

КУРСКИЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ВЕСТНИК "ЧЕЛОВЕК И ЕГО ЗДОРОВЬЕ"

Ежеквартальный рецензируемый журнал

Основан в 1998 году

№ 1

2018

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

В.А. Лазаренко, <i>д.м.н., профессор</i>	–	главный редактор	П.В. Калуцкий, <i>д.м.н., профессор</i>	д.м.н., профессор
П.В. Ткаченко <i>д.м.н., доцент</i>	–	зам. главного редактора	Т.Л. Киселева, <i>д.ф.н., профессор</i>	д.ф.н., профессор
И.И. Бобынцев, <i>д.м.н., профессор</i>	–	ответственный секретарь	В.Б. Ласков, <i>д.м.н., профессор</i>	д.м.н., профессор
А.И. Бежин, <i>д.м.н., профессор</i>			Н.Н. Маслова, <i>д.м.н., профессор</i>	д.м.н., профессор
М.М. Гурова, <i>д.м.н., доцент</i>			В.П. Михин, <i>д.м.н., профессор</i>	д.м.н., профессор
А.А. Должиков, <i>д.м.н., профессор</i>			С.В. Поветкин, <i>д.м.н., профессор</i>	д.м.н., профессор
И.Л. Дроздова, <i>д.ф.н., доцент</i>			А.В. Полоников, <i>д.м.н., профессор</i>	д.м.н., профессор
А.В. Иванов, <i>д.м.н., профессор</i>			А.А. Савин, <i>д.м.н., профессор</i>	д.м.н., профессор
В.П. Иванов, <i>д.м.н., профессор</i>			Б.С. Суковатых, <i>д.м.н., профессор</i>	д.м.н., профессор
			И.Г. Хмелевская, <i>д.м.н., профессор</i>	д.м.н., профессор
			О.Л. Чугунова, <i>д.м.н., профессор</i>	д.м.н., профессор
			В.К. Шорманов, <i>д.ф.н., профессор</i>	д.ф.н., профессор

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

И.В. Гайворонский, <i>профессор (Санкт-Петербург)</i>	А.В. Караулов, <i>академик РАН (Москва)</i>
В.К. Гостищев, <i>академик РАН (Москва)</i>	В.Г. Кукес, <i>академик РАН (Москва)</i>
К.Г. Гуревич, <i>профессор РАН (Москва)</i>	М.З. Нариманян, <i>профессор (Ереван)</i>
И.И. Долгушин, <i>академик РАН (Челябинск)</i>	Г.В. Порядин, <i>член-корр. РАН (Москва)</i>

Журнал включен в перечень изданий, рекомендованных ВАК РФ для публикаций материалов докторских и кандидатских диссертаций.

Свидетельство о регистрации:
ПИ № 77-3066 от 10.04.2000 г.

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



Адрес редакции:

305041, Курск, ул. К. Маркса, 3, редакция журнала
«Курский научно-практический вестник «Человек
и его здоровье»
Тел. (4712) 58-81-48
Факс (4712) 58-81-37
E-mail: kursk-vestnik@mail.ru
www.kursk-vestnik.ru

Подписной индекс в каталоге «Пресса России» 48473.

© Редколлегия Курского научно-практического
вестника «Человек и его здоровье»
(составитель), 2018 г.

KURSK SCIENTIFIC AND PRACTICAL BULLETIN

“MAN AND HIS HEALTH”

A quarterly reviewed journal

Established in 1998

№ 1

2018

EDITORIAL BOARD:

V.A. Lazarenko, <i>PhD, MD, Full Professor</i>	– Editor-in-chief	V.P. Ivanov, P.V. Kalutsky, T.L. Kiseleva,	PhD, MD, Full Professor PhD, MD, Full Professor PhD, Doctor of Pharmacy, Full Professor
P.V. Tkachenko, <i>PhD, MD, Associate Professor</i>	– Deputy Chief editor	V.B. Laskov, N.N. Maslova, V.P. Mikhin,	PhD, MD, Full Professor PhD, MD, Full Professor PhD, MD, Full Professor
I.I. Bobyntsev, <i>PhD, MD, Full Professor</i>	– Executive secretary	S.V. Povetkin, A.V. Polonikov, A.A. Savin,	PhD, MD, Full Professor PhD, MD, Full Professor PhD, MD, Full Professor
A.I. Bezhin,	PhD, MD, Full Professor	B.S. Sukovatykh, I.G. Khmelevskaya,	PhD, MD, Full Professor PhD, MD, Full Professor
M.M. Gurova	PhD, MD, Associate Professor	O.L. Chugunova,	PhD, MD, Full Professor
A.A. Dolzhikov,	PhD, MD, Full Professor	V.K. Shormanov,	PhD, Doctor of Pharmacy, Full Professor
I.L. Drozdova,	PhD, Doctor of Pharmacy, Associate Professor		
A.V. Ivanov,	PhD, MD, Full Professor		

STYLE COMMITTEE:

I.V. Gayvoronsky,	Professor (St. Petersburg)	A.V. Karaulov,	Academician of the Russian Academy of Sciences (Moscow)
V.K. Gostishchev,	Academician of the Russian Academy of Sciences (Moscow)	V.G. Kukes,	Academician of the Russian Academy Of Sciences (Moscow)
K.G. Gurevich,	Professor of the Russian Academy of Sciences (Moscow)	M.Z. Narimanyan,	Professor (Yerevan)
I.I. Dolgushin,	Academician of the Russian Academy of Sciences (Chelyabinsk)	G.V. Poryadin,	Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences (Moscow)

The journal is included in the list of publications, recommended for Doctoral and Phd theses by the Higher Attestation Commission of Russian Federation

Registration certificate
ПИ № 77-3066 от 10.04.2000 г.



Editorial office address:

305041, K. Marx, 3, Kursk, Russia
Editorial office of the journal "Kursk Scientific and Practical Bulletin
«Man and his health»
Tel. (4712) 58-81-48
Fax (4712) 58-81-37
E-mail: kursk-vestnik@mail.ru
www.kursk-vestnik.ru

Subscription index in «Russian Press» catalogue 48473.

© Editorial board of Kursk Scientific and Practical Bulletin «Man and his health» (drafter), 2018

СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА

Аклеев А.А., Долгушин И.И. Клеточный состав периферической крови у облучённых лиц в период, предшествующий формированию лейкозов	5
Конопля А.А., Иванова О.Ю., Быстрова Н.А., Телегина О.В. Клинико-лабораторная эффективность стандартов оказания медицинской помощи при внутреннем эндометриозе	10
Журавлев Ю.И., Тхорикова В.Н. Валидация методики комплексной оценки полиморбидности	17
Михин В.П., Коробова В.Н., Харченко А.В., Спасский А.А., Каюшников А.Б., Ледовский С.М., Маркина Т.Н., Черныatina М.А. Сравнительная оценка психоэмоционального и функционального состояния пациентов с острым коронарным синдромом в зависимости от его исхода.....	25
Рябая И.Н., Сердечная Е.В. Фибрилляции предсердий у пациентов с ожирением в практике терапевта	30
Писарева А.Д., Матвиенко Е.В., Кривдина Н.Д., Хмелевская И.Г., Разинькова Н.С. Особенности течения реактивных артритов у детей и подростков на современном этапе.....	36
Шкодкин С.В., Золотухин Д.А., Идашкин Ю.Б., Фиронов С.А., Невский А.А., Ивлев С.Б. Способы профилактики геморрагических осложнений при позадилоной аденомэктомии	40
Никишина В.Б., Петраш Е.А., Шутеева Т.В., Стороженко М.В., Савостиков В.А. Формирование навыков самообслуживания в программе восстановительного обучения пациентов молодого возраста с острыми нарушениями мозгового кровообращения	47
Онницев И.Е., Дзидзава И.И., Котив Б.Н., Ивануса С.Я., Зубарев П.Н., Алентьев С.А., Парфенов А.О. Профилактика ранних послеоперационных тромбозов портокавальных шунтов у пациентов с циррозом печени.....	54
Князева Л.И., Князева Л.А., Григер З., Горайнов И.И., Прибылов С.А., Мещерина Н.С., Степченко М.А., Безгин А.В., Хардикова Е.М., Понкратов В.И., Бобынцев Я.И. Субклиническое поражение магистральных артерий при ревматоидном артрите и иммунологические маркеры метаболизма костной ткани.....	61

МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

Долгарева С.А., Бушмина О.Н., Харченко А.В., Конопля Н.А., Сорокин А.В. Особенности белково-липидного спектра мембран эритроцитов при экспериментальном остром деструктивном панкреатите в условиях алкогольной интоксикации	72
Тапальский Д.В., Тапальский Ф.Д. Антибактериальные свойства растительных экстрактов и их комбинаций с антибиотиками в отношении экстремально-антибиотикорезистентных микроорганизмов	78
Суковатых Б.С., Блинков Ю.Ю., Нетьага А.А., Затолокина М.А., Полевой Ю.Ю., Жуковский В.А. Особенности тканевой реакции брюшной стенки на имплантацию легкого усиленного эндопротеза для герниопластики в зависимости от варианта его расположения.....	84

