее с помощью ROC-анализа была определена чувствительность и специфичность ультразвуковых критериев, применяемых для диагностики ДЭ: коэффициента чувствительности эндотелия во

время ПРГ и индекса эндотелиальной чувствительности (табл. 6; рис. 4).

Таблица 6

Оценка чувствительности, специфичности, значимости и информативности ультразвуковых критериев в диагностике ДЭ по всей выборке (n = 74)

Table 6

Sensitivity, specificity, significance and informational content of ultrasound criteria in the diagnosis of endothelial dysfunction for the entire sample (n = 74)

Критерий	Ч (%)	С (%)	З	И
К (ПРГ)	84,5	92,2	4,91	86,7
ИЭЧ	95,8	99,4	16,81	93,5

Примечание. Ч – чувствительность; С – специфичность; З – значимость; И – информативность.

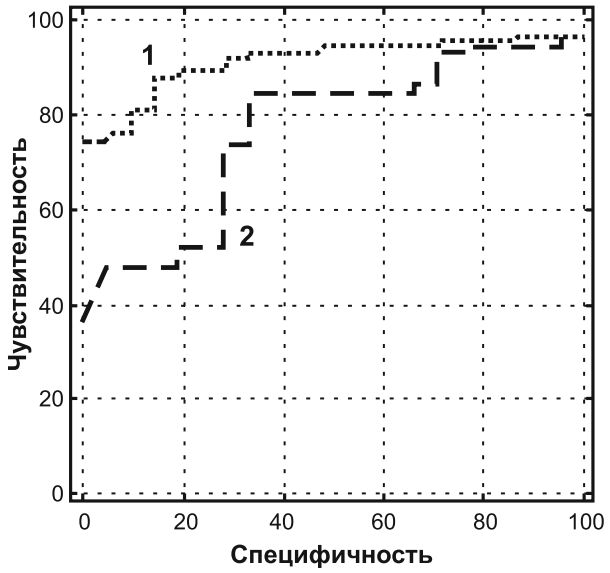


Рис. 4. Сравнение эффективности ультразвуковых критериев в оценке дисфункции эндотелия с помощью ROC-анализа: 1 – ИЭЧ; 2 – К (ПРГ).

Fig. 4. Comparison of the efficiency of ultrasound criteria in the diagnosis of ED using ROC analysis: 1 – endothelial sensitivity index; 2 – coefficients of the sensitivity of the endothelium to shear stress at the peak of the sample of reactive hyperemia.

Результат сравнения продемонстрировал, что наибольшей чувствительностью и специфичностью обладал диагностический ультразвуковой критерий – индекс эндотелиальной чувствительности (95,8 % чувствительности и 99,4 % специфичности). Таким образом, с помощью анализа критерия ИЭЧ было выяснено, что у 11,3 % юных спортсменов с показателем ЭЗВД не ниже 10 %, тем не менее, имела место эндотелиальная дисфункция с доминирующим ангиоспазмом, что указывает на тот важный факт, что распространённость ДЭ у юных спортсменов в состоянии дегидратации приближалась к 100 %.

Вместе с тем важные данные относительно дисфункции эндотелия были получены после приёма IsoDrink-L у лиц в основной группе (табл. 7).

В частности, заслуживала внимания высокая эффективность восстановления функции эндотелия, причём как дилататорного, так и констрикторного компонентов, после курсового приёма IsoDrink-L в основной группе. Уровень ЭЗВД характеризовался не только нормализацией, но и приростом 70 % (с 7,5 до 12,8 %; $p = 0{,}0001$), а ЭЗВК снизилась в 3 раза (с –9,1 до –3,1 %; $p = 0{,}0001$). На этом фоне нормализовалась пиковая скорость кровотока на фоне как ПРГ, так и ПГВ. При этом чувствительность эндотелия к сдвигу на гиперемию возросла вдвое (с 0,1 до 0,2 усл. ед.; $p = 0{,}0001$), чувствительность эндотелия к сдвигу на гипервентиляцию увеличилась на 18 % (с –0,61 до –0,52 усл. ед; $p = 0{,}001$), а ИЭЧ возрос больше чем в 2,3 раза (с –6,1 до –2,6 усл. ед.; $p = 0{,}0001$).

Учитывая полученные данные и логическую цепочку развития дисфункции эндотелия на фоне обезвоживания, нами был выполнен анализ канонических корреляций, основной целью которого стало обнаружение многофакторных взаимосвязей всех количественных признаков, определяющих дегидратацию и эндотелиальную дисфункцию до и после применения медового изотоника. На рисунке 5 хорошо видно, как множество признаков после использования IsoDrink-L (красные квадратики) оказались на значительном удалении от исходных параметров (синие кружочки) и фактически приблизились к множеству признаков референсных значений (черные кружочки; $R = 0{,}71$; $p < 0{,}0001$).

Таблица 7

Эндотелий-зависимые показатели в основной группе до и после приёма IsoDrink-L (M ± m)

Table 7

Endothelium-dependent indicators in the main group before and after taking IsoDrink-L (M ± m)

Показатель	До приёма СППС (n = 40)	После приёма СППС (n = 40)	p
ИЭЧ, усл. ед.	–6,1 ± 0,5	–2,6 ± 0,4**	0,0001
ЭЗВДПА 75 с ПРГ, %	7,5 ± 0,7	12,8 ± 1,3**	0,0001
Vps ПА 75 с ПРГ, см/с	65,6 ± 4,9	49,9 ± 3,5**	0,0001
Сдвиг 15 с ПРГ, дин/см^2	43,53 ± 6,1	44,67 ± 5,8	0,75
ЭЗВК ПА 5 мин ПГВ, %	–9,1 ± 0,8	–3,1 ± 1,1**	0,0001
Vps ПА 5 мин ПГВ, см/с	48,3 ± 1,8	54,3 ± 1,6**	0,01
Сдвиг 5 мин ПГВ, дин/см^2	29,38 ± 4,8	28,05 ± 4,2	0,85
К (ПРГ), усл. ед.	0,1 ± 0,02	0,2 ± 0,05**	0,0001
К (ПГВ), усл. ед	–0,61 ± 0,1	–0,52 ± 0,1**	0,001

Примечание. ** – $p > 0{,}05$ в сравнении с нормой (Celermajer D. S. et al., 1992; Nacao K. et al., 1997)

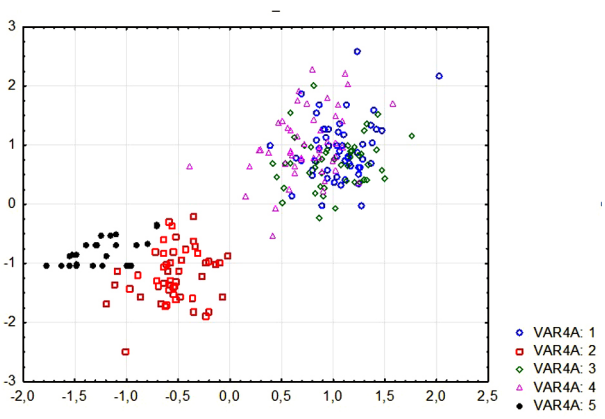


Рис. 5. Анализ канонических корреляций по всему массиву данных ($n = 74$): 1 и 2 – признаки до и после приёма IsoDrink-L в основной группе; 3 и 4 – признаки до и после приёма воды и изотоника «X» в контрольной группе; 5 – признаки референсных значений.

Fig. 5. Analysis of canonical correlations across the entire data set ($n = 74$): 1 and 2 – before and after taking IsoDrink-L in the main group; 3 and 4 – before and after drinking water and isotonic drink «X» in the control group; 5 – reference values.

В это же время исходное множество признаков группы контроля (зелёные ромбики) и признаки через один месяц (сиреневые треугольники) остались в исходной позиции. Таким образом, с помощью многомерного анализа удалось не только обнаружить множественную корреляцию ДЭ с дегидратацией у юных спортсменов, но также доказать эффективность изотоника IsoDrink-L, разработанного нами для юных спортсменов.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

Прежде всего, следует подчеркнуть что, несмотря на регулярное потребление изотоника и воды, в течение годичного макроцикла подготовки у всех спортсменов наблюдались инструментально-лабораторные признаки дегидратации. Выяснилось, что обезвоживание может наступать у юных атлетов высокой квалификации даже тогда, когда они регулярно применяют средства регидратации. Более того, результаты исследования показывают, что у спортсменов, напротив, отмечалось даже превышение общего количества жидкости в организме за счёт опасной внутриклеточной гипергидратации и небольшой внеклеточной гипогидратации. Причём гипергидратация касалась именно воды, что также опасно в условиях дефицита соли, как и недостаточное потребление жидкостей [21]. Механизм этого нарушения объясняется возникновением гипонатремии, вызванной перспирационными потерями натрия и воды, полидипсией, гиповолемией и относительной гемодилюцией вплоть до развития тяжёлой гипонатремии, энцефалопатии и жизнеугрожающего состояния спортсменов [6].

Вместе с тем результаты нашей работы продемонстрировали, что имеет значение не только фактический объём утраченной и восполненной жидкости, но также и характер её распределения в организме. В связи с этим следует с осторожностью применять простую стратегию регидратации, не учитывающую распределение воды в организме. Необходимо вести учёт разницы массы тела до и после интенсивной работы, обязательно контролируя величину потери массы тела (не должна превышать 2 %) [3]. Однако нужно отметить, что учёт распределения воды в организме стал возможным лишь в последнее время, когда в практику начали внедряться высокотехнологичные биоимпедансные приборы с более точной оценкой состояния гидратации.

Так, в 2018 г. [22] было выполнено описание биоимпедансного вектора всего тела с учётом оценки массы тела спортсменов. С помощью данной методики была выявлена задержка воды в организме, хотя масса тела оставалась ещё низкой из-за наличия дегидратации. Было установлено, что динамика импедансного вектора соответствовала потере воды, вызванной этим событием, и, значит, биоимпедансный способ давал возможность получить дополнительные и детальные сведения по изменениям в степени гидратации по сравнению с информацией только о динамике массы тела спортсменов при использовании более «старой» аппаратуры.

Исходя из этого, полученные нами данные биоимпедансного определения количества и распределения жидкости в организме атлетов позволили детализировать хорошо известные физиологические процессы. В частности, было показано, что перспирационные потери воды и натрия всегда приводят к сокращению объёма внеклеточной воды, причём её остаточное содержание пропорционально уровню потери натрия. Внутри- и внеклеточная жидкость всегда уравновешивается равным количеством осмотически активных катионов натрия во внеклеточной области и калия в клетке (закон электронейтральности и изоосмоляльности). Сохраняют этот баланс мембраносвязанная Na^+/K^+-аденозинтрифосфатаза и противоположное движение натрия и калия в соотношении 3:2. Благодаря этому калий-натриевому насосу клеточная мембрана является легко проницаемой для ионов K^+ на вход и активной для ионов Na^+ на выход из клетки. Поэтому калий накапливается в клетке, а натрий – во внеклеточной жидкости. При этом натрий и электролиты могут свободно перемещаться из интерстиция сквозь капиллярную стенку в сосудистый кровоток и обратно, чем, собственно, и объясняется практически идентичный электролитный состав плазмы и внеклеточной жидкости. Поэтому увеличение и уменьшение объёма внеклеточной воды происходит одновременно и соразмерно в сосудистом и межклеточном пространствах. А следовательно, состояние дегидратации – это результат водно-электролитного дисбаланса, в котором главную роль играют электролиты, создающие осмотический градиент, благодаря которому вода всегда движется в сторону большей осмоляльности, то есть туда, где больше осмотически активных катионов. Поэтому можно с уверенностью сказать, что в нашем исследовании у всех спортсменов в исходном состоянии имели место гипонатремия, полицитемическая гиповолемия, ухудшение реологического состояния крови и её «сгущение», а также снижение содержания ионов натрия и воды в интерстициальном и сосудистом пространствах. То есть, по закону изоосмоляльности вода начала перемещаться внутрь клетки, где осмоляльность больше, чтобы её уменьшить и уравновесить с пониженной осмоляльностью внеклеточной жидкости. Кроме того, благодаря работе калий-натриевого насоса, ионы Na^+, согласно закону электронейтральности, стали выводиться из клетки, с тем чтобы повысить осмоляльность внеклеточной воды, но этого в связи с одновременной перспирационной потерей натрия оказалось недостаточно. Вот почему если продолжить употреблять чистую

воду, это приведёт лишь к увеличению гипергидратации клеток и обезвоживанию интерстициального пространства. В результате этого проявления водно-электролитного дисбаланса лишь усилятся.

Таким образом, полученные данные полностью совпадают с результатами работы T. Hew-Butler et al. [6], а выявленные нами факты дополнительно непосредственно указывают на серьёзную проблему необходимости контролируемой регидратации в детском спорте. Подтверждением сказанному могут служить найденные обратные корреляции фактического соотношения показателя гематокрита с объёмом внеклеточной и общей воды ($r_1 = –0,71$; $p < 0,0001$) и долей внеклеточной воды ($r_2 = –0,65$; $p < 0,0001$). Были обнаружены значимые корелятивные связи соотношения объёма внеклеточной и общей воды с удельным весом мочи ($r_3 = –0,74$; $p < 0,0001$) и её цветом ($r_4 = –0,65$; $p < 0,0001$), включая прямые корреляции доли внутриклеточной жидкости с удельным весом мочи ($r_5 = 0,79$; $p < 0,0001$) и её цветом ($r_6 = 0,87$; $p < 0,0001$). При этом показательным оказалось то, что выявленные корреляции связывали величины разных диагностических подходов с данными биоимпедансной оценки количества воды и её распределения в организме юных спортсменов до и после курсового употребления IsoDrink-L. Это лишь свидетельствовало о высокой регидратирующей эффективности изотонического медового напитка, а также указывало на диагностическую информативность биоимпедансных технологий оценки гидратационного статуса у спортсменов.

Вместе с тем полученные факты о дегидратации организма юных спортсменов прямо затрагивали важную и недостаточно исследованную область знаний, а именно возможность негативного влияния обезвоживания на функцию сосудистого эндотелия, что представляется весьма логичным, поскольку эндотелий – это сложная и весьма уязвимая составляющая функционального состояния сосуда, и поэтому дисфункция эндотелия является ключевым фактором кардиоваскулярного риска как у спортсменов, так и у лиц, не связанных с физической активностью [10, 11, 15, 16, 18, 23]. В этой связи полученные в работе данные дают основание утверждать, что причиной ДЭ у юных спортсменов стало снижение чувствительности эндотелия к напряжению сдвига на гиперемию и гипервентиляцию, сформировавшее вазоспастический тип регионарного кровообращения. А следовательно, можно полагать, что эндотелиоциты могут подвергаться перенапряжению, точнее «перестимулированию», на фоне эугидратированного статуса спортсменов и тем более при обезвоживании и сгущении крови. Такая ситуация возникает, когда регулярно повторяющееся резкое усиление напряжения сдвига на фоне интенсивной физической нагрузки больше не приводит к выработке дополнительных концентраций стимулированного оксида азота, а возможно, и снижает его продукцию. Выдвинутое утверждение подтверждается результатами работы M.R. Stacy et al. [24], в которой показано, что после 50 максимальных, эксцентрических и резких движений руки, практически на грани повреждения мышц плеча, у здоровых мужчин происходило снижение уровня ЭЗВД через 1 ч после нагрузки. При этом нарушенный показатель ЭЗВД сохраняется в течение 96 ч, ухудшение реактивности эндотелия на сдвиговое напряжение, оцениваемое сразу после нагрузки, сохранялась в течение 48 ч ($p < 0,05$). С учётом этих фактов не возникло сомнения в том, что дегидратация в нашем исследовании могла оказывать дополнительное негативное влияние на функцию эндотелия в условиях полицитемической гиповолемии и сгущения крови, увеличивающих сдвиговую деформацию и напряжение на эндотелиальном слое.

Кроме этого, мы полагаем, что гипергидратация клеток касается не только мышечной или другой ткани, но также самих эндотелиоцитов капилляров, которые и расположены между плазмой крови и интерстицием, а следовательно, первыми испытывают градиенты давления осмотически активных веществ сосудистого и интерстициального пространства (натрий, углеводы, мочевина, альбумины и др.). Поэтому при развитии гипонатремии в клетки эндотелия, где осмоляльность оказывается повышенной, из интерстиция и сосудистого пространства начинает поступать дополнительная вода, с тем чтобы снизить концентрацию осмотически активных внутриклеточных веществ и уменьшить осмоляльность содержимого клетки. В результате на фоне усиления сгущения крови формируются гипоосмолярный синдром [9], отёк и набухание клеток, включая эндотелиоциты, со всеми вытекающими отсюда негативными последствиями. И поскольку при этом значимо увеличивается напряжение сдвига, логично полагать, что функция эндотелия в этой ситуации просто не может не нарушаться. Также мы считаем, что гипонатремия в условиях гемоконцентрации может воспроизводить эффект «относительной гипернатремии» и создавать негативное влияние натрия на гликокаликс эндотелия [8]. Это в свою очередь усиливает эффект «перестимулирования» и снижения эндотелиальной чувствительности не только в ответ на реактивную гиперемию, но также на гипервентиляцию, которая неразрывно связана с выполнением интенсивной физической нагрузки.

Именно поэтому в работе много внимания было уделено изучению сосудистой реактивности не только во время пробы с гиперемией, моделирующей феномен рабочей гиперемии работающей мускулатуры, но также во время пробы с гипервентиляцией, которая стимулирует симпатическую активность, усиливая вазоконстрикцию, тем более в состоянии обезвоживания и ДЭ. В связи с этим необходимо подчеркнуть, что наша трактовка полученных результатов тесно согласуется с мнением S.J. Trangmar, J. Gonzalez-Alonso [25]. Эти авторы показали, что заметное падение активной перфузии крови в конечностях на фоне интенсивной нагрузки, при выполнении которой задействовано максимальное количество мышечных групп, несмотря на гипертермию тела, компенсируется в том случае, если объём регидратации соответствует объёму потери жидкости. При этом фармакологически индуцированная вазоконстрикция в конечностях посредством блокады NG-монометил-L-аргинином и индометацином образовавшихся простагландинов и оксида азота приводит к снижению минутного объёма пропорционально снижению кровотока в конечностях, вызывая тем самым ухудшение параметров выносливости у спортсменов, и напротив, расширение артерий конечностей посредством воздействия АТФ и нуклеотидов, в первую очередь адениловых, увеличивает скорость и объём мышечного кровотока. Авторы цитируемой работы подчёркивают важность взаимодействия между местно образуемыми вазодила-

таторными факторами и симпатической констрикторной активностью. При этом S.J. Trangmar, J. Gonzalez-Alonso полагают, что в норме вазоконстрикция играет малую роль или вовсе не имеет значения в снижении мышечного кровотока при обезвоживании и гипертермии во время интенсивной нагрузки, считая, что вазоконстрикция – это, скорее, пассивное событие.

Однако результаты нашей работы показали, что сосудистая регуляция у юных спортсменов в условиях обезвоживания и ДЭ может нарушаться с преобладанием формирования опасного ангиоспазма, что может не только ухудшать работоспособность, но также увеличивать риск формирования кардиомиопатии перенапряжения у юных спортсменов [26], включая возникновение неблагоприятных кардиальных событий в будущем [23]. С помощью многомерного анализа нам удалось не только обнаружить множественную корреляцию ДЭ с параметрами обезвоживания у юных спортсменов, но также доказать эффективность курсового применения изотонического напитка IsoDrink-L, разработанного нами для этого метаболически легко уязвимого контингента спортсменов.

С учётом вышеизложенного следует подчеркнуть, что при разработке изотонического напитка для детей мы руководствовались оригинальными подходами, но с одновременным учётом современных требований к спортивным напиткам [19], а именно положения о том, что обязательными ингредиентами должны быть углеводы и натрий. Что касается ионов кальция, калия и магния, эти ингредиенты в составе изотонических напитков могут рассматриваться как обязательные, а могут – как факультативные [27], поскольку их восполнение должно полностью покрываться потребляемой пищей и витаминно-минеральными комплексами, соответствующими возрасту спортсменов [28, 29, 30]. Это положение является справедливым только при условии, если рацион юных спортсменов оптимален, и сбалансированное по макро- и микронутриентам питание при обоснованной организации этапов спортивной подготовки и адаптации к возрастающим нагрузкам является необходимым фактором роста и правильного развития ребёнка [5]. К сожалению, нужно отметить, что эти важные установки далеки от контролируемой практической реализации так же, как и соблюдение спортсменами питьевого режима.

Кроме того, оптимальным решением считается включение в рецептуру изотонических напитков углеводов – глюкозы и фруктозы, которые имеют разный гликемический индекс (ГИ) – 100 и 20 соответственно. Именно поэтому в составе нового изотоника нами использовался эффективный и безопасный «премикс углеводов»: запатентованный сухой медовый порошок, обогащённый фруктозой [20]. Иными словами, была применена трёхуглеводная матрица с преобладанием (до 52 %) «медленных» сахаров: фруктозы, глюкозы и сахарозы (ГИ = 65). При этом использовался мальтодекстрин, но не в качестве осмотически активного углевода, а в незначительном количестве лишь как наполнитель-носитель для абсорбции ароматических веществ и придания порошковой формы концентрату изотоника. Другим важным условием при разработке спортивного напитка для детей являлась необходимая изоосмоляльность. Такая задача была решена расчётным путём и подтверждена лабораторной методикой ФИЦ питания и биотехнологии.

Основываясь на информации о нутриентном дефиците в современном питании, особенно по минералам (макро- и микроэлементам) [5], в медовый изотоник были включены калий, кальций и магний, играющие важную роль в поддержании гидратации и физической и умственной работоспособности. Для придания приятного вкуса напитку использовали «CO_2-экстракт имбиря» и лимонную кислоту, придававшие лёгкость и свежесть при использовании, что отметили все юные спортсмены, принявшие участие в исследовании.

Вместе с тем нужно подчеркнуть, что, учитывая детский возраст спортсменов и их метаболическую в связи с этим нестабильность, а также наличие обезвоживания и ДЭ в исходных данных, в состав напитка включили маточное молочко, известное своим антиоксидантным, антигиперлипидемическим, кардио-, эндотелий-протекторным и эритропоэтическим эффектом [31, 32], а также влиянием на выработку тестостерона [33] с разрешённым анаболическим действием. Кроме того, в 2018 г. были обновлены научные данные об антиоксидантной эффективности флавоноидов и фенольных кислот мёда на функцию сердечно-сосудистой системы у спортсменов [34]. В этом обзоре подтверждается возможность восполнения нутриентных дефицитов в пищевом рационе с помощью мёда и других продуктов пчеловодства. Поэтому с учётом того, что в напитки и другие продукты спортивного питания для детей запрещается включать протеины, аминокислоты, кофеин и другие биоактивные вещества, использование мёда и маточного молочка стало эффективным и безопасным фактором повышения эргогенной ценности изотонического напитка. При этом причиной отказа от использования мальтодекстрина в качестве осмотического активного компонента стали результаты недавних работ [35, 36], в которых доказана возможность данной пищевой добавки нарушать гомеостаз кишечной флоры и способствовать развитию патологии кишечника, таких как неспецифический язвенный колит и болезнь Крона. И наконец, как показали результаты нашего исследования, на фоне гипоосмолярного обезвоживания и гипергидратации клеток критически важно для обеспечения регидратации использовать именно изотоники. Изотонический раствор не оказывает влияния на объём клеток, тогда как гипотонический раствор приводит к увеличению их объёма, поскольку гипотоник так же, как и вода, сразу же начинает проникать в клетку для выравнивания осмоляльности внутри- и внеклеточной жидкости, тем самым только лишь усугубляя обезвоживание вплоть до развития гипоосмолярного отёка [9]. В этой связи необходимо подчеркнуть, что в нашей работе мы сознательно не приводим название и состав изотоника «Х», чтобы не создавать антирекламу, тем более что анализ полученных результатов в контрольной группе прежде всего свидетельствует о недостаточном потреблении данного изотоника (5 %), нежели о его неэффективности. Поэтому единственное, о чём можно утверждать, так это о том, что изотоник «Х», впрочем, как и все изотоники на современном рынке, предназначен для применения спортсменами старше 18 лет. Вместе с тем в работе также не приводится состав медового изотоника, поскольку напиток проходит процесс патентования. В связи с этим можно лишь ещё раз подчеркнуть, что новый медовый изотонический напиток прошёл экспертизу в ФИЦ питания и биотехнологии и разрешён для использования

в детско-юношеском спорте с 14 лет. Причём в экспертном заключении чётко указано, что медовый напиток принимается в соответствии с рекомендациями и под наблюдением врача по спортивной медицине или специалиста по спортивному питанию.

В заключение следует отметить, что применение новых биоимпедансных технологий и методов многомерной статистики позволило аргументированно доказать рабочую гипотезу о том, что дегидратация юных спортсменов – широко распространённое и опасное явление, требующее обязательной коррекции с помощью изотоников, а ни в коем случае не с помощью воды. Кроме того, было доказано, что дегидратация непосредственно приводит к ДЭ и вазоспастическому типу периферической гемодинамики, тем самым снижая работоспособность и повышая риск наступления сердечно-сосудистых событий. Следовательно, современные изотонические напитки должны обладать как минимум доказанными гидратирующими и эндотелий-протекторными свойствами. Наконец, результаты работы свидетельствуют о низкой информированности юных спортсменов, спортивных врачей и тренеров о важности эффективных методов регидратации организма в детско-юношеском спорте.

В работе представлены оригинальные подходы к разработке изотонических напитков на основе мёда и маточного молочка для юных спортсменов. На основе полученных результатов и представленного научного отчёта Приказом № 227 от 14.11.2018 г. СППС «Gold F25 IsoDrinkLight» был включён в Формуляр ФМБА России лекарственных средств, БАД, специализированных пищевых продуктов медицинского и медико-биологического обеспечения сборных команд РФ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кардиоваскулярная профилактика 2017. Российские национальные рекомендации. *Российский кардиологический журнал.* 2018; (6): 7-122. doi: 10.15829/1560-4071-2018-6-7-122

2. Золичева С.Ю., Тарасов А.В., Беличенко О.И., Смоленский А.В. Современный взгляд на некоторые проблемы детско-юношеского спорта. *Вестник новых медицинских технологий.* 2018; 25(3): 76-82. doi: 10.24411/1609-2163-2018-16100

3. James LJ, Moss J, Henry J, Papandopoulou C, Mears SA. Hypohydration impairs endurance performance: a blinded study. *Physiol Rep.* 2017; 5(12): e13315. doi: 10.14814/phy2.13315

4. Goulet ED, Dion T, Savoie FA. Does mild hypohydration really reduce cycling endurance performance in the heat? *Med Sci Sports Exerc.* 2014; 46(1): 207. doi: 10.1249/MSS.0b013e3182a17c0e

5. Никитюк Д.Б., Мирошникова Ю.В., Бурляева Е.А., Выборнов В.Д., Баландин М.Ю., Тимошенко К.Т. *Методические рекомендации по питанию юных спортсменов.* М.; 2017.

6. Hew-Butler T. Exercise-associated hyponatremia. *Front Horm Res.* 2019; 52: 178-189. doi: 10.1159/000493247

7. Watso JC, Farquhar WB. Hydration status and cardiovascular function. *Nutrients.* 2019; 11(8): 1866. doi: 10.3390/nu11081866

8. Martin JV, Liberati DM, Diebel LN. Excess sodium is deleterious on endothelial and glycocalyx barrier function: A microfluidic study. *J Trauma Acute Care Surg.* 2018; 85(1): 128-134. doi: 10.1097/TA.0000000000001892

9. Морган Дж.Э. мл., Мэгид С.М. *Анестезиология: книга вторая*. М.-СПб.: БИНОМ-Невский Диалект; 2000.

10. Соколов И.Л., Мелькумянц А.М., Антонова О.А. Участие эндотелиального гликокаликса в подавлении активности ангиотензин-превращающего фермента при действии напряжения сдвига. *Физиологический журнал им. И.М. Сеченова.* 2019; 105(2): 198-206. doi: 10.1134/S086981 3919020079

11. Rajendran P, Rengarajan T, Thangavel J, Nishigaki Y, Sakthisekaran D, Sethi G, et al. The vascular endothelium and human diseases. *Int J Biol Sci*. 2013. 9(10): 1057-1069. doi: 10.7150/ijbs.7502

12. Гаврилова Н.Б., Щетинин М.П., Молибога Е.А. Современное состояние и перспективы развития производства специализированных продуктов для питания спортсменов. *Вопросы питания.* 2017; (2): 100-106. doi: 10.24411/0042-8833-2017-00039

13. Выходец И.Т., Курашвили В.А., Мирошникова Ю.В., Нистратов С.Л., Парастаев С.А., Поляев Б.А., и др. *Клинические рекомендации по методикам регидратации организма спортсмена в различных олимпийских видах спорта во время тренировочных мероприятий и спортивных соревнований*. М.: ФМБА России; 2018.