CLINICAL MEDICINE

Akleyev A.A., Dolgushin I.I. Peripheral blood cellular composition in persons exposed during the period preceding leukemia development	5
Konoplya A.A., Ivanova O.Yu., Bystrova N.A., Teleghina O.V. Clinical-laboratory efficiency of standards of rendering medical care in internal endometriosis	10
Zhuravlev Y.I., Tkhorikova V.N. Validation of the method of complex evaluation of polymorbidity	17
Mikhin V.P., Korobova V.N., Kharchenko A.V., Spasskiy A.A., Kayushnikov A.B., Ledovskiy S.M., Markina T.N., Chernyatina M.A. Comparative assessment of psycho-emotional and functional state of patients with acute coronary syndrome according to its outcome.....	25
Ryabaya I.N., Serdechnaya E.V. Atrial fibrillation in obese patients in therapeutic practice.....	30
Pisareva A.D., Matvienko E.V., Krivdina N.D., Khmelevskaya I.G., Razinkova N.S. Features of the course of reactive arthritis in children and adolescents at present stage	36
Shkodkin S.V., Zolotukhin D.A., Idashkin Y.B., Fironov S.A., Nevsky A.A., Ivlev S.B. Methods of prevention of hemorrhagic complications in retropubic adenomectomy	40
Nikishina V.B., Petrash E.A., Shuteeva T.V., Storozenko M.V., Savostikov V.A. Formation of self-service skills in the program of retroactive training of young patients with acute disorders of cerebral circulation).....	47
Onnitsev I.E., Dzidzava I.I., Kotiv B.N., Ivanusa S.Ya., Zubarev P.N., Alentiev S.A., Parfenov A.O. Prevention of early postoperative thrombosis of portocaval shunts in patients with hepatic cirrhosis.....	54
Knyazeva L.I., Knyazeva L.A., Griger Z., Goryainov I.I., Pribylov S.A., Meshcherina N.S., Stepchenko M.A., Bezgin A.V., Khardikova E.M., Ponkratov V.I., Bobyntsev Ya.I. Clinical and biochemical aspects of complex therapy of complicated forms of chronic venous insufficiency of lower extremities	61

MEDICOBIOLOGICAL SCIENCES

Dolgareva S.A., Bushmina O.N., Kharchenko A.V., Konoplya N.A., Sorokin A.V. The peculiarities of protein-lipid spectrum of erythrocyte membranes in experimental acute destructive pancreatitis under the conditions of alcoholic intoxication	72
Tapalski D.V., Tapalski F.D. Antibacterial effects of herbal extracts and their combinations with antibiotics in relation to extensively antibiotic-resistant microorganisms.....	78
Sukovatykh B.S., Blinkov Yu.Yu., Netyaga A.A., Zatolokina M.A., Polevoy Yu.Yu., Zhukovskiy V.A. Peculiarities of abdominal wall tissue response on implantation of the light strengthened endoprosthesis for hernioplasty in relation to its arrangement option.....	84

Гайворонская М.Г., Гайворонский И.В., Шашков В.А., Семенова А.А. Особенности изменения формы и размеров головки нижней челюсти при аномальных прикусах и потере зубов.....	93
Додонова С.А., Белых А.Е., Бобынцев И.И. Регуляторные пептиды семейства меланокортинов: биосинтез, рецепция, биологические эффекты.....	99
Ангалева М.М., Авдеева Е.В., Быстрова Н.А. Антиоксидантное и иммуотропное действие неселективного ингибитора аргиназы в комбинации с антигипоксантами в условиях гистотоксической гипоксии.....	109
Рымарова Л.В., Клёсова Е.Ю., Волкова А.В., Бушуева О.Ю., Азарова Ю.Э., Ласков В.Б., Полоников А.В. Курение как провоцирующий фактор риска развития ишемического инсульта у лиц с генетическим вариантом rs486055 матричной металлопротеиназы-10.....	115

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ НАУКИ

Баранов Ю.Н., Шорманов В.К., Нестерова А.В., Коваленко Е.А. Разработка и валидация методики определения 2-диметиламино-1,3-бис-(фенилсульфонилтио)пропана в ткани гнилостно изменённой печени.....	121
Безязычная А.А., Шорманов В.К., Сипливая Л.Е. Определение цефтриаксона в биологическом материале.....	128

Gayvoronskaya M.G., Gayvoronskiy I.V., Shashkov V.A., Semenova A.A. Special features of shape and size changes of mandibular head in abnormal bites and teeth loss	93
Dodonova S.A., Belykh A.E., Bobyntsev I.I. Regulatory peptides of the melanocortin family: biosynthesis, reception, biological effects	99
Angalev M.M., Avdeyeva E.V., Bystrova N.A. Antioxidant and immunotropic action of a non-selective arginase inhibitor in combination with antihypoxic drugs in the presence of histotoxic hypoxia	109
Rymarova L.V., Klyosova E.Yu., Volkova A.V., Bushueva O.Yu., Azarova Yu.E., Laskov V.B., Polonikov A.V. Smoking as a trigger factor for the development of ischemic stroke in persons with the genetic variant of rs486055 of matrix metalloproteinase-10	115

PHARMACEUTICAL SCIENCES

Baranov Yu.N., Shormanov V.K., Nesterova A.V., Kovalenko E.A. Development and validation of procedure for determining 2-dimethylamino-1.3-bis-(phenylsulfonylthio) propane in putrefied liver tissue.....	121
Bezyazychnaya A.A., Shormanov V.K., Siplivaya L.E. Determination of ceftriaxone in biological material.....	128

КЛЕТОЧНЫЙ СОСТАВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ У ОБЛУЧЁННЫХ ЛИЦ В ПЕРИОД, ПРЕДШЕСТВУЮЩИЙ ФОРМИРОВАНИЮ ЛЕЙКОЗОВ

© Аклеев А.А.^{1,2}, Долгушин И.И.²

¹ Лаборатория молекулярно-клеточной радиобиологии

Уральского научно-практического центра радиационной медицины, Челябинск;

² кафедры микробиологии, вирусологии, иммунологии и клинической лабораторной диагностики

Южно-Уральского государственного медицинского университета, Челябинск

E-mail: andrey.akleev@yandex.ru

По результатам 60-летнего наблюдения за жителями прибрежных сел реки Течи, подвергшихся хроническому радиационному воздействию, ретроспективно был проанализирован клеточный состав периферической крови у 57 человек, заболевших лейкозами (МКБ-9, рубрики 204-208). Анализ проведен для трех периодов: максимального радиационного воздействия (1950-1956 гг.), восстановления гемопоэза (1957-1970 гг.) и отдаленных последствий (после 1970 г.). Клеточный состав периферической крови у облученных лиц с лейкозами был также оценен в латентном периоде. У лиц, подвергшихся хроническому облучению (среднее значение поглощенной дозы на красный костный мозг составило $0,77 \pm 0,21$ Гр) и заболевших впоследствии лейкозами, не обнаружено каких-либо особенностей со стороны клеточного состава периферической крови во время максимального радиационного воздействия, восстановления кроветворения и отдаленных последствий, а также в латентном периоде лейкозов.

Ключевые слова: красный костный мозг, лейкоз, доза облучения, клеточный состав периферической крови.

PERIPHERAL BLOOD CELLULAR COMPOSITION IN PERSONS EXPOSED DURING THE PERIOD PRECEDING LEUKEMIA DEVELOPMENT

Akleyev A.A.^{1,2}, Dolgushin I.I.²

¹ Laboratory of Molecular-Cellular Radiobiology of Urals Research Center for Radiation Medicine, Chelyabinsk;

² Department of Microbiology, Virology, Immunology and Clinical Laboratory Diagnostics of Southern-Urals State Medical University, Chelyabinsk

Retrospective analysis of the peripheral blood cellular composition in 57 persons diagnosed with leukemia (ICD-9, codes 204-208) was performed based on a 60-year follow-up of the Techa riverside residents affected by chronic radiation exposure. The analysis covered three periods: that of maximal radiation exposure (1950-1956), of hematopoiesis recovery (1957-1970), and of late effects (after 1970). Peripheral blood cellular composition in exposed persons was also studied during the latency period. People affected by chronic radiation exposure (mean absorbed dose to red bone marrow amounted to 0.77 ± 0.21 Gy) and diagnosed with leukemia did not exhibit any peculiar features of cellular composition of blood during the period of maximal radiation exposure, hematopoiesis recovery, late effects, and also during the latency period of leukemia.

Keywords: red bone marrow, leukemia, exposure dose, peripheral blood cellular composition.

Одним из наиболее неблагоприятных отдаленных медицинских последствий действия ионизирующей радиации на организм человека является развитие злокачественных новообразований. Эпидемиологические наблюдения, проведенные в различных группах облученных лиц, свидетельствовали о наиболее высоком радиационном риске развития у них лейкозов [9, 12, 13].

Большой практический интерес представляет наблюдение за жителями прибрежных сел реки Течи, подвергшимися многолетнему радиационному воздействию преимущественно с низкой мощностью дозы вследствие сбросов жидких радиоактивных отходов Производственным объединением «Маяк» в реку Течу. Известно, что критическими системами у жителей прибрежных сел являлись кроветворная и иммунная [1, 2, 11]. Это обусловлено в первую очередь значительным вкладом внутреннего облучения красного костно-

го мозга (ККМ), в котором находятся гемопоэтические стволовые клетки (ГСК) и клетки-предшественники гемо- и иммунопоэза. Во-вторых, высокой радиочувствительностью клеток кроветворной и иммунной системы. Внутреннее облучение ККМ было преимущественно обусловлено остеотропными радионуклидами стронция (^{89}Sr и ^{90}Sr), доля которых в сбросах была существенной [1]. Внешнее γ -облучение, вызванное главным образом ^{137}Cs , ^{95}Zr , ^{95}Nb , ^{106}Ru , способствовало относительно равномерному облучению всего организма.

Результаты эпидемиологических исследований, проведенных в отдаленные сроки (спустя 60-65 лет после начала облучения), свидетельствовали о существенном повышении радиационного риска развития лейкозов у жителей прибрежных сел реки Течи. Атрибутивный риск их достигал 50% [12]. Исследования, проведенные в более

ранние годы [1, 2, 4, 10, 11], позволили отметить длительное угнетение гемопоэза и функционального состояния иммунной системы у лиц, доза облучения ККМ у которых превышала 400 мГр. Восстановление кроветворения и иммунологического статуса происходило медленно, что было обусловлено длительным облучением ККМ со снижающейся мощностью дозы за счет инкорпорированного в костной ткани основного дозообразующего радионуклида – β -излучателя ^{90}Sr (период полураспада – 28,1 года) [6].