14. Парастаев С.А., Мирошникова Ю.В., Пушкина Т.А., Курашвили В.А., Яшин Т.А., Выходец И.Т. и др. К вопросу об актуализации проблемы обезвоживания в спорте. *Вестник РГМУ.* 2017; (6): 13-18. doi: 10.24075/vrgmu.2017-06-02

15. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Miller OI, Sullivan ID, et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet.* 1992; 340(8828): 1111-1115.doi: 10.1016/0140-6736(92)93147-f

16. Иванова О.В., Рогоза А.Н., Балахонова Т.В., Соболева Г.Н., Атьков О.Ю., Карпов Ю.А. Определение чувствительности плечевой артерии к напряжению сдвига на эндотелий как метод оценки состояния эндотелий-зависимой вазодилятации с помощью ультразвука высокого разрешения у больных с артериальной гипертонией. *Кардиология.* 1998; 38(3): 37-42.

17. Nacao K, Ohgushi K, Yoshimura M, Morooka K, Okumura K, Ogawa H, et al. Hyperventilation as a specific test for diagnosis of coronary artery spasm. *Am J Cardiol.* 1997; 80(5): 545-549. doi: 10.1016/S0 002-9149(97)00419-0

18. Ким В.Н., Кривулина Г.Б., Шевелев В.М. *Способ оценки чувствительности сосудистого эндотелия периферических артерий:* Пат. № 2283031 Рос. Федерация; МПК A61B 8/00 (2006.01). № 2005113331/14; заявл. 03.05.2005; опубл. 10.09.2006. Бюл. № 25.

19. *Scientific Committee on Food. Report of the Scientific Committee on Food on composition and specification of food intended to meet the expenditure of intense muscular effort, especially for sportsmen* (Adopted by the SCF on 22/6/2000, corrected by the SCF on 28/2/2001). URL: https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/sci-com_scf_out64_en.pdf (accessed 11.09. 2020).

20. Полиенко А.П. *Способ получения порошка сухого медового:* Пат. № 2528707 Рос. Федерация; МПК A23L 1/08 (2006.01). № 2013122433/13; заявл. 16.05.2013; опубл. 20.09.2014. Бюл. № 26.

21. McDermott BP, Anderson SA, Armstrong LE, Casa DJ, Cheuvront SN, Cooper L, et al. National Athletic Trainers' Association Position Statement: Fluid replacement for the physically active. *J Athl Train.* 2017; 52(9): 877-895. doi: 10.4085/1062-6050-52.9.02

22. Castizo-Olier J, Carrasco-Marginet M, Roy A, Chaverri D, Iglesias X, Perez-Chirinos C, et al. Bioelectrical impedance vector analysis (BIVA) and body mass changes in an ultra-endurance triathlon event. J Sports Sci Med. 2018; 17(4): 571-579.

23. Соболева Г.Н., Федулов В.К., Самко А.Н., Левицкий И.В., Рогоза А.Н., Балахонова Т.В., и др. Прогностическое значение эндотелия коронарных и плечевой артерий, традиционных факторов риска в развитии сердечно-сосудистых осложнений у пациентов с микрососудистой стенокардией. *Российский кардиологический журнал.* 2017; (3): 54-58. doi: 10.15829/1560-4071-2017-3-54-58

24. Stacy MR, Bladon KJ, Lawrence JL, McGlinchy SA, Scheuermann BW. Serial assessment of local peripheral vascular function after eccentric exercise. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2013; 38(12): 1181-1186. doi: 10.1139/apnm-2012-0448

25. Trangmar SJ, Gonzalez-Alonso J. Heat, hydration and the human brain, heart and skeletal muscles. *Sports Med.* 2019; 49(Suppl 1):69-85. doi: 10.1007/s40279-018-1033-y

26. Лопатин З.В., Василенко В.С., Карповская Е.Б. Роль повреждающих эндотелий факторов в патогенезе кардиомиопатии перенапряжения у спортсменов игровых видов спорта. *Педиатр.* 2018; 9(6): 57–62. doi: 10.17816/PED9657-62

27. Maughan RJ, Murray R (eds.). *Sports drinks: basic science and practical aspects.* Boca Raton: CRC Press, 2019.

28. Дмитриев А.В., Гунина Л.М. *Спортивная нутрициология.* М.: Спорт; 2020.

29. Lukaski HC. Vitamin and mineral status: effects on physical performance. *Nutrition.* 2004; 20(7-8): 632-644. doi: 10.1016/j.nut.2004.04.001

30. Thein-Nissenbaum J, Hammer E. Treatment strategies for the female athlete triad in the adolescent athlete: current perspectives. *Open Access J Sports Med.* 2017; 8: 85-95. doi: 10.2147/OAJSM.S100026

31. Azab KS, Bashandy M, Salem M, Ahmed O, Tawfik Z, Hetal H. Royal jelly modulates oxidative stress and tissue injury in gamma irradiated male Wistar Albino rats. *N Am J Med Sci.* 2011; 3(6): 268–276. doi: 10.4297/najms.2011.3268

32. Zahran AM, Elsayh KI, Saad K, Eloseily EM, Osman NS, Alblihed MA, et al. Effects of royal jelly supplementation on regulatory T cells in children with SLE. *Food Nutr Res.* 2016; 60: 32963. doi: 10.3402/fnr.v60.32963

33. Morita H, Ikeda T, Kajita K, Fujioka K, Mori I, Okada H, et al. Effect of royal jelly ingestion for six months on healthy volunteers. *Nutr J.* 2012; 11: 77. doi: 10.1186/1475-2891-11-77

34. Cianciosi D, Forbes-Hernández TY, Afrin S, Gasparrini M, Reboredo-Rodriguez P, Manna PP, et al. Phenolic compounds in honey and their associated health benefits: a review. *Molecules.* 2018; 23(9): 2322. doi: 10.3390/molecules23092322

35. Arnold AR, Chassaing B, Maltodextrin, modern stressor of the intestinal environment. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol.* 2019; 7(2): 475-476. doi: 10.1016/j.jcmgh.2018.09.014

36. Laudisi F, Srolfi C. Impact of food additives on gut homeostasis. *Nutrients.* 2019; 11(10): 2334. doi: 10.3390/nu11102334

REFERENCES

1. *Cardiovascular prevention 2017. National Guidelines.* Russian Journal of Cardiology. 2018; (6): 7-122. doi: 10.15829/1560-4071-2018-6-7-122. (In Russ.)

2. Zolicheva SYu, Tarasov AV, Belichenko OI, Smolensky AV. Modern views on some children and youth sports problems. *Journal of New Medical Technologies.* 2018; 25(3): 76-82. doi: 10.24411/1609-2163-2018-16100. (In Russ.)

3. James LJ, Moss J, Henry J, Papandopoulou C, Mears SA. Hypohydration impairs endurance performance: a blinded study. *Physiol Rep.* 2017; 5(12): e13315. doi: 10.14814/phy2.13315

4. Goulet ED, Dion T, Savoie FA. Does mild hypohydration really reduce cycling endurance performance in the heat? *Med Sci Sports Exerc.* 2014; 46(1): 207. doi: 10.1249/MSS.0b013e3182a17c0e

5. Nikityuk DB, Miroshnikova YuV, Burlyaeva EA, Vybornov VD, Balandin MYu, Timoshenko KT. *Guidelines on the nutrition of young athletes.* Moscow; 2017. (In Russ.)

6. Hew-Butler T. Exercise-associated hyponatremia. *Front Horm Res.* 2019; 52: 178-189. doi: 10.1159/000493247

7. Watso JC, Farquhar WB. Hydration status and cardiovascular function. *Nutrients*. 2019; 11(8): 1866. doi: 10.3390/nu11081866

8. Martin JV, Liberati DM, Diebel LN. Excess sodium is deleterious on endothelial and glycocalyx barrier function: A microfluidic study. *J Trauma Acute Care Surg.* 2018; 85(1): 128-134. doi: 10.1097/TA.0000000000001892

9. Morgan GE Jr., Maged SM. *Clinical anesthesiology.* Moscow, Saint-Petersburg: BINOM-Nevskiy Dialekt; 2000. (In Russ.)

10. Sokolov IL, Melkumyants AM, Antonova OA. Participation of endothelial glycocalyx in suppression of angiotensin-converting enzyme activity caused by shear stress. *Russian Journal of Physiology.* 2019; 105(2): 198-206. doi: 10.1134/S086981 3919020079. (In Russ.)

11. Rajendran P, Rengarajan T, Thangavel J, Nishigaki Y, Sakthisekaran D, Sethi G, et al. The vascular endothelium and human diseases. *Int J Biol Sci.* 2013. 9(10): 1057-1069. doi: 10.7150/ijbs.7502

12. Gavrilova NB, Shchetinin MP, Moliboga EA. The current state and prospects for the development of the production of specialized products for the nutrition of athletes. Voprosy pitaniya. 2017; (2): 100-106. doi: 10.24411/0042-8833-2017-00039. (In Russ.)

13. Vykhodets IT, Kurashvili VA, Miroshnikova YuV, Nistratov SL, Parastaev SA, Polyaev BA, et al. *Clinical guidelines for the methods of rehydration of the athlete's body in various Olympic sports during training events and sports competitions.* Moscow: Russian Federal Medico-Biological Agency; 2018. (In Russ.)

14. Parastaev SA, Miroshnikova YuV, Pushkina TA, Kurashvili VA, Yashin TA, Vykhodets IT, et al. An update on dehydration in athletes. *Bulletin of RSMU*. 2017; (6): 12-17. doi: 10.24075/brsmu.2017-06-02. (In Russ.)

15. Celermajer DS, Sorensen KE, Gooch VM, Spiegelhalter DJ, Miller OI, Sullivan ID, et al. Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis. *Lancet.* 1992; 340(8828): 1111-1115.doi: 10.1016/0140-6736(92)93147-f

16. Ivanova OV, Rogoza AN, Balakhonova TV, Soboleva GN, Atkov OYu, Karpov YuA. Sensitivity of endothelium of the brachial artery to shear stress method to evaluate endothelial function in patients with hypertension. *Kardiologiya.* 1998; 38(3): 37-42. (In Russ.)

17. Nacao K, Ohgushi K, Yoshimura M, Morooka K, Okumura K, Ogawa H, et al. Hyperventilation as a specific test for diagnosis of coronary artery spasm. *Am J Cardiol.* 1997; 80(5): 545-549. doi: 10.1016/S0 002-9149(97)00419-0

18. Kim VN, Krivulina GB, Shevelev VM. *Method for assessing the sensitivity of the vascular endothelium of peripheral arteries:* Patent of the Russian Federation N 2283031, 2006. (In Russ.)

19. *Scientific Committee on Food. Report of the Scientific Committee on Food on composition and specification of food intended to meet the expenditure of intense muscular effort, especially for sportsmen* (Adopted by the SCF on 22/6/2000, corrected by the SCF on 28/2/2001). URL: https://ec.europa.eu/food/sites/food/files/safety/docs/sci-com_scf_out64_en.pdf (accessed 11.09. 2020).

20. Polienko AP. *Method for producing dry honey powder.* Patent of the Russian Federation N 2528707. 2014. (In Russ.)

21. McDermott BP, Anderson SA, Armstrong LE, Casa DJ, Cheuvront SN, Cooper L, et al. National Athletic Trainers' Association Position Statement: Fluid replacement for the physically active. *J Athl Train.* 2017; 52(9): 877-895. doi: 10.4085/1062-6050-52.9.02

22. Castizo-Olier J, Carrasco-Marginet M, Roy A, Chaverri D, Iglesias X, Perez-Chirinos C, et al. Bioelectrical impedance vector analysis (BIVA) and body mass changes in an ultra-endurance triathlon event. *J Sports Sci Med.* 2018; 17(4): 571-579.

23. Soboleva GN, Fedulov VK, Samko AN, Levitskiy IV, Rogoza AN, Balakhonova TV, et al. Prognostic value of endothelial dysfunction in coronary and brachial arteries, and common risk factors in development of cardiovascular complications in patients with microvascular angina. *Russian Journal of Cardiology.* 2017; (3): 54-58. doi: 10.15829/1560-4071-2017-3-54-58. (In Russ.)

24. Stacy MR, Bladon KJ, Lawrence JL, McGlinchy SA, Scheuermann BW. Serial assessment of local peripheral vascular function after eccentric exercise. *Appl Physiol Nutr Metab.* 2013; 38(12): 1181-1186. doi: 10.1139/apnm-2012-0448

25. Trangmar SJ, Gonzalez-Alonso J. Heat, hydration and the human brain, heart and skeletal muscles. *Sports Med.* 2019; 49(Suppl 1):69-85. doi: 10.1007/s40279-018-1033-y

26. Lopatin ZV, Vasilenko VS, Karpovskaya EB. Role of endothelium damage factors in the pathogenesis of cardiomyopathy surge in athletes sports. *Pediatr.* 2018; 9(6): 57–62. (In Russ.) doi: 10.17816/PED9657-62

27. Maughan RJ, Murray R (eds.). *Sports drinks: basic science and practical aspects.* Boca Raton: CRC Press, 2019.

28. Dmitriev AV, Gunina LM. *Sports nutrition.* Moscow: Sport; 2020. (In Russ.)

29. Lukaski HC. Vitamin and mineral status: effects on physical performance. *Nutrition.* 2004; 20(7-8): 632-644. doi: 10.1016/j.nut.2004.04.001

30. Thein-Nissenbaum J, Hammer E. Treatment strategies for the female athlete triad in the adolescent athlete: current perspectives. *Open Access J Sports Med.* 2017; 8: 85-95. doi: 10.2147/OAJSM.S100026

31. Azab KS, Bashandy M, Salem M, Ahmed O, Tawfik Z, Hetal H. Royal jelly modulates oxidative stress and tissue injury in gamma irradiated male Wistar Albino rats. *N Am J Med Sci.* 2011; 3(6): 268–276. doi: 10.4297/najms.2011.3268

32. Zahran AM, Elsayh KI, Saad K, Eloseily EM, Osman NS, Alblihed MA, et al. Effects of royal jelly supplementation on regulatory T cells in children with SLE. *Food Nutr Res.* 2016; 60: 32963. doi: 10.3402/fnr.v60.32963

33. Morita H, Ikeda T, Kajita K, Fujioka K, Mori I, Okada H, et al. Effect of royal jelly ingestion for six months on healthy volunteers. *Nutr J.* 2012; 11: 77. doi: 10.1186/1475-2891-11-77

34. Cianciosi D, Forbes-Hernández TY, Afrin S, Gasparrini M, Reboredo-Rodriguez P, Manna PP, et al. Phenolic compounds in honey and their associated health benefits: a review. *Molecules.* 2018; 23(9): 2322. doi: 10.3390/molecules23092322

35. Arnold AR, Chassaing B, Maltodextrin, modern stressor of the intestinal environment. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol.* 2019; 7(2): 475-476. doi: 10.1016/j.jcmgh.2018.09.014

36. Laudisi F, Srolfi C. Impact of food additives on gut homeostasis. *Nutrients.* 2019; 11(10): 2334. doi: 10.3390/nu11102334

Сведения об авторах

Ким Виталий Николаевич – доктор медицинских наук, профессор кафедры биофизики и функциональной диагностики, заведующий отделением функциональной диагностики, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: doctorkim@rambler.ru, https://orcid.org/0000-0002-1351-038X

Кривулина Галина Борисовна – кандидат медицинских наук, врач отделения функциональной диагностики, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: galina-krivulinabor@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-0603-2671

Просекин Георгий Андреевич – врач отделения функциональной диагностики, ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: medobutcher003@gmail.com, https://orcid.org/0000-0003-3582-167X

Information about the authors

Vitaliy N. Kim – Dr. Sc. (Med.) Professor at the Department of Biophysics and Functional Diagnostics, Head of the Department of Functional Diagnostics, Siberian State Medical University, e-mail: doctorkim@rambler.ru, https://orcid.org/0000-0002-1351-038X

Galina B. Krivulina – Cand. Sc. (Med.) Physician at the Department of Functional Diagnostics, Siberian State Medical University Health Ministry of Russia, e-mail: galina-krivulinabor@mail.ru, https://orcid.org/0000-0003-0603-2671

Georgii A. Prosekin – Physician at the Department of Functional Diagnostics, Siberian State Medical University, e-mail: medobutcher003@gmail.com, https://orcid.org/0000-0003-3582-167X

Вклад авторов

Ким В.Н. – концептуализация вопроса, разработка дизайна исследования, написание статьи.

Кривулина Г.Б. – литературный обзор и перевод зарубежных статей, работа по оформлению таблиц и рисунков, помощь в написании статьи.

Просекин Г.А. – обработка первичных данных, создание электронной базы, статистическая обработка материала, помощь в написании статьи.

Статья получена: 30.09.2020. Статья принята: 15.10.2020. Статья опубликована: 26.10.2020.
Received: 30.09.2020. Accepted: 15.10.2020. Published: 26.10.2020.

ТРАВМАТОЛОГИЯ
TRAUMATOLOGY

DOI: 10.29413/ABS.2020-5.5.13

Восстановление функции первого пальца посредством последовательного эндопротезирования трапеце-пястного и пястно-фалангового суставов

Прохоренко В.М. [1, 2], **Александров Т.И.** [1, 2], **Симонова Е.Н.** [1]

[1] ФГБУ «Новосибирский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России (630091, г. Новосибирск, ул. Фрунзе, 17); [2] ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России (630091, г. Новосибирск, Красный проспект, 52)

Автор, ответственный за переписку: Симонова Екатерина Николаевна, e-mail: Nepalopeno@mail.ru

Резюме

Функция оппозиции, выполняемая первым пальцем кисти, чрезвычайно важна и обеспечивается в основном за счёт биомеханических особенностей трапеце-пястного и пястно-фалангового суставов. Хирургическое лечение сложных деформаций этих двух суставов зачастую описывается в рамках изолированных друг от друга исследований, и описаний результатов их комбинированного лечения практически не встречается. Авторами статьи не было найдено ни одного сообщения о тотальном эндопротезировании смежных суставов первого пальца.

Целью исследования *стал анализ клинического наблюдения двух пациентов в ранний период после выполнения последовательной неодномоментной тотальной артропластики трапеце-пястного и пястно-фалангового суставов первого пальца керамическими эндопротезами. Оба эндопротеза были представлены попарно двумя несвязанными компонентами, устанавливаемыми методом press-fit. При взаимодействии головки и чашки в них отсутствуют срезывающие силы, препятствующие мультиаксиальным движениям.*

Материалы и методы. *В исследование были включены два пациента: мужчина 67 лет и женщина 77 лет. Пациентам в связи с остеоартрозом трапеце-пястного и пястно-фалангового суставов первого пальца 3-й степени выполнялись этапное хирургическое лечение с временным промежутком около 2–3 лет и последующая оценка результатов через 1 месяц и через 1 год клиническими и инструментальными методами исследования.*

Заключение. *В ходе наблюдения осложнений не наблюдались. Показаний к ревизионному хирургическому вмешательству выявлено не было. Особенности конструкций керамических эндопротезов за счёт коротких ножек дают возможность совмещения компонентов в смежных суставах первого пальца. На наш взгляд, эндопротезирование – это эффективный и перспективный метод восстановления функционала. Оно остаётся последней надеждой пациента на сохранение безболезненной стабильной мобильности первого пальца кисти.*

Ключевые слова: *трапеце-пястный сустав, пястно-фаланговый сустав, первый палец, эндопротезирование, остеоартроз*

Для цитирования: Прохоренко В.М., Александров Т.И., Симонова Е.Н. Восстановление функции первого пальца посредством последовательного эндопротезирования трапеце-пястного и пястно-фалангового суставов. *Acta biomedica scientifica.* 2020; 5(5): 99-106. doi: 10.29413/ABS.2020-5.5.13.

The Restoration of the Function of the Thumb using Sequential Arthroplasty of the Trapeziometacarpal and Metacarpophalangeal Joints

Prokhorenko V.M. [1, 2], **Aleksandrov T.I.** [1, 2], **Simonova E.N.** [1]

[1] Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopedics (Frunze str. 17, Novosibirsk 630091, Russian Federation); [2] Novosibirsk State Medical University (Krasnyi Prospect 52, Novosibirsk 630091, Russian Federation)

Corresponding author: Ekaterina N. Simonova, e-mail: Nepalopeno@mail.ru

Abstract

Background. *The opposition function of the thumb is extremely important and is provided mainly due to the biomechanical features of the trapeziometacarpal and metacarpophalangeal joints. Surgical treatment of complex deformities of these joints is often described in isolated studies, and there are practically no descriptions of the results of their combined treatment. The authors of the article did not find a single report on total arthroplasty of the adjacent joints of the thumb.*

Aim of the study. *To analyze the clinical observation of two patients in the early period after performing sequential non-simultaneous total arthroplasty of the trapeziometacarpal and metacarpophalangeal joints of the thumb using ceramic endoprostheses. Both endoprostheses were presented in pairs with two unconnected components, installed using the press-fit method. When the head and cup interact, there are no shear forces in them that impede multiaxial movements.*

Materials and methods. *The study included two patients: a 67-year-old man and a 77-year-old woman. Patients had stage 3 osteoarthritis of the trapeziometacarpal and metacarpophalangeal joints of the thumb and underwent staged surgical treatment (about 2–3 years between the stages). In 1 month and 1 year after the treatment we assessed the results using clinical and instrumental research methods.*

Conclusion. *No complications were observed during the follow-up. There were no indications for revision surgery. The design features of ceramic endoprostheses, due to their short stems, make it possible to combine components in the adjacent joints of the thumb. In our opinion, joint arthroplasty is an effective and promising method of functional restoration. It remains the patient's last hope for maintaining painless, stable mobility of the thumb.*

Key words: *trapeziometacarpal joint, metacarpophalangeal joint, thumb, arthroplasty, osteoarthritis*

For citation: Prokhorenko V.M., Aleksandrov T.I., Simonova E.N. The Restoration of the Function of the Thumb using Sequential Arthroplasty of the Trapeziometacarpal and Metacarpophalangeal Joints. *Acta biomedica scientifica.* 2020; 5(5): 99-106. doi: 10.29413/ABS.2020-5.5.13.

ВВЕДЕНИЕ

Первый палец значительно отличается от остальных трёхфаланговых пальцев кисти. Возможность выполнять весь мультиаксиальный спектр движений обеспечивается сложной кинематической цепочкой нескольких суставов. В статье представлен взгляд на работу двух смежных суставов первого пальца – трапеции-пястного и пястно-фалангового (MP). По аналогии в костно-суставной столб первого пальца входят трапеции-ладьевидный (ST) и межфаланговый (IP) суставы [1, 2]. Конкретно в этом исследовании их содружественная с остеоартрозом трапеции-пястного сустава патология не рассматривалась.

Несмотря на обилие и разнообразие описанных в литературе способов и методов хирургического лечения остеоартроза трапеции-пястного сустава исторически сложилось так, что наиболее приемлемым для большинства травматологов-ортопедов остаётся операция трапециоэктомии в различных модификациях. С 1962 г. берет своё начало развитие направления эндопротезирования трапеции-пястного сустава с установкой различных материалов [3, 4, 5].

В своё время были известны следующие эндопротезы для замены трапеции-пястного сустава: Hostaform C-R (рис. 1а), de la Caffiniere (рис. 1б), связанные и несвязанные модели Mayo (рис. 1в, г), «St. George» (рис. 1д), Stolz (рис. 1е). Форма моделей выполнялась в формате «ball & socket». Роликовый дистальный компонент совмещался с проксимальным чашечным. Основной проблемой их использования стали резорбтивные процессы, связанные с продуктами трения требологических пар. В рамках перспективы совмещения с эндопротезами пястно-фалангового сустава все модели являлись неудовлетворительными из-за чрезмерной длины ножки дистального компонента.

Модели эндопротеза Cooney в 36 % случаев использования показали формирование гетеротопических оссификатов вокруг компонентов, что также стало причиной запрета их использования [2].

Среднесрочные результаты выполнения частичной резекции и установки биологического эндопротеза Artelon также показали высокий риск осложнений (рис. 1ж) [2].

Более современные пирокарбоновые эндопротезы, снизившие фактор формирования продуктов трения, на настоящий момент проходят этапы исследований за рубежом (рис. 1з). На территории РФ они официально зарегистрированы не были. В связи с отсутствием исследований опыта использования данных эндопротезов нет. По ряду сообщений, пирокарбон обладает низкой интраоссальной фиксационной способностью. По результатам рентгенологических исследований в среднесрочном периоде использования выявляется зона контактного остеолизиса в виде «полосы просветления» на границе пирокарбон – кость [6].

Гораздо меньше статей посвящено одноосной коррекции положения пястно-фалангового сустава после хирургического лечения трапеции-пястного сустава. Так, например, R.G. Eaton описал лечение вывиха пястно-фалангового сустава методом капсульно-связочной пластики [7].

Чрезвычайно редки в литературе продолжительно наблюдаемые клинические случаи этапного хирургического лечения остеоартроза трапеции-пястного сустава и остеоартроза пястно-фалангового сустава. Авторам статьи не удалось обнаружить сообщений об этапном тотальном эндопротезировании этих двух суставов.

Несмотря на это, имеется пожелание пациентов сохранить подвижность сегментов пальца, выполняющего столь важную функцию захвата и оппозиции. Именно это побудило нас осуществить эндопротезирование смежных суставов первого пальца эндопротезами с короткими ножками.

Используемый нами эндопротез трапеции-пястного сустава выполнен в виде двух керамических несвязанных компонентов. Проксимальный компонент представляет собой суставную головку, расположенную на короткой (от 4 до 6 мм) ножке. Поперечное сечение ножки имеет круглую форму. Дистальный компонент заключает в себе суставную впадину, расположенную на конической 12 мм ножке. Отсутствие срезывающих сил при взаимодействии головки и чашки способствуют мультиаксиальным движениям (рис. 2а).

Эндопротез пястно-фалангового сустава представляет собой также два свободных компонента. Проксимальный компонент несёт суставную головку, расположенную на конической ножке и наклонённую под углом 30°. Максимальная длина ножки составляет 18 мм. Дистальный компонент представлен суставной впадиной, расположенной на конической ножке (рис. 2б).

Более современные модели на своей контактной поверхности имеют выступающий жёлоб и соответствующей формы выемку, препятствующие в работе боковым

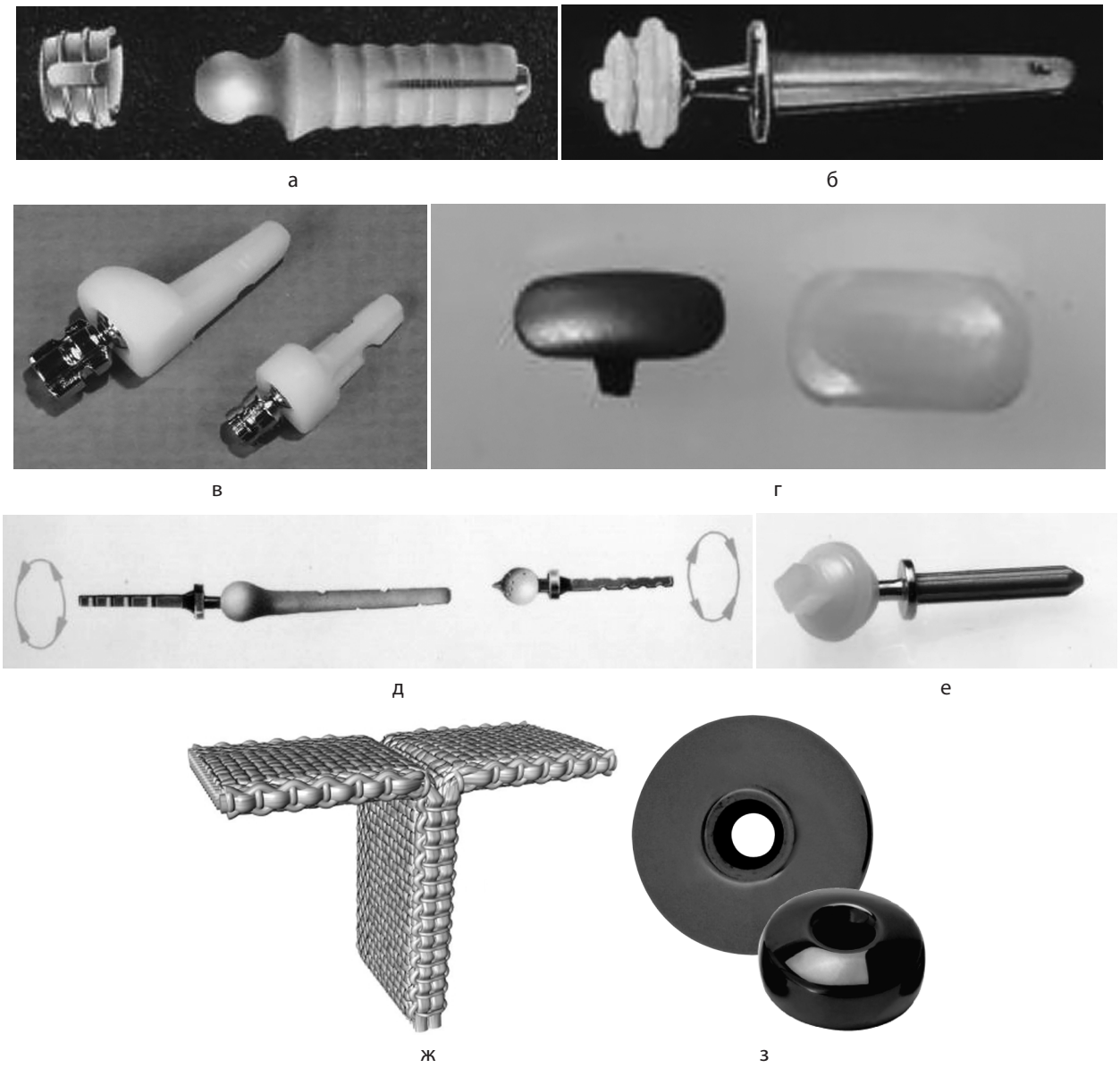


Рис. 1. Модели эндопротезов трапеции-пястного сустава: а – Hostaform C-R (Polyacetal); б – De la Caffiniere; в – связанная модель Mayo; г – несвязанная модель Mayo; д – «St. George»; е – Stolz; ж – спейсер Artelon; з – PyroDisk.