В данной работе проведен ретроспективный анализ клеточного состава периферической крови (КСПК) у жителей прибрежных сел реки Течи, которые в последующем заболели лейкозами. Исследование имело своей целью изучить возможную связь ранних изменений гемопоэза, которые имели место в период максимального радиационного воздействия (1950-1956 гг.), с развитием такого отдаленного фатального радиационного эффекта, как лейкоз. Значительный интерес представляло исследование КСПК и в периоде восстановления гемопоэза (1957-1970 гг.). В этом периоде после снижения мощности дозы облучения ККМ до 100 мГр/год и ниже у облученных лиц нередко отмечались лейкоцитоз, преимущественно за счет повышения числа нейтрофильных гранулоцитов в крови, а также палочкоядерный сдвиг влево [2]. Состояние КСПК оценивалось также и в отдаленные сроки после начала радиационного воздействия (после 1970 года), когда в подавляющем большинстве случаев имело место восстановление гемопоэза, однако частота умеренной лейкопении ($<4,0 \times 10^9/\text{л}$) сохранялась повышенной до 2002 года [1].

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Всего за период с 1950-го по 2015 г. в когорте реки Течи (КРТ), которая включает 29730 постоянных жителей прибрежных сел, было зарегистрировано 99 случаев лейкозов. В настоящий анализ было включено 57 случаев лейкозов (МКБ-9, рубрики 204-208), которые были зарегистрированы у лиц, регулярно наблюдавшихся в клинике Уральского научно-практического центра радиационной медицины (УНПЦ РМ) ФМБА России и проходивших гематологические исследования. Исследуемая группа включала 22 случая (38,6%) острых лейкозов (коды по МКБ-9 204.0-208.0) и 35 случаев (61,4%) хронических лейкозов (коды по МКБ-9 205.1-208.1). Диагноз лейкоза во всех случаях был морфологически верифицирован. Из анализа исключались случаи лейкозов у мигрантов, которые выехали за пределы территории наблюдения (Челябинская и Курганская об-

ласти). Из исследования также были исключены случаи хронического лимфолейкоза (рубрика по МКБ-9 204.1), который, согласно современным представлениям, не индуцируется ионизирующей радиацией. Таким образом, в исследование включались только те случаи лейкозов, которые могли быть потенциально индуцированы ионизирующей радиацией [14].

В состав группы сравнения были включены облученные жители прибрежных сел реки Течи, которые также проходили регулярное наблюдение в период с 1951-го по 2015 г. в клинике УНПЦ РМ (до 1955 г. исследования проводились в экспедиционных условиях), но у которых не было зарегистрировано лейкозов, злокачественных новообразований и аутоиммунных заболеваний. В исследование включались анализы крови, проведенные при отсутствии острых воспалительных и инфекционных заболеваний, а также вне обострения хронических воспалительных заболеваний, беременности и других состояний, которые могли оказать влияние на КСПК. Чтобы исключить влияние возраста, пола, дозы облучения ККМ, группа сравнения формировалась методом «копия-кара» по вышеуказанным параметрам. При формировании группы сравнения также учитывался этнический фактор. Характеристика обследованных лиц по полу, возрасту, этнической принадлежности и поглощенной дозе облучения ККМ представлена в таблице 1.

Как видно из таблицы 1, 31 случай лейкозов был зарегистрирован у женщин (54,4%), 26 случаев – у мужчин (45,6%). Средний достигнутый возраст на момент установления диагноза лейкоза составил 57 лет (возрастной диапазон 13-82 лет). Среди больных лейкозами лица славянской этнической группы (в основном русские) – 34 человека (59,7%) превалировали над представителями тюркской (главным образом татары и башкиры) – 23 человека (40,3%). Индивидуальные значения дозы облучения ККМ, рассчитанные с использованием дозиметрической системы реки Течи TRDS-2009 [1] на время установления диагноза лейкоза, достигали 6,60 Гр (среднее значение $0,77 \pm 0,21$ Гр), а дозы облучения тимуса и периферических органов иммуногенеза – 0,54 Гр (среднее значение $0,06 \pm 0,02$).

Клеточный состав периферической крови исследовали с использованием стандартных методов лабораторной диагностики. До 1968 г. уровень гемоглобина определялся с помощью гемометра Сали, количество эритроцитов и лейкоцитов – меланжерными методами в камере Горяева, тромбоцитов – в мазках, окрашенных по Фонию [7]. С 1969 г. клеточный состав периферической крови изучался на автоматических анализаторах «Celloscope», «Пикоскель» и «Digicell-1400»,

Таблица 1

Характеристика обследованных лиц

Пол	Мужчины, %	45,6 (26 человек)
	Женщины, %	54,4 (31 человек)
	Всего, %	100 (57 человек)
Средний возраст на момент обследования, лет	1950-1956 гг.	27,7±2,1 (2-60)
	1957-1970 гг.	33,0±2,3 (8-78)
	1971 г. и далее	47,7±2,2 (27-75)
	латентный период	48,0±4,0 (10-103)
Средний возраст на момент установления диагноза, лет		57,0±2,2 (13-82)
Этническая группа	славяне	59,7 (34 человека)
	тюрки	40,3 (23 человека)
Кумулятивная доза облучения ККМ, Гр		0,77±0,21 (0,001-6,60)
Кумулятивная доза облучения тимуса и периферических органов иммуногенеза, Гр		0,06±0,02 (0,001-0,54)

уровень гемоглобина определялся гемоглобинцианидным методом [5] и на анализаторе «Digicell-1400». Подсчет лейкоцитарной формулы крови во все сроки проводили методом световой микроскопии в мазках, окрашенных по методу Романовского-Гимза [5].

В период с 1950-го по 1956 г. в исследование включались анализы крови, которые были проведены наиболее рано после максимальных сбросов в 1951 году. В период восстановления гемопоэза (1957-1970 гг.) и в отдаленном периоде (после 1970 года) в анализ включались исследования, проведенные в середине изучаемого периода. Интерес представляло исследование КСПК у лиц, больных лейкозами, в латентном периоде. Как известно, лейкоз, как правило, диагностируется при наличии у больного клинических проявлений заболевания, поэтому анализ гематологических показателей в предлейкозном периоде мог бы позволить оценить возможные биомаркеры для диагностики лейкозов на ранних стадиях, когда еще нет клинических проявлений заболевания. Латентный период для развития лейкозов у жителей прибрежных сел реки Течи принимался равным 3 годам.

Характер распределения исследуемых показателей в группах обследованных лиц проводился с использованием критерия Шапиро-Уилка. Поскольку распределение не всегда было нормальным, статистическую обработку данных проводили с использованием непараметрических методов анализа. Базовый статистический анализ включал в себя расчет средних значений показателей, ошибок средних с указанием диапазонов вари-

бельности индивидуальных значений показателей. Сравнение несвязанных групп (облученных, имевших впоследствии лейкозы, и облученных без лейкозов) проводилось путем вычисления U-критерия Манна-Уитни. Нулевая гипотеза об отсутствии различий между сравниваемыми группами отвергалась при $p < 0,05$, и принималась альтернативная гипотеза о наличии статистически значимых различий [8]. Сравнение частот встречаемости тех или иных явлений в исследуемых группах проводилось путем вычисления критерия χ^2 [3]. Статистическую обработку данных проводили при помощи табличного редактора Microsoft Excel 2013, а также пакета прикладных программ Statistica 10.0.

Работа одобрена этическим комитетом ФГБУН «Уральский научно-практический центр радиационной медицины» ФМБА России и выполнена по контракту № 27.501.14.2 от 25.02.2014 г. в рамках ФЦП «Обеспечение ядерной и радиационной безопасности на 2008 год и на период до 2015 года».

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В период максимальных сбросов в реку Течу (1950-1956 гг.) у облученных лиц, имевших впоследствии лейкозы, статистически значимо реже регистрировались случаи снижения уровня гемоглобина крови, выходящие за 1,5 σ , среди женщин и достоверно чаще случаи эритроцитопений среди мужчин по сравнению с облученными, не имевшими в дальнейшем лейкозов. По остальным

показателям крови не было отмечено статистически значимых отличий от группы сравнения. Средние значения уровня гемоглобина крови у женщин исследуемой группы были статистически значимо выше по сравнению с таковыми в группе сравнения. Не было отмечено статистически значимых отличий по остальным показателям.

В периоде восстановления кроветворения (1957-1970 гг.) в группе облученных лиц с лейкозами статистически значимо чаще, чем в группе сравнения, встречались случаи снижения уровня гемоглобина у мужчин. Наблюдаемые изменения со стороны системы крови сочетались с большей частотой встречаемости эритроцитозов у женщин в исследуемой группе относительно группы сравнения. Средние значения показателей системы крови претерпевали сходные с частотными изменениями в исследуемой группе, что свидетельствовало об однонаправленном характере изменений этих показателей у большей части представителей исследуемой группы. В частности, средние значения уровня гемоглобина крови у мужчин были статистически значимо ниже относительно группы облученных мужчин без лейкозов. Напротив, среднее значение количества эритроцитов в крови у женщин – представителей исследуемой группы было несколько выше, чем в группе сравнения. У мужчин, составляющих исследуемую группу, отмечалось повышение средних значений СОЭ.

В отдаленные сроки после хронического радиационного воздействия у лиц, заболевших впоследствии лейкозами, не было отмечено статистически значимых отличий относительно группы сравнения в частотах встречаемости значений показателей, выходящих за $1,5\sigma$. В целом обращал на себя внимание относительно небольшой процент случаев выхода значений показателей системы крови за пределы $M \pm 1,5\sigma$. Это свидетельствовало, по-видимому, о восстановлении основных ростков гемопоэза после многолетнего радиационного воздействия. Средние значения уровня гемоглобина в эритроцитах, а также количества эритроцитов были выше у женщин, составивших исследуемую группу.

В латентном периоде, непосредственно предшествовавшем манифестации лейкозов, у представителей исследуемой группы отмечалась большая частота встречаемости случаев повышения СОЭ среди женщин относительно группы сравнения. Средние значения КСПК у лиц исследуемой группы в этом периоде не отличались от таковых в группе сравнения.

Изменения, обнаруженные со стороны КСПК у облученных лиц, у которых впоследствии развились лейкозы, не удалось возможным представить в виде какой-либо концепции, поскольку они носили разнонаправленный характер. Эти изме-

нения регистрировались в основном со стороны эритроидного ростка кроветворения, были наиболее выражены в период максимального радиационного воздействия и заключались в основном в повышении частоты случаев эритроцитопений у мужчин и уменьшении частоты случаев снижения уровня гемоглобина у облученных женщин. Частота случаев снижения уровня гемоглобина в крови в обеих сравниваемых группах была наибольшей в период с 1950-го по 1956 г. и объяснялась, скорее всего, дефицитом в послевоенном рационе белков, витаминов и микроэлементов [1]. В период восстановления кроветворения (1957-1970 гг.), когда мощности дозы внешнего радиационного воздействия существенно снизились, у облученных мужчин, заболевших впоследствии лейкозами, отмечалась более высокая частота случаев снижения уровня гемоглобина, а у женщин более часто регистрировались эритроцитозы относительно группы сравнения. Увеличение числа эритроцитов в единице объема крови на фоне снижения уровня гемоглобина носило компенсаторно-приспособительный характер и, скорее всего, не было связано с действием радиационного фактора.

Таким образом, не было обнаружено каких-либо закономерных изменений со стороны КСПК у облученных лиц, заболевших впоследствии лейкозами не только во время максимального радиационного воздействия и в период восстановления гемопоэза, но и в отдаленные сроки по сравнению с группой сравнения, представленной людьми аналогичного возраста и пола и облученных в таких же дозах. Возможно, лимитирующим фактором являлся разнородный состав группы лейкозов, в которую вошли различные формы как острых лейкозов, так и хронических. В дальнейшем представляется необходимым выделить в исследуемой группе отдельные нозологические формы лейкозов, в частности хронический миелолейкоз (ХМЛ) и группу острых лейкозов, поскольку они демонстрируют наибольшую зависимость от дозы облучения.

Авторы благодарят зав. отделом «База данных «Человек» Н.В. Старцева за помощь в формировании исследуемых групп.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Акеев А.В., Акеев А.А., Андреев С.С., Блинова Е.А., Бугров Н.Г., Буртовая Е.Ю., Варфоломеева Т.А., Возилова А.В., Воробьева М.И., Дёгтева М.О., Крестинина Л.Ю., Толстых Е.И., Шагина Е.Б., Шишкина Е.А. Последствия радиоактивного загрязнения реки Течи / под ред. А.В. Акеева. – Челябинск : Книга, 2016. – 390 с. [Akleyev A.V., Akleyev A.A., Andreyev S.S., Blinova E.A., Bugrov N.G., Burtovaya E.YU., Varfolo-

- meysheva T.A., Vozilova A.V., Vorob'yeva M.I., Dyogteva M.O., Krestinina L.Yu., Tolstykh E.I., Shagina E.B., Shishkina E.A. Consequences of radioactive contamination of the Techa River. A.V. Akleyev, editor. Chelyabinsk : Kniga; 2016: 390 (in Russ.).
2. Аклеев А.В., Варфоломеева Т.А. Состояние гемопоэза в условиях многолетнего облучения костного мозга у жителей прибрежных сел р. Теча // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2007. – Т. 47, № 3. – С. 307-321. [Akleyev A.V., Varfolomeyeva T.A. The state of hemopoiesis under conditions of long-term bone marrow exposure in residents of the Techa riverside villages. Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya. 2007; 47 (3): 307-321 (in Russ.).]
3. Лемешко Б.Ю., Чимитова Е.В. О выборе числа интервалов в критериях согласия типа χ^2 // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2003. – Т. 69, № 1. – С. 61-67. [Lemeshko B.Yu., Chimitova E.V. On the choice of the number of intervals in the χ^2 . Zavodskaya laboratoriya. Diagnostika materialov. 2003; 69 (1): 61-67 (in Russ.).]
4. Медико-биологические и экологические последствия радиоактивного загрязнения реки Теча / под ред. А.В. Аклеева, М.Ф. Киселёва. – М. : Медбиоэкстрем, 2001. – 532 с. [Medico-biological and ecological consequences of radioactive contamination of the Techa River. A.V. Akleyev, M.F. Kiselyov, editors. – M. : Medbioekstrem; 2001: 532 (in Russ.).]
5. Меньшиков В.В., Делекторская Л.Н., Золотницкая Р.П., Андреева З.М., Анкирская А.С., Балаховский И.С., Белокриницкий Д.В., Воропаева С.Д., Гаранина Е.Н., Лукичева Т.И., Плетнева Н.Г., Смоляницкий А.Я. Лабораторные методы исследования в клинике / под ред. В.В. Меньшикова. – М. : Медицина, 1987. – 368 с. [Men'shikov V.V., Delektorskaya L.N., Zolotnitskaya R.P., Andreyeva Z.M., Ankirskaya A.S., Balakhovskiy I.S., Belokrinitskiy D.V., Voropayeva S.D., Garanina E.N., Lukicheva T.I., Pletneva N.G., Smolyanitskiy A.Ya. Laboratory methods of research in the clinic. V.V. Men'shikov, editor. M. : Meditsina; 1987: 368 (in Russ.).]
6. Моисеев А.А., Иванов В.И. Справочник по дозиметрии и радиационной гигиене. – М. : Энергоатомиздат, 1990. – 256 с. [Moiseyev A.A., Ivanov V.I. Handbook of dosimetry and radiation hygiene. – M. : Energoatomizdat; 1990: 256 (in Russ.).]
7. Предтеченский В.Е. Руководство по клиническим лабораторным исследованиям / под ред. Л.Г. Смирновой, Е.А. Кост. – М. : Медгиз, 1960. – 964 с. [Predtechenskiy V.E. Guidelines for Clinical Laboratory Research. L.G. Smirnova, E.A. Kost, editors. M. : Medgiz; 1960: 964 (in Russ.).]
8. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. – М. : Медиа Сфера, 2002. – 312 с. [Rebrova O.Yu. Statistical analysis of medical data. Application of the STATISTICA software package. M. : Media Sfera; 2002. 312 (in Russ.).]
9. Фильченков А.А. Молекулярно-эпидемиологические маркеры радиогенных гемобластозов // Радиационная биология. Радиоэкология. – 2016. – Т. 56, № 6. – С. 570-582. – DOI: 10.7868/S0869803116060047. [Philchenkov A.A. Molecular epidemiological markers of radiation-induced hematologic malignancies. Radiatsionnaya biologiya. Radioekologiya. 2016; 56 (6): 570-582 (in Russ.).]
10. Akleyev A.V., Varfolomeyeva T.A. Dynamics of blood cell composition in residents of the Techa riverside villages // Acta Med. Nagasaki. – 2007. – Vol. 52, N 1. – P. 19-28. – DOI: 10.11343/amn.52.19.
11. Akleyev A.V., Veremeyeva G.A., Silkina L.A., Vozilova A.V. Long-term hemopoiesis and immunity status after chronic radiation exposure of red bone marrow in humans // Central European Journal of Occupational and Environmental Medicine. – 1999. – Vol. 5, N 2. – P. 113-129.
12. Krestinina L.Yu., Davis F.G., Schonfeld S., Preston D.L., Degteva M.O., Epifanova S., Akleyev A.V. Leukaemia incidence in the Techa River Cohort: 1953–2007 // British Journal of Cancer. – 2013. – Vol. 109, N 11. – P. 2886-2893. – DOI: 10.1038/bjc.2013.614.
13. Schonfeld S.J., Krestinina L.Y., Epifanova S., Degteva M.O., Akleyev A.V., Preston D.L. Solid cancer mortality in the Techa River Cohort (1950-2007) // Radiation Research. – 2013. – Vol. 179, N 2. – P. 183-189. – DOI: 10.1667/RR2932.1.
14. UNSCEAR. Epidemiologic studies of radiation and cancer. Report to the General Assembly with Annexes. – New York : United Nations, 2008.

КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ СТАНДАРТОВ ОКАЗАНИЯ МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ ПРИ ВНУТРЕННЕМ ЭНДОМЕТРИОЗЕ© Конопля А.А.¹, Иванова О.Ю.², Быстрова Н.А.³, Телегина О.В.²¹Кафедра акушерства и гинекологии ФПО, ²кафедра акушерства и гинекологии, ³кафедра биологической химии Курского государственного медицинского университета, Курск
E-mail: kanabis@nm.ru

У пациенток с внутренним эндометриозом (аденомиозом) на момент поступления в стационар на системном и местном уровнях выявлено повышение концентрации продуктов перекисного окисления липидов, снижение факторов антиоксидантной защиты. В сыворотке крови установлено повышение содержания α_2 -макроглобулина, стабильных метаболитов оксида азота, С-реактивного белка и снижение уровня α_1 -антитрипсина. В мембране эритроцитов определено существенное снижение содержания глицеро- и сфингофосфолипидов, эфиров холестерина, моно- и диглицеролов и повышение уровня лизофосфатидилхолина, свободного холестерина, триацилглицеролов, свободных жирных кислот. Определена недостаточная эффективность применения комплексного стандартного лечения в коррекции нарушений метаболического статуса.