Fig. 1. Models of trapeziometacarpal joint endoprostheses: a – Hostaform C-R (Polyacetal); б – De la Caffiniere; в – linked Mayo model; г – unliked Mayo model; д – "St. George"; е – Stolz; ж –Artelon spacer; з – PyroDisk.

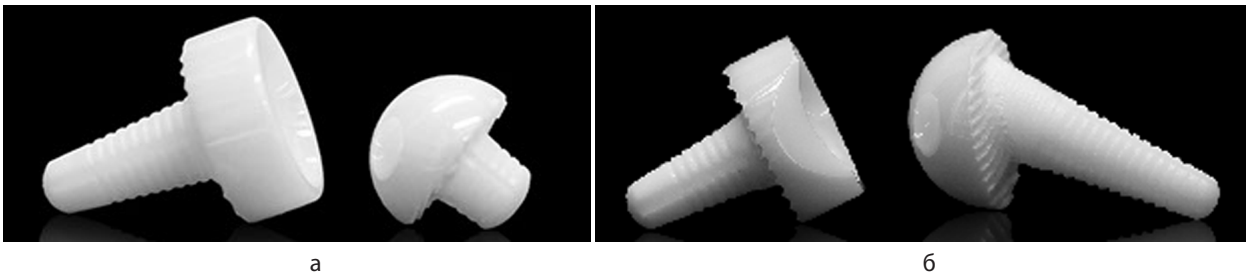


Рис. 2. Внешний вид керамических эндопротезов MOJE CMC (а) и MOJE MCP (б).

Fig. 2. Ceramic endoprostheses MOJE CMC (a) and MOJE MCP (б).

смещением компонентов и дополнительно стабилизирующие коллатеральных связки.

Важно отметить, что в совокупности максимальная длина ножек дистального компонента трапеции-пястного сустава и проксимального компонента пястно-фалангового сустава составляет 6 + 18 = 22 мм. Второй особенностью является возможность установки трапеции-пястного сустава по принципу «реверсивного» эндопротеза. Таким образом,

общую длину ножек компонентов, заполняющих просвет костно-мозгового канала пястной кости, можно сократить.

Таким образом, существует возможность использования зарегистрированных на территории РФ керамических эндопротезов в отношении сразу двух суставов.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Анализ двух клинических случаев в ранний период после выполнения тотального последовательного эндопротезирования трапеции-пястного и пястно-фалангового суставов первого пальца керамическими эндопротезами.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование были включены два пациента: мужчина 67 лет и женщина 77 лет, у которых первым этапом выполнялось эндопротезирование керамическим эндопротезом трапеции-пястного сустава по причине остеоартроза трапеции-пястного сустава 3-й степени, вторым этапом – эндопротезирование керамическим эндопротезом пястно-фалангового сустава по причине остеоартроза пястно-фалангового сустава 3-й степени.

Последующая оценка результатов осуществлялась через 1 месяц и через 1 год клиническими и инструментальными методами исследования. Методы исследования включали в себя клинический осмотр, оценку болевого синдрома по визуально-аналоговой шкале (ВАШ), динамометрическую оценку силы захвата кончиками I и III пальцев (щипок) аппаратом Baseline® hydraulic Pinch Gauges, рентгенологическое исследование (на оборудовании «Definium 8000 GE») и МСКТ-исследование (на оборудовании «Aquilion-64» фирмы Toshiba) кистей в пред- и послеоперационных периодах с 3D-реконструкцией.

КЛИНИЧЕСКИЙ ПРИМЕР 1

Пациент, 1947 г.р. поступил в ФГБУ «ННИИТО им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России в 2014 г. Со слов пациента, первично в 1996 г. в результате спортивных нагрузок (лыжный спорт) им была получена травма первого пальца левой кисти. В связи с болью и ощущением нестабильности пальца он длительно получал консервативное лечение в поликлинике по месту жительства. Выраженный болевой синдром ограничивал объём движений первого пальца, функция кисти в целом снизилась. Пациент был ограничен в выполнении социально-бытовых действий (удержание предметов, письмо и др.). Поступил с диагнозом посттравматического остеоартроза трапеции-пястного сустава 3-й степени. При обращении в Новосибирский НИИТО уровень болевых ощущений по ВАШ был установлен на уровне 9 баллов. Сила щипкового хвата до операции составила 2 кг.

При рентгенологической оценке были установлены сужение высоты суставной щели трапеции-пястного сустава, выраженные кистозные изменения и субхондральный склероз, остеофиты смежных суставных поверхностей, что соответствовало 3-й степени остеоартроза трапеции-пястного сустава по классификации Н.С. Косинской (1961) [8] или 3–4-й степени по классификации R.G. Eaton (1987) [9] (рис. 3а).

Выполнено тотальное эндопротезирование трапеции-пястного сустава (рис. 3б, рис. 4).

Мы наблюдали положительную динамику в отношении уменьшения боли. К тому же пациент отмечал не только снижение боли во время выполнения активных и пассивных движений в суставах первого пальца, но и исчезновение значительно беспокоившего его болевого синдрома в ночное время суток. Последнее хорошо сказалось на сне и общем самочувствии.

Кроме того, кисть оценивалась с функциональной стороны. В предоперационный период пациент жаловался на то, что не удаётся выполнять сгибание пальца, его отведение, оппозицию. При выполнении таких простых бытовых действий, как письмо, приготовление пищи, открывание дверей, ему приходилось использовать другую руку или просить помощи окружающих.

Первый контроль после первого этапа эндопротезирования осуществлялся через 1 месяц. Отмечено полноценное заживление тканей, сохраняющийся локальный отёк области оперативного вмешательства, возможность выполнения качательных безболезненных движений в трапеции-пястном суставе.

Второй контроль осуществлялся через 1 год (рис. 3в, г). Отмечено полноценное формирование послеоперационного рубца без признаков воспаления, возможность выполнения активных движений в первом пальце с сохраняющимся болевым синдромом. Боль у пациента была обоснована деформацией смежного пястно-фалангового сустава. Во время консультации с учётом имеющихся у пациента жалоб на болевой синдром, ограничение объёма движений в пястно-фаланговом суставе и на основании результатов рентгенологического исследования пациенту был поставлен диагноз остеоартроза пястно-фалангового сустава 3-й степени. В связи с этим ему было рекомендовано эндопротезирование смежного сустава.

Показаниями для оперативного лечения послужили наличие болевого синдрома на фоне продолжительной малоэффективной консервативной терапии, невозможность выполнения осевой нагрузки, оппозиции, щипковых элементов первым пальцем, положение подвывиха в пястно-фаланговом суставе с формированием переразгибания пальца.

В соответствии с этим в 2016 г. выполнялся второй оперативный этап. Перед вторым этапом уровень болевых ощущений оценивался пациентом на уровне 6 баллов по ВАШ. Сила щипкового хвата перед вторым этапом составила 2,5 кг. Выполнялось одноосное эндопротезирование пястно-фалангового сустава и артродез дистального межфалангового сустава биодеградируемым пином. В период послеоперационного наблюдения пациент отмечал полное отсутствие болевых ощущений (0 баллов по ВАШ).

Первый контроль после второго этапа эндопротезирования осуществлялся через 1 месяц. При этом отмечались полноценное заживление тканей области вмешательства, сохраняющийся отёк, возможность выполнения качательных движений в первом пальце с умеренным дискомфортом.

Второй контроль после второго этапа эндопротезирования выполнялся через 1 год. Объём движений в пястно-фаланговом суставе постепенно восстановился через 6 месяцев. На момент консультации пациент мог полностью безболезненно выполнять первым пальцем полный объём движений (0 баллов по ВАШ). Сила щипкового хвата составила 3,5 кг. При рентгенологическом и МСКТ-контроле было установлено, что положение всех четырёх компонентов стабильное, признаков контактного остеолизиса нет (рис. 3д, е; рис. 4). Пациент отмечал возможность выполнения безболезненной оппозиции при удержании предметов в кисти: средств личной гигиены,

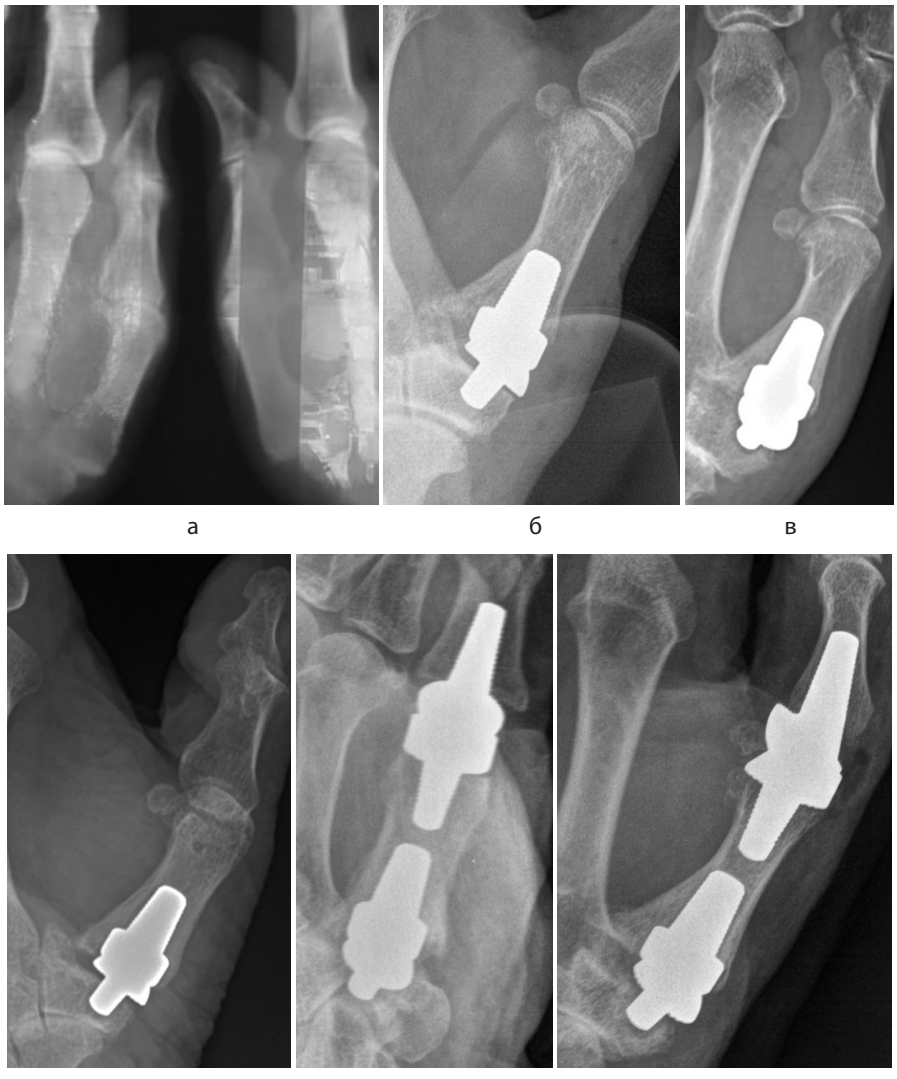


Рис. 3. Клинический пример 1, этапные рентгенограммы: а – предоперационный этап; б – интраоперационный контроль после эндопротезирования трапеции-пястного сустава; в, г – рентгенограммы кисти через 1 год после эндопротезирования трапеции-пястного сустава; д, е – контроль после эндопротезирования пястного-фалангового сустава.

Fig. 3. Clinical case N 1, X-rays: a – preoperative stage; б – intraoperative control after TMC arthroplasty; в, г – postoperative control in 1 year after TMC arthroplasty; д, е – after MCP arthroplasty.

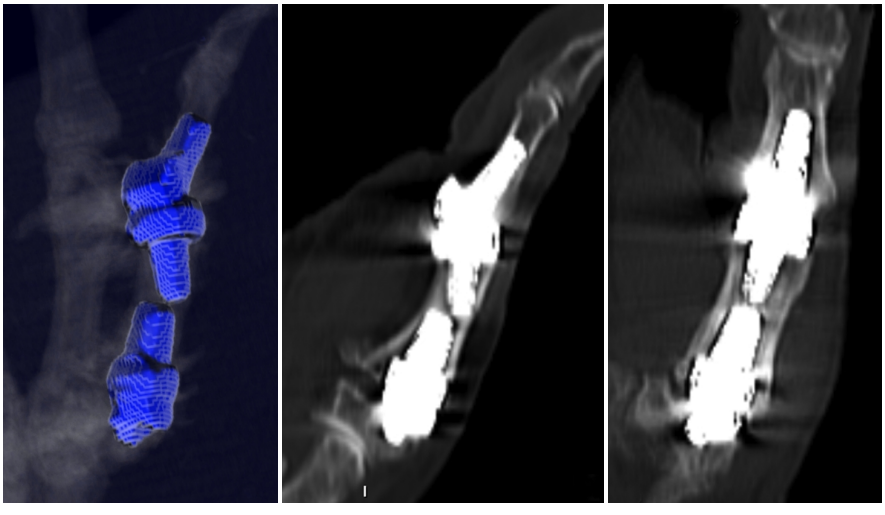


Рис. 4. МСКТ-исследование кисти пациента: а – 3D-реконструкция положения компонентов эндопротезов; б – положение компонентов во фронтальной проекции; в – положение компонентов в сагиттальной проекции.