Ключевые слова: аденомиоз, метаболические нарушения, перекисное окисление липидов.

CLINICAL-LABORATORY EFFICIENCY OF STANDARDS OF RENDERING MEDICAL CARE IN INTERNAL ENDOMETRIOSISKonoplya A.A.¹, Ivanova O.Yu.², Byistrova N.A.³, Teleghina O.V.²¹Department of Obstetrics and Gynecology of FPE, ²Department of Obstetrics and Gynecology,³Department of Biochemistry of Kursk State Medical University, Kursk

Patients with internal endometriosis (adenomyosis) at the time of being hospitalized were revealed an increase in concentration of lipid peroxidation products and reduction in antioxidative protection factors at the systemic and local levels. The blood serum revealed an increase in α_2 -macroglobuline, stable nitrogen oxide metabolites, and C-reactive protein and decrease in α_1 -antitripsine level. The essential reduction of glycerol- and sphingophospholipids, cholesterol ethers, mono- and diglycerols and increase in the level of lysophosphatidylcholine, free cholesterol, triacylglycerol, free fatty acids were determined in membrane of erythrocytes. Inefficiency of complex standard treatment in correction of the metabolic status disturbances was established.

Keywords: adenomyosis, metabolic disturbances, peroxidation of lipids.

Эндометриоз является заболеванием, оказывающим влияние на качество жизни, здоровье и репродукцию огромного количества социально активных женщин. Практически у каждой 10 женщины репродуктивного периода имеются симптомы данного заболевания, проявляющиеся явлениями дисменореи, нарушением менструального цикла, диспареунией и бесплодием. Существуют три клинически отличные формы заболевания: эндометриозные импланты на поверхности брюшины малого таза и яичников (перитонеальный эндометриоз), кисты яичников (эндометриомы) и солидные образования сложной структуры, включающие наряду с эндометриозной тканью жировую и мышечно-фиброзную ткани; каждая из трех форм может обладать или не обладать тенденцией к инфильтративному росту [6, 16]. Все три формы эндометриоза могут быть вариантами одного патологического процесса или характеризоваться различными механизмами развития, однако их общими гистологическими характеристиками являются: (1) присутствие эндометриальных стромальных и эпителиальных клеток; (2) персистирующие кровоизлияния в очаге

и (3) признаки воспаления [1, 6, 16]. Ключевые патогенетические звенья эндометриоза тесно взаимосвязаны и, помимо, ретроградной менструации включают: чрезмерную локальную продукцию эстрогенов, резистентность к прогестерону, воспаление и неоангиогенез, что не позволяет ингибировать патологический процесс на начальных стадиях и объясняет инфильтративный рост, инвазию в окружающие ткани с последующей их деструкцией и распространением поражений [1, 2, 3]. Длительное и прогрессирующее течение эндометриоза определяют как медицинское, так и социальное значение этой патологии, патогенез которой, несмотря на многочисленные исследования, утверждения и предположения, хранит еще множество загадок [1, 3, 28, 29]. Согласно данным многих исследователей [7, 8, 12], состояние перекисного окисления липидов, факторов антиоксидантной защиты, структурно-функциональные изменения в эритроцитах являются звеньями одной цепи каскада патофизиологических реакций в условиях различной патологии. Немногочисленность таких данных в условиях гинеколо-

гической патологии предопределяет целесообразность их детального изучения [12, 13, 16].

Исходя из этого, целью исследования стало установление у пациенток с внутренним эндометриозом (аденомиозом – АМ) состояния процессов перекисидации липидов, антиоксидантной защиты, метаболического статуса эритроцитов и эффективности традиционной фармакотерапии в коррекции нарушенных показателей.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Обследовано 46 пациенток с верифицированной диффузной формой аденомиоза I–II степени [1, 2], подтвержденной клиническими и инструментальными (ультразвуковое и гистероскопическое исследование) методами, проходивших обследование в ГУЗ Липецкий областной перинатальный центр в 2014–2016 гг. Все пациентки были рандомизированы по возрасту ($34,7 \pm 2,6$ лет), индексу массы тела (индекс Кетле) не более 26 кг/м^2 . Контрольную группу (КГ) составили 18 здоровых женщин. В данное обследование не включались пациентки с экстрагенитальной патологией в стадии обострения, острыми бактериальными и вирусными инфекциями, заболеваниями крови, язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки, некротическим язвенным колитом, онкологическими заболеваниями, принимающие антикоагулянты, дезагреганты, нестероидные противовоспалительные средства. Стандартное лечение (СЛ) согласно клиническим рекомендациям МЗ РФ от 2016 года [1] включало терапию диеногестом в дозе 2 мг/сут. перорально в течение трех месяцев.

Пациенткам проводилось общепринятое клинико-лабораторное обследование; на 3–7 день менструального цикла – ультразвуковое исследование органов малого таза с дальнейшим проведением гистероскопического исследования пациенткам основной группы (ОГ). Выраженность менструальной кровопотери определяли по иллюстрированной пиктограмме (Wyatt, 2001), позволяющей вычислять объем кровопотери по числу и насыщенности использованных гигиенических прокладок и тампонов [30].

С целью выявления латентного дефицита железа проводилось определение уровня ферритина в сыворотке крови методом иммунофлуоресценции, основанном на детекции молекул, меченных флуоресцентной меткой. Содержание ферритина от 5 до 15 нг/мл расценивалось как показатель латентного дефицита железа [17].

Лабораторные методы исследования крови проводились при поступлении больных в стационар и по окончании третьего месяца лечения. Вы-

раженность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) оценивали путем определения в сыворотке крови, цервикально-влагалищном смыве и эритроцитах содержания ацилгидроперексидов (АГП) [10] и малонового диальдегида (МДА) [21]. Кроме этого, определяли общую антиокислительную активность (ОАА) [9], активность каталазы [14] и супероксиддисмутазы (СОД) [15], уровень стабильных метаболитов оксида азота [9]. Эритроциты получали из 5 мл гепаринизированной крови по методу E. Beutler, после чего определяли их сорбционную способность (ССЭ) [24] и сорбционную емкость их гликокаликса (СЭГ) [22]. Мембраны эритроцитов получали методом G.T. Dodge [26], липиды мембран определяли методом тонкослойной хроматографии [19]. Другие лабораторные методы исследования крови пациенток и контрольной группы осуществлялись по общепринятым методикам. В качестве контроля исследовали периферическую кровь и цервикально-влагалищный смыв 18 здоровых женщин того же возраста.

Статистическую обработку результатов исследования проводили, используя непараметрические методы: критерии Вилкоксона-Манна и Уитни. Статистически значимыми считали различия с $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование гинекологического анамнеза показало, что среди пациенток выделенных групп возраст наступления менархе был сопоставим и составил $13 \pm 1,4$ года ($p > 0,05$). Объем менструальной кровопотери в КГ не превышал $43,2 \pm 2,3$ мл, что было в три раза меньше в сравнении с показателями ОГ – $134 \pm 10,2$ мл ($p > 0,05$). Показатели ферритина среди пациенток КГ составили $84,6 \pm 4,9$ нг/мл, что было достоверно больше в сравнении с результатами ОГ ($10,6 \pm 1,2$ нг/мл). Подавляющее количество пациенток КГ (72%) имели в анамнезе одну и более беременностей, причем в 78% роды проходили через естественные родовые пути. 84% женщин КГ не имели внутриматочных манипуляций. У каждой третьей пациентки ОГ (31,2%) родоразрешение проводилось путем операции кесарево сечение; 86% подвергались инструментальному опорожнению полости матки в связи с прерыванием беременности.

Данные ультразвукового исследования среди пациенток ОГ в 15% наблюдений выявили неоднородность, нечеткость контуров эндометрия в сочетании с множественными гипо- и гиперэхогенными включениями в миометрий, распространяющимися на глубину не более 1/3. В 85% случаев патогномичные ультразвуковые признаки

диффузного аденомиоза занимали более 2/3 мио-метрии. Данные клинической и ультразвуковой картины в 92% наблюдений были подтверждены результатами гистероскопического исследования.

В сыворотке крови у пациенток с аденомиозом на время поступления в стационар установлено повышение концентрации продуктов ПОЛ (МДА в 2,6 и АГП в 4,7 раза), снижение всех изученных факторов антиоксидантной защиты (ОАА на 21%, ЦП 34,7%, неоптерина на 28,5%, активность СОД в 4,8 раза, каталазы на 14,4%). Кроме этого, выявлено повышение содержания α_2 -МГ, стабильных метаболитов оксида азота, СРБ и снижение уровня α_1 -АТ (табл. 1).

На местном уровне (цервикально-влагалищный смыв), так же как в сыворотке крови, оказалась повышена концентрация МДА в 1,8 раза, АГП в 2,4 раза, снижена ОАА, активность СОД, каталазы и повышен уровень CM_{NO} (табл. 1).

У пациенток с АМ при госпитализации выявлено повышение в эритроцитарной мембране уровня лизофосфатидилхолина на 40,1%, свободного холестерина на 30,1%, триглицеролов на 32,1%, свободных жирных кислот на 41,7%, снижение концентрации фосфатидилхолина на 60,9%, фосфатидилэтаноламина на 24,9%, фосфатидилинозитола на 12,1%, сфингомиелина на 21,3%, эфиров холестерина на 21,3%, моно- и диглицеролов на 41,4% (табл. 2). Следует отметить существен-

ное снижение содержания мембранных глицеро- и сфингофосфолипидов, составляющих основу двойного липидного каркаса клеточной мембраны и играющую основную роль в упорядочивании белковых макромолекул и нормальном метаболизме эритроцитов. При изучении метаболического статуса эритроцитов также установлена внутриэритроцитарная интенсификация ПОЛ со снижением факторов антиоксидантной защиты, о чем свидетельствует повышение в эритроцитах концентрации МДА и АГП и снижение ОАА, активности ферментов СОД и каталазы. Кроме этого, выявлено снижение общей сорбционной способности эритроцитов и СЕГ (табл. 3). По-видимому, при достижении некоторого критического уровня белково-липидного соотношения в эритроцитарной мембране происходит потеря периферических и частично интегрированных белков, что и приводит к снижению этих показателей.

Таким образом, у пациенток с аденомиозом на время начала стандартного лечения выявлена существенная интенсификация свободно-радикальных процессов со снижением активности антиоксидантной защиты, как на системном уровне, так и локально (эритроциты и цервикально-влагалищный смыв), что и явилось, по-видимому, причиной повреждения эритроцитов и изменения их сорбционной способности.

Таблица 1

Показатели метаболического статуса на системном и местном уровнях у больных аденомиозом на фоне проводимого стандартного лечения ($M \pm m$)

Показатели	1	2	3
	Здоровые (n=18)	Пациентки с аденомиозом (n=46)	
		До лечения	СЛ
Системный уровень			
МДА, мкмоль/л	2,47±0,21	6,31±0,23 ^{*1}	3,35±0,24 ^{*1,2}
АГП, усл. ед.	0,25±0,03	1,17±0,05 ^{*1}	0,81±0,04 ^{*1,2}
ОАА, %	57,2±0,92	45,2±0,93 ^{*1}	47,9±0,78 ^{*1}
СОД, усл. ед./мл	59,0±4,6	12,35±0,32 ^{*1}	17,28±0,39 ^{*1,2}
Каталаза, мкат/л	12,5±0,42	10,7±0,88 ^{*1}	17,6±0,94 ^{*1,2}
ЦП, мг/дл	60,3±3,1	39,4±2,8 ^{*1}	42,6±3,3 ^{*1}
Неоптерин, пг/дл	7,12±0,15	5,09±0,2 ^{*1}	8,32±0,33 ^{*1,2}
α ₁ -АТ, г/л	90,4±3,93	43,7±3,34 ^{*1}	40,3±2,22 ^{*1}
α ₂ -МГ, г/л	4,85±0,32	5,99±0,36 ^{*1}	4,52±0,1 ^{*2}
СРБ, мг/дл	3,3±0,32	7,55±0,5 ^{*1}	3,3±0,22 ^{*2}
СМ _{NO} , мкмоль/л	1,87±0,2	4,82±0,33 ^{*1}	2,84±0,15 ^{*1,2}
Местный уровень			
МДА, мкмоль/л	0,3±0,04	0,54±0,02 ^{*1}	0,48±0,02 ^{*1,2}
АГП, усл. ед.	0,05±0,01	0,12±0,05 ^{*1}	0,95±0,04 ^{*1}
ОАА, %	21,8±0,85	18,3±0,46 ^{*1}	20,6±1,2 ^{*2}
СОД, усл. ед./мл	10,8±0,37	7,31±0,33 ^{*1}	10,52±0,26 ^{*2}
Каталаза, мкат/л	10,4±0,78	8,3±0,58 ^{*1}	9,9±1,03 ^{*2}
СМ _{NO} , мкмоль/л	0,42±0,06	2,05±0,09 ^{*1}	0,76±0,05 ^{*1,2}

Примечание: здесь и в последующих таблицах звездочкой отмечены достоверные отличия средних арифметических ($p < 0,05$); цифры рядом со звездочкой – по отношению к показателям какой группы даны эти различия.

Таблица 2

Показатели липидного спектра мембраны эритроцитов у больных аденомиозом на фоне проводимого стандартного лечения ($M \pm m$)

Показатели	1	2	3
	Здоровые (n=18)	Пациентки с аденомиозом (n=46)	
		До лечения	СЛ
Фосфатидилхолин	26,1 $\pm$ 0,78	10,2 $\pm$ 0,28 ^{*1}	14,7 $\pm$ 1,2 ^{*1,2}
Лизофосфатидилхолин	5,21 $\pm$ 0,12	8,7 $\pm$ 0,33 ^{*1}	8,9 $\pm$ 0,42 ^{*1}
Фосфатидилэтаноламин	24,5 $\pm$ 1,07	18,4 $\pm$ 1,02 ^{*1}	19,6 $\pm$ 1,05 ^{*1}
Фосфатидилинозитол	19,9 $\pm$ 0,7	17,5 $\pm$ 1,1 ^{*1}	19,7 $\pm$ 2,3
Сфингомиелин	12,2 $\pm$ 0,62	9,6 $\pm$ 0,34 ^{*1}	8,6 $\pm$ 0,95 ^{*1}
Холестерол	42,79 $\pm$ 2,8	61,2 $\pm$ 4,4 ^{*1}	54,6 $\pm$ 2,08 ^{*1,2}
Эфиры холестерина	49,19 $\pm$ 2,0	38,7 $\pm$ 1,67 ^{*1}	38,2 $\pm$ 2,8 ^{*1}
Триглицеролы	11,4 $\pm$ 0, 7	16,8 $\pm$ 1,03 ^{*1}	15,6 $\pm$ 1, 31 ^{*1}
Моно- и диглицеролы	14,5 $\pm$ 0,9	8,5 $\pm$ 0,34 ^{*1}	9,0 $\pm$ 0,32 ^{*1}
Свободные жирные кислоты	2,08 $\pm$ 0,27	3,6 $\pm$ 0,13 ^{*1}	3,2 $\pm$ 0,11 ^{*1,2}

Таблица 3

Показатели метаболического статуса эритроцитов у больных аденомиозом на фоне проводимого стандартного лечения ($M \pm m$)

Показатели	1	2	3
	Здоровые (n=18)	Пациентки с аденомиозом (n=46)	
		До лечения	СЛ
МДА, мкмоль/л	0,43 $\pm$ 0,05	1,37 $\pm$ 0,13 ^{*1}	0,81 $\pm$ 0,02 ^{*1,2}
АГП, усл. ед.	0,09 $\pm$ 0,01	0,86 $\pm$ 0,02 ^{*1}	0,49 $\pm$ 0,03 ^{*1,2}
ОАА, %	30,5 $\pm$ 0,91	22,2 $\pm$ 1,52 ^{*1}	24,1 $\pm$ 1,2 ^{*1}
СОД, усл. ед./мл	13,86 $\pm$ 0,3	10,3 $\pm$ 0,7 ^{*1}	14,3 $\pm$ 0,73 ^{*2}
Каталаза, мкат/л	8,46 $\pm$ 0,24	5,99 $\pm$ 0,17 ^{*1}	13,2 $\pm$ 0,78 ^{*1,2}
СЕГ, 10 ⁻¹² г/эр.	1,37 $\pm$ 0,04	1,08 $\pm$ 0,03 ^{*1}	1,12 $\pm$ 0,03 ^{*1,2}
ССЭ, %	33,2 $\pm$ 1,1	21,3 $\pm$ 0,68 ^{*1}	26,3 $\pm$ 0,81 ^{*1,2}

Стандартное лечение у пациенток с АМ в сыворотке крови нормализует концентрацию α_2 -МГ и СРБ и оказывает корригирующее влияние, изменяя, но не до уровня доноров, содержание продуктов ПОЛ, неоптерина, SM_{NO} , активность СОД и каталазы. На местном уровне СЛ нормализует ОАА, активность СОД, каталазы и частично корригирует содержание МДА и стабильных метаболитов оксида азота (табл. 1).

Кроме этого, СЛ лечение нормализовало в мембране эритроцитов только представительность фосфатидилинозитола и корригировало, но не до уровня здоровых доноров, содержание фосфатидилхолина, холестерина и неэстерифицированных жирных кислот. В эритроцитах СЛ частично корригирует содержание продуктов ПОЛ, активность каталазы, ССЭ и ССГ, нормализует активность СОД (табл. 2, 3).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что пусковым механизмом в развитии нарушений структурно-функциональных свойств эритроцитов является развивающийся «окислительный стресс», приводящий к окислительному модифицированию фосфолипидного слоя мем-

бран эритроцитов, что уменьшает количество фосфолипидов, содержащих в своем составе полиненасыщенные жирные кислоты, снижает активность фосфолипидзависимых энзиматических систем, нарушает белково-липидный баланс в эритроцитарной мембране и изменяет представительность белкового спектра, т.к. помимо интегральных белков в мембране имеются периферические белки или частично-интегрированные, удерживаемые слабыми нековалентными связями. Безусловно, происходящие изменения структурно-функциональных свойств эритроцитарной мембраны приводят к изменениям эпителиальной мозаики, напрямую влияющим на механизмы регулирования иммунологических функций [7, 18].

Избирательная делипидизация мембран вызывает увеличение соотношения между содержанием холестерина и фосфолипидов в бислое, в частности: снижение сфингомиелина обуславливает снижение вязкости липидной фазы мембраны, а низкий уровень фосфатидилхолина снижает проницаемость мембраны и уменьшает метаболизм холестерина, что приводит к насыщению им мембран эритроцитов, снижает латераль-

ную диффузию липидов и белков, тем самым повышая сорбционные свойства всей мембраны. В свою очередь, повышенный уровень холестерина уменьшает подвижность жирных кислот, снижает латеральную диффузию липидов и белков, изменяет функцию последних, вызывает увеличение объема эритроцитов и изменение его формы, увеличение жесткости мембранных структур [12, 18, 20].