Fig. 4. Multi-layer spiral CT: a – 3D-reconstruction of the position of endoprosthesis components; б – frontal projection; в – sagittal projection.

рабочих инструментов, столовых приборов, руля личного транспортного средства. Также, с его слов, в послеоперационном периоде появилась возможность выполнения действий мелкой моторики: застёгивания пуговиц, завязывания шнурков, доставания мелких монет из кошелька.

КЛИНИЧЕСКИЙ ПРИМЕР 2

Пациентка, 1939 г. р., длительно наблюдалась у терапевта и ревматолога по месту жительства в связи с системным полиартритом (рис. 5, б). Поступила в ФГБУ «ННИИТО им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России в связи со вторичным остеоартрозом трапеции-пястного сустава и первого пястно-фалангового суставов. Исходно боль оценивалась ей на уровне 9 баллов по ВАШ. Сила щипкового хвата до операции составила 0,5 кг.

При рентгенологической оценке было установлено наличие сужения высоты суставной щели трапеции-пястного сустава, выраженные кистозные изменения и субхондральный склероз, остеофиты смежных суставных поверхностей, тыльный подвывих пястной кости с формированием Z-образной деформации. Все признаки соответствовали 3-й степени остеоартроза трапеции-пястного сустава по классификации Н.С. Косинской [8] или 3–4-й степени по классификации R.G. Eaton [9] (рис. 5а, б, в).

В 2016 г. пациентке было выполнено эндопротезирование трапеции-пястного сустава правой кисти (рис. 5г, д). Показаниями для оперативного лечения послужили наличие болевого синдрома на фоне продолжительной малоэффективной консервативной терапии, невозможность выполнения осевой нагрузки, оппозиции, скручивания, щипковых элементов первым пальцем, положение подвывиха в пястно-фаланговом суставе с формированием переразгибания пальца, то есть классической Z-образной деформации.

Первый контроль после эндопротезирования трапеции-пястного сустава осуществлялся через 1 месяц. Отмечались полноценное заживление тканей, сохраняющийся локальный отёк области оперативного вмешательства, возможность выполнения качательных безболезненных движений в трапеции-пястном суставе.

Второй контроль осуществлялся через 1 год. В послеоперационном периоде в связи с имеющейся цереброваскулярной патологией на фоне артериальной гипертензии пациентка отмечала эпизоды головокружения и падений с опорой на оперированную конечность. В связи с этим за прошедший год пациентка отмечала постепенное усиление болезненности в области оперативного вмешательства. Пациентка могла выполнять ограниченный объём движений с выраженным болевым синдромом. Болевой синдром оценивался ей на уровне 7 баллов по ВАШ. Сила щипкового хвата составила 0,5 кг. При рентгенологическом исследовании были установлена нестабильность и проседание проксимального компонента эндопротеза в кость трапеции (рис. 5е, ж). Пациентке было рекомендовано выполнение ревизионного эндопротезирования. Во время ревизионного эндопротезирования проксимальный компонент был переустановлен с дополнительной фиксацией хирургическим цементом (рис. 5з, и).

Через 1 месяц во время консультации отмечались полноценное заживление тканей, сохраняющийся локальный отёк области оперативного вмешательства, возможность выполнения качательных безболезненных движений в трапеции-пястном суставе.

Второй контроль осуществлялся через 1 год. С учётом имеющихся у пациентки жалоб на болевой синдром, ограничение объёма движений в пястно-фаланговом суставе и на основании результатов рентгенологического исследования пациентке был установлен диагноз остеоартроза пястно-фалангового сустава 3-й степени на фоне полного безболезненного восстановления функции трапеции-пястного сустава. Сила щипкового хвата составила 1,0 кг. В связи с этим ей было рекомендовано выполнение эндопротезирования смежного сустава.

В 2019 г. было выполнено эндопротезирование пястно-фалангового сустава.

Первый контроль после эндопротезирования пястно-фалангового сустава осуществлялся через 1 месяц. При этом отмечались полноценное заживление тканей области вмешательства, сохраняющийся отёк, возможность выполнения качательных движений в первом пальце с умеренным дискомфортом. В послеоперационном периоде боль оценивалась пациенткой на уровне 4 баллов по ВАШ.

Второй контроль после эндопротезирования пястно-фалангового сустава выполнялся через 1 год. Со слов пациентки, объём движений в пястно-фаланговом суставе постепенно восстановился через 7 месяцев. На момент консультации пациентка могла полностью безболезненно выполнять весь объём движений первым пальцем (0 баллов по ВАШ). Сила щипкового хвата составила 2,0 кг. При рентгенологическом и МСКТ-контроле было установлено, что положение всех четырёх компонентов стабильное, признаков контактного остеолизиса, проседания компонентов нет (рис. 5к; рис. 6). Пациентка отмечала возможность выполнения безболезненной оппозиции при удержании предметов в кисти: средств личной гигиены, ручки, столовых приборов. Также, с её слов, в послеоперационном периоде появилась возможность выполнения действий мелкой моторики: застегивания пуговиц, поворота ключа в замочной скважине, использования кнопочного телефона.

В течение всего восстановительного периода обоим пациентам рекомендовалось продолжать выполнять активные качательные движения в трапеции-пястном и пястно-фаланговом суставах в условиях тепла, исключить осевые нагрузки и скручивающие движения, такие как отжимание тряпки.

Некоторые пациенты с похожей ситуацией не были подвергнуты вышеописанной схеме лечения в связи с наличием противопоказаний к эндопротезированию. К ним относились: открытые травмы, инфекционные процессы, генерализованные формы остеопороза, снижение высоты кости трапеции менее 7 мм или короткая первая пястная кость. Последние два фактора принципиально определяют техническую возможность выполнения оперативного лечения, возможность совмещения конструкций у одного пациента и обуславливают в дальнейшем возможность формирования ряда осложнений.

ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе наблюдения получены ранние результаты: у первого пациента – через 2,5 года наблюдения, у второй пациентки – через 1 год наблюдения. Пациентам выполнялось этапное оперативное лечение в объёме эндопротезирования по показаниям. Целью лечения являлось не только решение вопроса болевого синдрома на двух уровнях одного пальца, но и сохранение мобильности в обоих

Рис. 5. Клинический пример 2, этапные рентгенограммы: а, б, в – предоперационный этап; г, д – интраоперационный контроль после эндопротезирования трапеции-пястного сустава; е, ж – послеоперационный контроль, признаки нестабильности проксимального компонента эндопротеза; з, и – интраоперационный контроль после ревизионного эндопротезирования; к – контроль после эндопротезирования пястного-фалангового сустава.

Fig. 5. Clinical case N 2, X-rays: a, б, в – preoperative stage; г, д – intraoperative control after TMC arthroplasty; е, ж – postoperative control, proximal component instability; з, и – intraoperative control after revision surgery; к – after MCP arthroplasty.

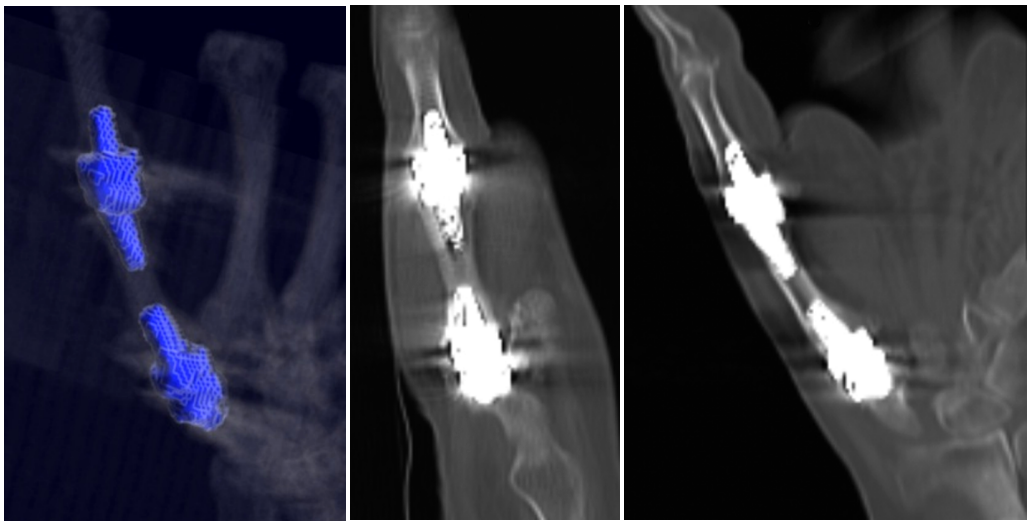


Рис. 6. МСКТ-исследование кисти пациентки в 2020 г.: а – 3D-реконструкция положения компонентов эндопротезов; б – положение компонентов во фронтальной проекции; в – положение компонентов в сагиттальной проекции.

Fig. 6. Multi-layer spiral CT: a – 3D-reconstruction of the position of endoprosthesis components; б – frontal projection; в – sagittal projection.

сегментах. Несмотря на то, что возраст пациентов предполагал отсутствие профессиональных нагрузок, крайне важным было сохранение функции и подвижности с целью выполнения широкого спектра социально-бытовых навыков. Нельзя забывать, что на первый палец приходится до 50 % функциональной нагрузки всей кисти, и его полноценная работа является крайне важной. В обоих случаях отмечается положительная динамика при сравнительной этапной оценке болевых ощущений и функциональных показателей. Конструкционные особенности других типов имплантатов не предполагают возможности их совмещения в смежных суставах одного пальца за счёт избыточной длины ножек компонентов. Нами же продемонстрирована возможность эндопротезирования смежных суставов первого пальца керамическими эндопротезами за счёт коротких ножек их компонентов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Техническая возможность артропластики сразу двух суставов первого пальца керамическими эндопротезами за счёт длины ножек компонентов открывает широкие возможности для более полноценного восстановления функции кисти.

Исследование выполнено при финансовой поддержке ФГБУ «ННИИТО им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России.

В соответствии с заключением локального этического комитета ФГБУ «ННИИТО им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России (протокол заседания № 017/20 от 29.04.2020 г.), работа «Восстановление функции первого пальца посредством последовательного эндопротезирования трапеции-пястного и пястно-фалангового суставов» от коллектива авторов (Прохоренко В.М., Александров Т.И., Симонова Е.Н.) может быть опубликована в открытой печати и не содержит секретной информации.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Капанджи А.И. *Верхняя конечность. Физиология суставов*. М.: Эксмо; 2009.

2. Barron OA, Catalano LW. Thumb basal joint arthritis. In: Wolfe S, Pederson W, Kozin SH. *Green's operative hand surgery*, 6th ed. USA: Elsevier Churchill Livingstone; 2010. 419-422.

3. Matullo KS, Ilyas A, Thoder JJ. CMC arthroplasty of the thumb: a review. *Hand (NY)*. 2007; 2(4): 232-239. doi: 10.1007/s11552-007-9068-9

4. Родоманова Л.А., Орлова И.В. Хирургическое лечение остеоартроза седловидного сустава (обзор литературы). *Травматология и ортопедия России*. 2018; 24(3): 135-144. doi: 10.21823/2311-2905-2018-24-3-135-144

5. Uriburu IJ, Olazabal A, Ciaffi M. Trapeziometacarpal osteoarthritis: surgical technique and results of "stabilized resection-arthroplasty", *J Hand Surg Am*. 1992; 17(4): 598-604. doi: 10.1016/0363-5023(92)90301-5

6. Hilker A, Miehlke RK, Schmidt K. Prosthetics of metacarpophalangeal joints. Z Rheumatology. 2007; 66(5): 366-375. doi: 10.1007/s00393-007-0193-1

7. Eaton RG, Floyd WE. Thumb metacarpophalangeal capsulodesis: an adjunct procedure to basal joint arthroplasty for collapse deformity of the first ray. *J Hand Surg Am*. 1988; 13(3): 449-453. doi: 10.1016/S0363-5023(88)80029-7

8. Косинская Н.С., Рохлин Д.Г. Рабочая классификация и общая характеристика поражений костно-суставного аппарата. Л.: Медгиз; 1961.

9. Eaton RG, Glickel SZ. Trapeziometacarpal osteoarthritis. Staging as a rationale for treatment. *Hand Clinics*. 1987; 3(4): 455-471.

REFERENCES

1. Kapanji IA. *Upper extremity*. *Joints physiology*. Moscow: Eksmo; 2009. (In Russ.)

2. Barron OA, Catalano LW. Thumb basal joint arthritis. In: Wolfe S, Pederson W, Kozin SH. *Green's operative hand surgery*, 6th ed. USA: Elsevier Churchill Livingstone; 2010. 419-422.

3. Matullo KS, Ilyas A, Thoder JJ. CMC arthroplasty of the thumb: a review. *Hand (NY)*. 2007; 2(4): 232-239. doi: 10.1007/s11552-007-9068-9

4. Rodomanova LA, Orlova IV. Surgical treatment of trapeziometacarpal osteoarthritis (review). *Traumatology and Orthopedics of Russia*. 2018; 24(3): 135-144. doi: 10.21823/2311-2905-2018-24-3-135-144. (In Russ.)

5. Uriburu IJ, Olazabal A, Ciaffi M. Trapeziometacarpal osteoarthritis: surgical technique and results of "stabilized resection-arthroplasty", *J Hand Surg Am*. 1992; 17(4): 598-604. doi: 10.1016/0363-5023(92)90301-5

6. Hilker A, Miehlke RK, Schmidt K. Prosthetics of metacarpophalangeal joints. Z Rheumatology. 2007; 66(5): 366-375. doi: 10.1007/s00393-007-0193-1

7. Eaton RG, Floyd WE. Thumb metacarpophalangeal capsulodesis: an adjunct procedure to basal joint arthroplasty for collapse deformity of the first ray. *J Hand Surg Am*. 1988; 13(3): 449-453. doi: 10.1016/S0363-5023(88)80029-7

8. Kosinskaya NS, Rokhlin DG. Classification and general characteristics of osteoarticular apparatus lesions. Leningrad: Medgiz; 1961. (In Russ.)

9. Eaton RG, Glickel SZ. Trapeziometacarpal osteoarthritis. Staging as a rationale for treatment. *Hand Clinics*. 1987; 3(4): 455-471.

Сведения об авторах

Прохоренко Валерий Михайлович – доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник, ФГБУ «Новосибирский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России; заведующий кафедрой травматологии и ортопедии, ФГБОУ ВО «Новосибирский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: VProhorenko@niito.ru, https://orcid.org/0000-0002-0655-9644

Александров Тимофей Игоревич – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник, ФГБУ «Новосибирский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России, e-mail: tymus@inbox.ru, https://orcid.org/0000-0002-6257-8356

Симонова Екатерина Николаевна – аспирант, ФГБУ «Новосибирский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России, e-mail: Nepalopeno@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-4368-169X

Information about the authors

Valery M. Prokhorenko – Dr. Sc. (Med.), Professor, Chief Research Officer, Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopedics; Head of the Department of Traumatology and Orthopedics, Novosibirsk State Medical University, e-mail: VProhorenko@niito.ru, https://orcid.org/0000-0002-0655-9644

Timofey I. Aleksandrov – Cand. Sc. (Med.), Senior Research Officer, Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopedics, e-mail: tymus@inbox.ru, https://orcid.org/0000-0002-6257-8356

Ekaterina N. Simonova – Postgraduate, Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopedics, e-mail: Nepalopeno@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-4368-169X

Статья получена: 27.08.2020. Статья принята: 30.09.2020. Статья опубликована: 26.10.2020.
Received: 27.08.2020. Accepted: 30.09.2020. Published: 26.10.2020.

DOI: 10.29413/ABS.2020-5.5.14

Малоинвазивный метод лечения посттравматических нарушений костного сращения большеберцовой кости

Лебедев В.Ф. [1], **Дмитриева Л.А.** [2], **Шурыгина И.А.** [2], **Хазиев П.Н.** [3]

[1] ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России (664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1, Россия); [2] ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, 1, Россия); [3] ОГАУЗ «Медсанчасть ИАПО» (664002, г. Иркутск, ул. Жукова, 9, Россия)

Автор, ответственный за переписку: Лебедев Виктор Фёдорович, e-mail: viclud2009@mail.ru

Резюме

Обоснование. *Основным методом лечения пациентов с посттравматическими нарушениями костной регенерации является хирургическое вмешательство с применением костной аутопластики. Вместе с тем, не разработано способов, позволяющих управлять процессами регенерации, обеспечивая замещение дефекта тканями с заданными характеристиками.*

Цель исследования. *Оценить эффективность сращения большеберцовой кости путём локального применения препарата интерферона-бета с пунктатом аутогенного костного мозга при посттравматических нарушениях репаративной регенерации.*

Материал и методы. *Проведён анализ эффективности клинического применения аутогенного костного мозга с интерфероном-бета-1b у 64 пациентов с замедленной консолидацией и ложными суставами большеберцовой кости. Все больные лечились методом погружного накостного остеосинтеза пластиной с угловой стабильностью. С целью оптимизации репаративного остеогенеза осуществлялось локальное введение в межотломковое пространство смеси, содержащей аутогенный костный мозг с раствором рекомбинантного интерферона-бета-1b.*

Результаты. *При пункционном локальном введении интерферона-бета с пунктатом аутогенного костного мозга при замедленной консолидации сращение перелома большеберцовой кости достигнуто в 100 % случаев. У пациентов с диагнозом «ложный сустав большеберцовой кости» положительный результат достигнут в 90,3 % случаев.*

Заключение. *Локальное применение аутогенного костного мозга совместно с препаратом рекомбинантного интерферона-бета-1b по предложенному способу позволяет добиться сращения кости при посттравматических нарушениях костной регенерации в 95,2 % случаев.*

Ключевые слова: *репаративный остеогенез, замедленная консолидация, ложный сустав, костный мозг, интерферон-бета*

Для цитирования: Лебедев В.Ф., Дмитриева Л.А., Шурыгина И.А, Хазиев П.Н. Малоинвазивный метод лечения посттравматических нарушений костного сращения большеберцовой кости. *Acta biomedica scientifica.* 2020; 5(5): 107-111. doi: 10.29413/ABS.2020-5.5.14

A Minimally Invasive Method for the Treatment of Post-Traumatic Disorders of the Bone Union of the Tibia

Lebedev V.F. [1], **Dmitrieva L.A.** [2], **Shurygina I.A.** [2], **Khaziev P.N.** [3]

[1] Irkutsk State Medical University (Krasnogo Vosstaniya str. 1, Irkutsk 664003, Russian Federation); [2] Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology (Bortsov Revolyutsii str. 1, Irkutsk 664003, Russian Federation); [3] Medical Unit of the Irkutsk Aviation Production Association (Zhukova str. 9, Irkutsk 664002, Russian Federation)

Corresponding author: Viktor F. Lebedev, e-mail: viclud2009@mail.ru

Abstract

Background. *The ability to control regeneration processes is a key link in the development of methods for treating patients with post-traumatic disorders of reparative osteogenesis.*

Aim of the study. *To evaluate the effectiveness of the fusion of the tibia by local application of the interferon-beta preparation with autogenous bone marrow punctate in post-traumatic disorders of reparative regeneration.*

Material and methods. *The analysis of the effectiveness of clinical application of autogenous bone marrow with interferon-beta-1b in 64 patients with delayed consolidation and pseudarthrosis of the tibia was carried out. All patients underwent external bone fixation. In order to optimize reparative osteogenesis during the operation, a mixture containing 3–4 ml of bone marrow with 8 million IU/0.5 ml of interferon beta-1b solution was injected locally into the interfragmental space.*

Results. *With puncture local injection of interferon-beta with punctate of autogenous bone marrow with delayed consolidation, fusion of the tibial fracture was achieved in 100 % of cases. In patients with a diagnosis of a pseudarthrosis of the tibia, a positive result was achieved in 90.3 % of cases. Thus, the local application of autogenous bone marrow together with the interferon-beta preparation made it possible to achieve bone fusion in post-traumatic disorders of bone regeneration in 95.2 % of cases.*

Conclusion. *With delayed consolidation and developing hypertrophic pseudoarthrosis in conditions of stable fixation with anatomical reposition of fragments, puncture autotransplantation of a mixture of bone marrow with a solution of interferon-beta is proposed.*

Key words: *reparative osteogenesis, delayed consolidation, pseudarthrosis, bone marrow, interferon-beta*

For citation: Lebedev V.F., Dmitrieva L.A., Shurygina I.A., Khaziev P.N. A Minimally Invasive Method for the Treatment of Post-Traumatic Disorders of the Bone Union of the Tibia. *Acta biomedica scientifica*. 2020; 5(5): 107-111. doi: 10.29413/ABS.2020-5.5.14

Проблема лечения пациентов с посттравматическими нарушениями костной регенерации на сегодняшний день не потеряла своей актуальности и является одной из сложных и далеко не решённых проблем современной травматологии и ортопедии. Основным методом лечения таких пациентов считается хирургическое вмешательство с применением костной аутопластики и часто, в сочетании с резекцией концов отломков [1]. Но не следует забывать о коррекции нарушений репаративного остеогенеза, необходимости управления процессами регенерации с учётом патогенетически значимых обстоятельств, которые складываются не только в местном окружении перелома, но на системном уровне [2, 3].

Исследования последних лет открывают всё новые свойства системы интерферонов (IFN). В частности, доказана роль интерферонов в регуляции остеогенных процессов и патологической деструкции костной ткани [4, 5, 6]. Проведённые исследования позволяют заключить, что система интерферонов участвует в физиологическом поддержании гомеостаза костной ткани, а также в модуляции костного метаболизма в условиях патологии. В связи с этим целенаправленное применение препаратов интерферонов может быть оправданным с целью коррекции нарушений костной регенерации и гомеостаза костной ткани. В специальной литературе описаны способы стимуляции репаративного остеогенеза при нарушении процессов консолидации переломов [7, 8]. В частности, имеются сообщения о положительных результатах клинического применения кристаллического химотрипсина при лечении переломов и ложных суставов. Однако отрицательным моментом данного способа, по мнению самих же авторов, является то, что для обеспечения сращения ложного сустава вместе с костным мозгом вводится химотрипсин, на который отмечались случаи развития аллергической реакции, а также отмечаются осложнения в послеоперационном периоде, характеризующиеся тромбозом глубоких вен оперированной конечности [9]. В ранее проведённом нами экспериментальном и клиническом исследовании было показано, что локальное введение в зону перелома препарата интерферона-бета способствует ускоренному образованию структурной костной мозоли без нарушения оссификации [10, 11]. Таким образом, возможность управления процессами регенерации остаётся ключевым звеном в разработке способов лечения при травматологической патологии.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценить эффективность сращения большеберцовой кости путём локального применения препарата интерферона-бета с пунктатом аутогенного костного мозга при посттравматических нарушениях репаративной регенерации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В основу анализа взяты истории болезни 64 пациентов с замедленной консолидацией и ложными суставами большеберцовой кости, прооперированных в период с 2013 по 2018 гг. в травматологическом отделении ОГАУЗ «Медсанчасть ИАПО».

Критериями включения в исследование явились болевой синдром, не купирующийся при консервативном лечении, нарушение функции конечности и снижение качества жизни. Замедленно консолидирующиеся переломы имели 33 пациента (51,6 %) – 22 мужчины и 11 женщин, средний возраст составил 40,5 года. Ложный сустав отмечен у 31 пациента (48,4 %) – у 17 мужчин и 14 женщин, средний возраст – 42,4 года. Всем пациентам выполнялась операция погружного накостного остеосинтеза пластиной с угловой стабильностью. Во время операции в межотломковое пространство вводилась смесь, содержащая 3–4 мл костного мозга с 8 млн МЕ/0,5 мл раствора интерферона-бета-1b, в условиях стабильного остеосинтеза. Сроки проведения операции – от 4 до 10 месяцев с момента получения травмы. Период наблюдения составил 2 года. Оценка эффективности хирургического лечения осуществлялась с использованием методики СОИ, разработанной специалистами ФГУ ЦИТО им. Н.Н. Приорова [12].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При поступлении в травматологическое отделение на оперативное лечение по системе СОИ было определено, что 7 пациентов (10,9 %) предъявляли жалобы на умеренную боль, поддающуюся лекарственной терапии, трудоспособность пациентов была снижена, самообслуживание ограничено. У остальных 57 больных (89,1 %) отмечалась минимальная боль, не требующая медикаментозной терапии, а также невидимая, но выявляемая при измерении гипотрофия мягких тканей. Рентгенологически у 33 (51,6 %) пациентов наблюдалась замедленная консолидация костных отломков, а у 31 (48,4 %) – ложный сустав. У всех пациентов имелись постоянные ограничения функции, требующие использования протезно-ортопедических изделий, всем было показано оперативное лечение. В итоге сумма баллов по всем показателям составила у пациентов с замедленной консолидацией 29,9, с ложным суставом – 28,2, что соответствует неудовлетворительному результату лечения.

Всем пациентам было показано оперативное лечение. В условиях стабильного остеосинтеза под местной анестезией с помощью шприца и внутрикостной иглы под контролем ЭОП локально в межотломковое пространство вводили смесь раствора, содержащего до 3–4 мл костного мозга, взятого пункционно из гребня подвздошной кости, и 8 млн МЕ/0,5 мл препарата интерферона-бета-1b.

Все пациенты отмечали уменьшение болевых ощущений и отёка мягких тканей конечности, что свидетельствует о положительном влиянии введённой смеси на состояние регионарного кровообращения в повреждённом сегменте голени. Через 3 месяца после операции пациенты с замедленной консолидацией отказались от приёма обезболивающих препаратов. Из 33 пациентов только у четверых сон был возможен с применением лекарственной терапии. Среди всех пациентов с замедленной консолидацией сращение перелома большеберцовой кости достигнуто во всех случаях, анатомо-функциональный исход лечения составил 94,6 балла, что соответствует хорошему результату (табл. 1).

Таблица 1

Динамика анатомо-функциональных исходов лечения у пациентов с замедленной консолидацией, %

Table 1

Dynamics of anatomical and functional treatment outcomes in patients with delayed consolidation, %

Оценка	Исход	Сроки после операции			
		3 мес.	6 мес.	1 год	2 года
СОИ	Анатомо-функциональный	52,7	87,4	90,7	94,6

Таблица 2

Динамика анатомо-функциональных исходов лечения у пациентов с ложными суставами большеберцовой кости, %

Table 2

Dynamics of anatomical and functional treatment outcomes in patients with pseudoarthrosis of the tibia, %

Оценка	Исход	Сроки после операции			
		3 мес.	6 мес.	1 год	2 года
СОИ	Анатомо-функциональный	50,7	69,8	80,1	82,5

У 31 пациента, которые наблюдались с диагнозом «ложный сустав большеберцовой кости», положительный результат достигнут в 90,3 % случаев (28 чел.), с гипертрофическим ложным суставом анатомо-функциональный исход лечения составил 82,5 балла, что также соответствует хорошему результату (табл. 2). У 3 пациентов (9,7 %) с атрофическим ложным суставом, которые ранее были подвергнуты нескольким оперативным вмешательствам, консолидация перелома не произошла.

Первые рентгенологические признаки образования костной мозоли определялись через 4 недели. В группе пациентов с замедленной консолидацией сращение перелома констатировано через 1,8 месяца (в среднем – 54 дня), консолидация при гипертрофическом ложном суставе наступала в среднем через 77 дней.

КЛИНИЧЕСКИЙ ПРИМЕР

Пациент П.В., 54 года, водитель такси, в результате ДТП получил закрытый перелом костей нижней трети диафиза левой голени. Доставлен в ОГАУЗ «Медсанчасть ИАПО», где была сделана операция: открытая репозиция костных фрагментов, накостный погружной остеосинтез пластиной с винтами. Через 6 месяцев после операции произведён этапный рентгенологический контроль костей левой голени в двух проекциях, и было выявлено отсутствие признаков консолидации области перелома (рис. 1). Под проводниковой анестезией больному произведена пункционная аутотрансплантация аутогенного костного мозга, взятого из крыла левой подвздошной кости в объёме 4,0 мл. В область несросшегося перелома левой большеберцовой кости введена смесь костного мозга с 8 млн МЕ/0,5 мл интерферона-бета-1b. На третьи сутки пациент приступил к нагрузке в режиме ежедневного возрастания от 15 % веса тела до 100 % к трём неделям. Через 1 месяц на контрольной рентгенограмме прослеживаются признаки образования костной мозоли (рис. 2). Спустя 1,8 месяца после аутотрансплантации смеси костного мозга с раствором интерферона-бета опороспособность конечности была восстановлена. На контрольной рентгенограмме левой большеберцовой и малоберцовой кости в двух проекциях видно, что наступила консолидация области перелома, чётко визуализируется костная мозоль (рис. 3). Через 8 месяцев удалена металлоконструкция, восстановлена целостность костей левой голени и функция конечности (рис. 4).