Аналогичные изменения, по-видимому, касаются и мембраны клеток тканей, подвергнутых воздействию патогенного агента, при этом в крови резко повышается концентрация метаболитов, обладающих иммуносупрессорным эффектом: продуктов ПОЛ (АГП, диеновых конъюгатов жирных кислот, МДА), аномальных метаболитов липидного обмена (окислительно-модифицированных холестерина, липопротеидов низкой и очень низкой плотности), антипротеолитическими белками (α_2 -МГ, α_1 -АТ), белками острой фазы (СРБ, гаптоглобулин, фибронектин, трансферин) гликозаминогликанов (высокомолекулярных фрагментов гиалуроновой и хондроитинсерной кислот). Исходя из приведенного, следует отметить, что в наших исследованиях установлено повышение на системном и местном уровне содержания АГП, МДА, α_2 -МГ, СРБ, что дополнительно индуцирует появление у эритроцитов иммуносупрессорных свойств [12, 18].

Полученные результаты позволяют предположить важную роль интенсивности процессов свободнорадикального окисления, цельных эритроцитов, структурно-функциональных свойств их мембран в поддержании как общего, так и иммунного гомеостаза, в том числе, и при аденомиозе.

Мембранам эритроцитов присущи общие принципы молекулярной организации плазматических мембран. Поэтому выявленные закономерности нарушений структуры и функции мембраны эритроцитов с определенной долей коррекции, обусловленной прежде всего видовой специфичностью клеток, могут быть экстраполированы на иные мембранные системы. При этом эффективность традиционной фармакотерапии в отношении нарушенных показателей метаболического статуса при аденомиозе как на системном, так и на местном уровне оставляет желать лучшего, что требует апробирования дополнительных средств фармакологической коррекции «оксидантного стресса» и структурно-функционального состояния клеточных мембран.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Адамян Л.В., Кулаков В.И., Андреева Е.Н. Эндометриоз. Клинические рекомендации. – М., 2016. – 37 с. [Adamy L.V., Kulakov V.I., Andreyeva E.N. Endometriosis. Clinical recommendations. M.; 2016: 37 (in Russ.)].
2. Адамян Л.В., Андреева Е.Н., Аполихина И.А., Балан В.Е., Беженарь В.Ф., Геворкян М.А., Гус А.И., Козаченко А.В., Доброхотова Ю.Э., Калинина Е.А., Коган Е.А., Марченко Л.А., Попов А.А., Сонова М.М., Филиппов О.С., Хашукоева А.З., Чернуха Г.Е., Самойлова А.В., Макаренко Т.А., Ткаченко Л.В., Ярмолинская М.И., Спиридонова Н.В., Торубаров С.Ф. Сочетанные доброкачественные опухоли и гиперпластические процессы матки (миома, аденомиоз, гиперплазия эндометрия). Проект клинических рекомендаций по ведению больных / под ред. Л.В. Адамян. – М., 2015. – 94 с. [Adamy L.V., Andreyeva E.N., Apolikhina I.A., Balan V.E., Bezhenar' V.F., Gevorkyan M.A., Gus A.I., Kozachenko A.V., Dobrokhotova Yu.E., Kalinina E.A., Kogan E.A., Marchenko L.A., Popov A.A., Sonova M.M., Filippov O.S., Khashukoyeva A.Z., Chernukha G.E., Samoylova A.V., Makarenko T.A., Tkachenko L.V., Yarmolinskaya M.I., Spiridonova N.V., Torubarov S.F. Combined benign tumors and hyperplastic processes of the uterus (myoma, adenomyosis, endometrial hyperplasia). Draft clinical guidelines for managing patients. L.V. Adamy, editor. M.; 2015: 94 (in Russ.)].
3. Адамян Л.В., Андреева Е.Н. Роль современной гормонотерапии в комплексном лечении генитального эндометриоза // Проблемы репродукции. – 2011. – № 6. – С. 66-77. [Adamy L.V., Andreyeva E.N. The role of modern hormone-modulating therapy in the complex treatment of genital endometriosis. Problemy reproduktiv. 2011; (6): 66-77 (in Russ.)].
4. Антонов В.Ф., Смирнова Е.Ю., Шевченко Е.В. Липидные мембраны при фазовых превращениях. – М.: Наука, 1992. – 136 с. [Antonov V.F., Smirnova E.Yu., Shevchenko E.V. Lipid membranes in phase transformations. M.: Nauka; 1992: 136 (in Russ.)].
5. Белевич Е.И., Костин Д.Г., Слободжанина Е.И. Эриптоз – запрограммированная гибель эритроцитов // Успехи современной биологии. – 2014. – Т. 134, № 2. – С. 149-157. – DOI: 10.1134/s2079086414060024. [Bialevich K.I., Kostin D.G., Slobozhanina E.I. Eryptosis is Programmed Death of Erythrocytes. Uspekhi sovremennoy biologii. 2014; 134 (2): 149-157 (in Russ.)].
6. Богуславская Д.В., Лебович Д.И. Эндометриоз и бесплодие // Проблемы репродукции. – 2011. – Т. 2, № 17. – С. 69-74. [Boguslavskaya D.V., Lebovich D.I. Endometriosis and infertility (a review). Problemy reproduktiv. 2011; 2 (17): 69-74 (in Russ.)].
7. Бровкина И.Л., Быстрова Н.А., Лазаренко В.А., Прокопенко Л.Г. Витамины. Эритроциты. Иммунизация. – Курск: Изд-во КГМУ, 2013. – 108 с. [(in Russ.)].
8. Воронцова Н.С., Мирошниченко Т.И., Конопля А.А., Медведева И.Н. Метаболизм эритроцитов при различной степени тяжести гестозе // Вестник новых медицинских технологий. – 2013. – № 1. <http://medtsu.tula.ru/VNMT/Bulletin/E2013-1/4097.pdf>. [Miroshnichenko T.I., Konoplya A.A., Voroncova N.S., Medvedeva I.N. The metabolism of

- erythrocytes at various severity level of gestosis. *Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy*. 2013; (1). (in Russ.)].
9. Голиков П.П., Николаева Н.Ю., Картавенко В.И., Мусселиус С.Г., Олейникова О.Н. Генерация оксида азота лейкоцитами периферической крови в норме и при патологии // Патол. физиология и эксперим. терапия. – 2003. – № 4. – С. 11-13. [Golikov P.P., Nikolayeva N.YU., Kartavenko V.I., Musseilius S.G., Oleynikova O.N. Generation of nitric oxide by peripheral blood leukocytes in normal and pathological conditions. *Patol. fiziologiya i eksperim. terapiya*. 2003; (4): 11-13 (in Russ.)].
10. Геннис Р. Биомембраны: Молекулярная структура и функция. – М. : Мир. – 1997. – 624 с. – DOI: 10.1086/416484. [Gennis R. Biomembranes: Molecular structure and function. M. : Mir; 1997: 624 (in Russ.)].
11. Климов А.Н., Никульчева Н.Г. Липиды, липопротеиды и атеросклероз. – СПб. : Питер Пресс, 1995. – 304 с. [Klimov A.N., Nikul'cheva N.G. Lipids, lipoproteins and atherosclerosis. SPb. : Piter Press; 1995: 304 (in Russ.)].
12. Конопля А.И., Прокопенко Л.Г., Долгарева С.А., Локтионов А.Л., Конопля А.А., Гаврилюк В.П. Структурно-функциональные свойства эритроцитов в норме и при патологии. – Курск : Изд-во КГМУ, 2011. – 199 с. [Konoplya A.I., Prokopenko L.G., Dolgareva S.A., Loktionov A.L., Konoplya A.A., Gavriluk V.P. Structural and functional properties of erythrocytes in norm and in pathology. Kursk : Izd-vo KGMU; 2011: 199 (in Russ.)].
13. Конопля А.А., Караулов А.В., Конопля А.И., Гаврилюк В.П. Взаимосвязь коррекции иммунных и оксидантных нарушений со структурно-функциональными свойствами эритроцитов при хронических сальпингоофоритах. – Курск : Изд-во ГОУ ВПО КГМУ Росздрава, 2009. – 180 с. [Konoplya A.A., Karaulov A.V., Konoplya A.I., Gavriluk V.P. Interrelation of correction of immune and oxidant disorders with structural and functional properties of erythrocytes in chronic salpingo-oophoritis. Kursk : Izd-vo GOU VPO KGMU Roszdava; 2009: 180 (in Russ.)].
14. Крылов В.И., Виноградов А.Ф., Ефремова С.И. Метод тонкослойной хроматографии липидов мембран эритроцитов // Лабораторное дело. – 1984. – № 4. – С. 205-206. [Krylov V.I., Vinogradov A.F., Efremova S.I. Thin-layer chromatography of erythrocyte membranes lipids. *Laboratornoye delo*. 1984; (4): 205-206 (in Russ.)].
15. Лазаренко В.А., Бровкина И.Л., Конопля А.И., Прокопенко Л.Г. Эритро-тромбоцитарная иммуносупрессия (по материалам открытия). – Курск : Изд-во ГОУ ВПО КГМУ Минздравсоцразвития России, 2011. – 88 с. [Lazarenko V.A., Brovkina I.L., Konoplya A.I., Prokopenko L.G. Erythro-platelet immunosuppression (based on discovery materials). Kursk : Izd-vo GOU VPO KGMU Minzdravsotsrazvitiya Rossii; 2011: 88 (in Russ.)].
16. Марченко Л.А., Ильина Л.М. Современный взгляд на отдельные аспекты патогенеза эндометриоза (обзор литературы) // Проблемы репродукции. – 2011. – № 1. – С. 61-66. [Marchenko L.A., Il'ina L.M. Modern conception of endometriosis development: a review. *Problemy reproduktivnoy*. 2011; (1): 61-66. (in Russ.)].
17. Мецержякова Л.М., Левина А.А., Цыбульская М.М., Соколова Т.В. Лабораторные возможности дифференциальной диагностики анемий // Онкогематология. – 2015. – Т. 10, № 2. – С. 46-50 – DOI: 10.17650/1818-8346-2015-10-2-46-50. [Meshcheryakova L.M., Levina A.A., Tsybul'skaya M.M., Sokolova T.V. Laboratory capacity of differential anemia diagnosis. *Onkogematologiya*. 2015; 10 (2): 46-50 (in Russ.)].
18. Новицкий В.В., Рязанцева Н.В. Структурная дезорганизация мембраны эритроцитов как универсальная типовая реакция целостного организма при болезнях дисрегуляции // Дисрегуляционная патология / под ред. Г.Н. Крыжановского. – М. : Медицина, 2002. – С. 395-405. [Novitskiy V.V., Ryzantseva N.V. Structural disorganization of the erythrocyte membrane as a universal typical reaction of the whole organism in diseases of dysregulation. in. *Dizregulyatsionnaya patologiya*. G.N. Kryzhanovskiy, editor. M. : Meditsina; 2002: 395-405 (in Russ.)].
19. Петров А.М., Зефирова А.Л. Холестерин и липидные плотники биологических мембран. Роль в секреции, рецепции и функционировании ионных каналов // Успехи физиологических наук. – 2013. – Т. 44, № 1. – С. 17-38. [Petrov A.M., Zefirov A.L. Holesterol and lipid rafts in the biological membranes. role in the release, reception and ion channel functions. *Uspekhi fiziologicheskikh nauk*. 2013; 44 (1): 17-38 (in Russ.)].
20. Рязанцева Н.В., Новицкий В.В. Типовые нарушения молекулярной организации мембраны эритроцита при соматической и психической патологии // Успехи физиологических наук. – 2004. – Т. 35, № 1. – С. 53-65. [Ryzantseva N.V., Novitskiy V.V. Typical disorders in molecular organization of erythrocyte membrane in patients with somatic and mental pathology. *Uspekhi fiziologicheskikh nauk*. 2004; 35 (1): 53-65 (in Russ.)].
21. Смирнов Л.П., Богдан В.В. Липиды в физиолого-биохимических адаптациях эктотермных организмов к абиотическим и биотическим факторам среды. – М. : Наука, 2007. – 182 с. [Smirnov L.P., Bogdan V.V. Lipids in physiological and biochemical adaptations of ectothermic organisms to abiotic and biotic factors of the environment. M. : Nauka; 2007: 182 (in Russ.)].
22. Семко Г.А. Структурно-функциональные изменения мембран и внешних примембранных слоев эритроцитов при гиперэпидермопоэзе // Украинский биохимический журнал. – 1998. – Т. 70, № 3. – С. 113-118. [Semko G.A. Structural and functional changes in membranes and external admembrane layers of erythrocytes in hyperepidermopoiesis. *Ukrainskiy biokhimicheskiy zhurnal*. 1998; 70 (3): 113-118 (in Russ.)].
23. Стальная Н.Д., Гаришвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты. Современные методы в биохимии / под ред. В.Н. Ореховича. – М., 1977. –