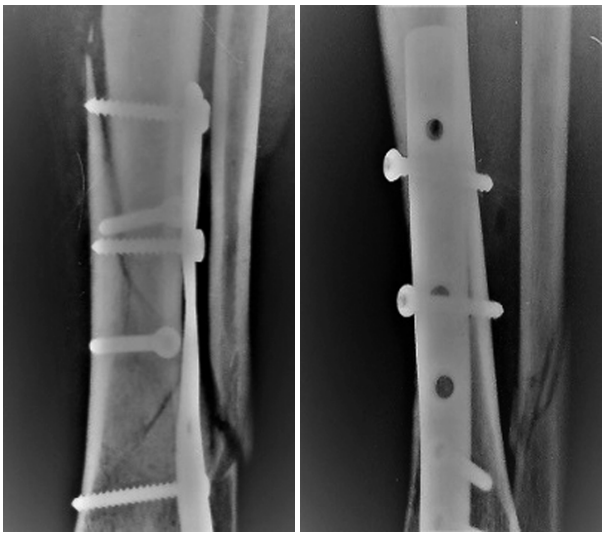


Рис. 1. Пациент П.В., 54 года. Рентгенограммы через 6 месяцев после остеосинтеза по поводу перелома, чётко определяются линии несращения перелома костей левой голени.

Fig. 1. Patient P.V., 54 y. o. X-ray 6 months after osteosynthesis, the lines of nonunion of the fracture of the left leg bones are clearly defined.

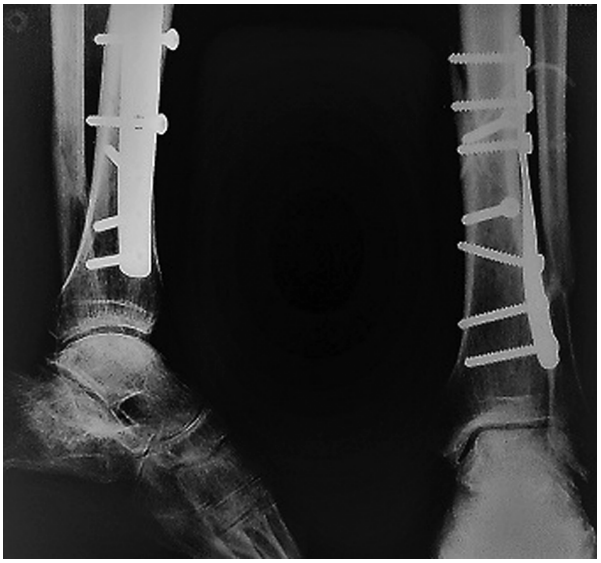


Рис. 2. Пациент П.В., 54 года. Рентгенограммы через 1 месяц после стимуляции, прослеживаются признаки образования костной мозоли.

Fig. 2. Patient P.V., 54 y. o. X-ray 1 month after stimulation, there are signs of callus formation.

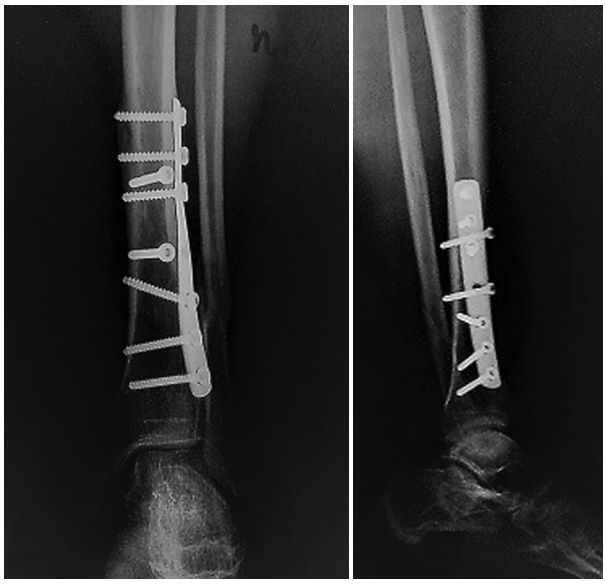


Рис. 3. Пациент П.В., 54 года. Рентгенограммы через 1,8 месяца после стимуляции, чётко визуализируется костная мозоль.

Fig. 3. Patient P.V., 54 y. o. X-ray 1.8 months after stimulation, callus is clearly visualized.

Рис. 4. Пациент П.В., 54 года. Рентгенограммы через 8 месяцев, удалена металлоконструкция, перелом костей левой голени консолидирован, восстановлена целостность большеберцовой и малоберцовой кости.

Fig. 4. Patient P.V., 54 y. o. X-ray 8 months later, the metal structure was removed, the fracture of the left tibia was consolidated, the integrity of the tibia and fibula was restored.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Локальное применение аутогенного костного мозга совместно с препаратом интерферона-бета по предложенному способу позволило добиться сращения кости при посттравматических нарушениях костной регенерации в 95,2 % случаев. При пункционном локальном введении интерферона-бета с пунктатом аутогенного костного мозга при замедленной консолидации сращение перелома большеберцовой кости достигнуто в 100 % случаев. У пациентов с диагнозом «ложный сустав большеберцовой кости» положительный результат достигнут в 90,3 % случаев.

На основе анализа экспериментальных и клинических исследований показано, что предлагаемый способ лечения пациентов с посттравматическими нарушениями костного сращения является менее травматичным, более физиологичным за счёт щадящего воздействия на повреждённые ткани и позволяет достичь в более короткий срок восстановления целостности ткани, восстановить опороспособность и функцию конечности. Таким образом, при замедленной консолидации и формирующихся гипертрофических ложных суставах в условиях стабильной фиксации с анатомической репозицией отломков предлагается пункционная аутотрансплантация смеси костного мозга с раствором интерферона-бета. Локальное введение такой смеси способствует улучшению микроциркуляции вокруг повреждённых тканей в зоне перелома за счёт стимуляции ангиогенеза, стимулирует структурную регенерацию хрящевой, костной, мышечной тканей, способствует снижению частоты гнойно-воспалительных осложнений.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи сообщают об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Прохорова Е.С., Уразгильдеев Р.З., Еремушкин М.А., Колышенков В.А. Современные подходы к лечению пациентов с ложными суставами и дефектами длинных костей нижних конечностей: Аналитический обзор. *Вестник восстановительной медицины*. 2020; 2(96): 84-89. doi: 10.38025/2078-1962-2020-96-2-84-89

2. Анкин Л.Н., Шмагой В.Л. Особенности тактики лечения нарушений репаративного остеогенеза переломов костей голени. *Травма*. 2014; 15(3): 126.

3. Оноприенко Г.А., Волошин В.П. Современные концепции процессов физиологического и репаративного остеогенеза. *Альманах клинической медицины*. 2017; 45(2): 79.

4. Amarasekara DS, Yun H, Kim S, Lee N, Kim H, Rho J. Regulation of osteoclast differentiation by cytokine. *Immune Netw.* 2018; 18(1): e8. doi: 10.4110/in/ 2018. 18.e8

5. Lezaki T, Onishi Y, Ozaki K, Fukasawa K, Takahata Y, Nakamura Y, et al. The transcriptional modulator interferon-related developmental regulator 1 in osteoblasts suppresses bone formation and promotes bone resorption. *J Bone Miner Res*. 2016; 31(3): 573-584. doi: 10. 1002/jbmr. 2720

6. Miyamoto T. Interferon and bone. *Clinical Calcium*. 2015; 25(11): 1653-1658. doi: clica151116531658

7. Абдулхаков Н.Т. Лечение ложных суставов костей голени методом внеочагового остеосинтеза с применением химотрипсина. *Травма*. 2008; 9(1): 52-54.

8. Зоря В.И., Ярыгин Н.В., Склянчук Е.Д., Васильев А.П. Ферментная стимуляция остеогенеза при лечении несросшихся переломов и ложных суставов костей конечности. *Вестник травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова*. 2007; (2): 80-88.

9. Склянчук Е.Д., Зоря В.И., Гурьев В.В., Васильев А.П. Остеогенные потенции нативного аутогенного костного мозга, индуцированного кристаллическим химотрипсином, при лечении посттравматических нарушений костной регенерации. *Травматология и ортопедия России*. 2009; (1): 42-49.

10. Лебедев В.Ф., Дмитриева Л.А., Шурыгина И.А., Шурыгин М.Г., Сумароков А.В., Коршунова Е.Ю. *Способ приготовления средства, обладающего свойством стимуляции регенерации хрящевой, костной, мышечной тканей и способ стимуляции регенерации хрящевой, костной, мышечной тканей с использованием приготовленного средства*: Пат. № 2527701 Рос. Федерация; МПК A61K 38/21, A61K 47/30, A61P 19/02; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр реконструктивной и восстановительной хирургии» Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. № 2013123962/15; заявл. 24.05.2013; опубл. 10.09.2014. Бюл. № 25.

11. Лебедев В.Ф., Дмитриева Л.А., Шурыгина И.А., Косарева М.А., Печенюк Г.В. *Способ лечения несросшегося перелома костей конечности*: Пат. № 2669051 Рос. Федерация; МПК A61B 17/58, A61K 35/28, A61K 38/21, A61P 19/08; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Иркутский научный центр хирургии и травматологии». № 2017124830; заявл. 11.07.2017; опубл. 05.10.2018. Бюл. № 28.

12. Миронов С.П., Маттис Э.Р., Троценко В.В. *Стандартизованные исследования в травматологии и ортопедии*. М.: Новости; 2008.

REFERENCES

1. Prokhorova ES, Urazgildeev RZ, Eremushkin MA, Kolyshenkov VA. Modern approaches to the treatment of patients with false joints and defects of the long bones of the lower extremities: An analytical review. *Bulletin of Rehabilitation Medicine*. 2020; 2(96): 84-89. doi: 10.38025/2078-1962-2020-96-2-84-89 (In Russ.)

2. Ankin LN, Shmagoy VL. Features of the tactics of treatment of disorders of reparative osteogenesis of fractures of the shin bones. *Trauma*. 2014; 15(3): 126. (In Russ.)

3. Onoprienko GA, Voloshin VP. Modern concepts of physiological and reparative osteogenesis processes. *Almanac of Clinical Medicine*. 2017; 45(2): 79. (In Russ.)

4. Amarasekara DS, Yun H, Kim S, Lee N, Kim H, Rho J. Regulation of osteoclast differentiation by cytokine. *Immune Netw*. 2018; 18(1): e8. doi: 10.4110/in/ 2018. 18.e8

5. Lezaki T, Onishi Y, Ozaki K, Fukasawa K, Takahata Y, Nakamura Y, et al. The transcriptional modulator interferon-related developmental regulator 1 in osteoblasts suppresses bone formation and promotes bone resorption. *J Bone Miner Res*. 2016; 31(3): 573-584. doi: 10. 1002/jbmr. 2720

6. Miyamoto T. Interferon and bone. *Clinical Calcium*. 2015; 25(11): 1653-1658. doi: clica151116531658

7. Abdulkhakov NT. Treatment of pseudoarthrosis of the lower leg bones by extrafocal osteosynthesis with the use of chymotrypsin. *Trauma*. 2008; 9(1): 52-54. (In Russ.)

8. Zorya VI, Yarygin NV, Sklyanchuk ED, Vasilyev AP. Enzyme stimulation of osteogenesis in the treatment of nonunion fractures and pseudarthrosis of the limb bones. *N.N. Priorov Journal of Traumatology and Orthopedics*. 2007; (2): 80-88. (In Russ.)

9. Sklyanchuk ED, Zorya VI, Guryev VV, Vasilyev AP. Osteogenic potential of native autogenous bone marrow induced by crystalline chymotrypsin in the treatment of post-traumatic disorders of bone regeneration. *Travmatologiya i ortopediya Rossii*. 2009; (1): 42-49. (In Russ.)

10. Lebedev VF, Dmitrieva LA, Shurygina IA, Shurygin MG, Sumarokov AV, Korshunova EY. *A method for preparing an agent having the property of stimulating the regeneration of cartilage, bone and muscle tissues, and a method of stimulating the regeneration of cartilage, bone, and muscle tissues using a prepared preparation*: Patent N 252770 of the Russian Federation. 2014. (25). (In Russ.)

11. Lebedev VF, Dmitrieva LA, Shurygina IA, Kosareva MA, Pechenyuk GV. *Method for the treatment of non-fused limb fracture*: Patent N 2669051 of the Russian Federation. 2018. (28). (In Russ.)

12. Mironov SP, Mattis ER, Trotsenko VV. *Standardized research in traumatology and orthopedics*. M.: Novosti; 2008. (In Russ.)

Сведения об авторах

Лебедев Виктор Фёдорович – кандидат медицинских наук, доцент кафедры травматологии и ортопедии, ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» Минздрава России, e-mail: viclud2009@mail.ru, http://orcid.org/0000-0003-0296-1342

Дмитриева Людмила Аркадьевна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории клеточной патофизиологии и биохимии, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», e-mail: viclud2009@mail.ru, http://orcid.org/0000-0001-6725-3377

Шурыгина Ирина Александровна – доктор медицинских наук, профессор РАН, заместитель директора по научной работе, ФГБНУ «Иркутский научный центр хирургии и травматологии», http://orcid.org/0000-0003-3980-050X

Хазиев Павел Нургалиевич – заведующий травматологическим отделением, ОГАУЗ «Медсанчасть ИАПО»

Information about the authors

Viktor A. Lebedev – Cand. Sc. (Med.), Associate Professor at the Department of Traumatology and Orthopedy, Irkutsk State Medical University, e-mail: viclud2009@mail.ru, http://orcid.org/0000-0003-0296-1342

Lyudmila A. Dmitriyeva – Cand. Sc. (Med.), Senior Research Officer at the Laboratory of Cellular Pathology and Biochemistry, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, e-mail: viclud2009@mail.ru, http://orcid.org/0000-0001-6725-3377

Irina A. Shuruguna – Dr. Sc. (Med.), Professor of the Russian Academy of Sciences, Deputy Director for Science, Irkutsk Scientific Centre of Surgery and Traumatology, http://orcid.org/0000-0003-3980-050X

Pavel N. Khaziyev – Head of Traumatology Unit, Medical Unit of the Irkutsk Aviation Production Association

Статья получена: 02.09.2020. Статья принята: 16.09.2020. Статья опубликована: 26.10.2020.
Received: 02.09.2020. Accepted: 16.09.2020. Published: 26.10.2020.

Формат 60×84/8. Бумага офсетная. Сдано в набор 16.10.2020. Подписано в печать 26.10.2020.
Печ. л. 14,0. Усл. печ. л. 13,02. Уч. изд. л. 11,8. Зак. 036-20. Тир. 500.

Отпечатано в редакционно-издательском отделе ИНЦХТ.
Адрес типографии: 664003, Иркутск, ул. Борцов Революции, 1.
Тел. 29-03-37, 29-03-70. E-mail: arleon58@gmail.com