- C. 66-68. [Stal'naya N.D., Garishvili T.G. Method for the determination of malonic dialdehyde with thiobarbituric acid. Modern methods in biochemistry. V.N. Orekhovich, editor. M.; 1977: 66-68 (in Russ.)].
24. Тогайбаев А.А., Кургузкин А.В., Рикун И.В. Способ диагностики эндогенной интоксикации // Лабораторное дело. – 1988. – № 9. – С. 22-24. [Togaybayev A.A., Kurguzkin A.V., Rikun I.V. The method of diagnosis of endogenous intoxication. Laboratornoye delo. 1988; (9): 22-24 (in Russ.)].
25. Шишкина Л.Н., Шевченко О.Г. Липиды эритроцитов крови и их функциональная активность // Успехи современной биологии. – 2010. – Т. 130, № 6. – С. 587-602. [Shishkina L.N., Shevchenko O.G. Lipids of blood erythrocytes and their functional activity. Uspekhi sovremennoy biologii. 2010; 130 (6): 587-602 (in Russ.)].
26. Dodge J., Mitchell C., Hanahan D. The preparation and chemical characteristics of hemoglobin-free ghosts of human erythrocytes // Archives of Biochemistry and Biophysics. – 1963. – Vol. 100, N 1. – P. 119-130. – DOI: 10.1016/0003-9861(63)90042-0.
27. Laemmli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // Nature. – 1970. – Vol. 227, N 5259. – P. 680-685. – DOI: 10.1038/227680a0.
28. Latthe P., Latthe M., Say L. Gülmezoglu M., Khan K.S. WHO systematic review of prevalence of chronic pelvic pain: a neglected reproductive health morbidity // BMC Public Health. – 2006. – Vol. 6. – P. 177-184. – DOI: 10.1186/1471-2458-6-177.
29. Vigano P., Parazzini F., Somigliana E., Vercellini P. Endometriosis: epidemiology and aetiological factors // Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology. – 2004. – Vol. 18, N 2. – P. 177-200. – DOI: 10.1016/j.bpobgyn.2004.01.007.
30. Wyatt K.M., Dimmock P.W., Walker T.J., O'Brien P.M. Determination of total menstrual blood loss // Fertility and Sterility. – 2001. – Vol. 76, N 1. – P. 125-131. – DOI: 10.1016/S0015-0282(01)01847-7.

ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ КОМПЛЕКСНОЙ ОЦЕНКИ ПОЛИМОРБИДНОСТИ

© Журавлев Ю.И., Тхорикова В.Н.

Кафедра госпитальной терапии

Белгородского государственного национального исследовательского университета, Белгород

E-mail: leriks@bk.ru

Методика комплексной оценки полиморбидности (МКОП) разработана с целью совершенствования лечебно-диагностических процессов в условиях первичной медико-санитарной помощи. Валидация МКОП осуществлена в ходе клинического исследования пациентов с метаболическим синдромом на фоне полиморбидности. Внешняя и содержательная валидности были оценены с помощью опроса практикующих врачей и специалистов-экспертов. Надежность подтверждена путем оценки внутреннего постоянства и воспроизводимости. Конкурентная валидность подтверждена наличием сильной обратной связи индексов МКОП и результатов наиболее распространенных методик ее оценки. Чувствительность МКОП была доказана путем расчета предсказуемых различий ее индексов. В результате валидации МКОП доказаны ее внешняя, содержательная, конструктивная и критериальная валидности, надежность и чувствительность. МКОП рекомендуется к использованию в медицинских организациях, оказывающих первичную медико-санитарную помощь.

Ключевые слова: методика оценки полиморбидности, метаболический синдром, полиморбидность, первичная медико-санитарная помощь.

VALIDATION OF THE METHOD OF COMPLEX EVALUATION OF POLYMORBIDITY

Zhuravlev Y.I., Tkhorikova V.N.

Department of Hospital Therapy of Belgorod National Research University, Belgorod

The method for the complex evaluation of polymorbidity (MCEP) is designed to improve the treatment and diagnostic processes in the context of primary health care. Validation of the MCEP was carried out during a clinical study of patients with a metabolic syndrome against the background of polymorbidity. External and substantive validity was assessed using a survey of practicing physicians and experts. Reliability is confirmed by assessing internal consistency and reproducibility. Criterial validity is confirmed by the strong feedback of the indices of the MCEP and the results of the most common methodologies for its evaluation. The sensitivity of the MCEP was proved by calculating predictable differences in its indices. As a result of the validation of the MCEP, its external, substantial, constructive, and criterial validity, reliability and sensitivity are proved. The MCEP is recommended for use in medical organizations providing primary health care.

Keywords: method for the evaluation of polymorbidity, metabolic syndrome, polymorbidity, primary health care.

Полиморбидность (П) – широко распространенное явление в терапевтической практике. С целью оптимизации и совершенствования лечебно-диагностической, реабилитационной, экспертной и профилактической работы с пациентами этой категории в условиях первичной медико-социальной помощи (ПМСП) разработана методика комплексной оценки полиморбидности (МКОП). В основу методики положены принципы полипараметрического анализа и доказательной медицины. Ее суть заключается в одновременной регистрации анамнестических, клинических, лабораторных, инструментальных, функциональных, психологических и социальных параметров здоровья пациента, которые служат индикаторами, используемыми в математических расчетах. Индикаторы здоровья пациента для удобства использования разделены на 5 кластеров. В первый кластер вошли индикаторы, ассоциированные с немодифицируемыми параметрами здоровья, во второй – с модифицируемыми, в третий – наиболее распространенные сердечно-

сосудистые синдромы и нозологические формы, в четвертый – другие заболевания и в пятый – функциональные параметры. Конечные результаты МКОП вычислялись с использованием математических методов, представлялись как индекс полиморбидности (ИП) и промежуточные индексы (индекс немодифицируемых индикаторов здоровья (И1), индекс модифицируемых индикаторов здоровья (И2), индекс коморбидной патологии (И3), индекс мультиморбидной патологии (И4), функциональный индекс (И5)) и выражались в условных единицах. ИП принимал значения в диапазоне от 0 до 1,0 у.е. Значение 0 у.е. соответствовало П, несовместимой с жизнью; 1,0 у.е. – отсутствию П. Промежуточные результаты по отдельным кластерам принимали значения в диапазоне 0 – 1,0 у.е. Значение 1,0 у.е. соответствовало отсутствию патологического влияния на здоровье пациента индикаторов данного кластера, 0 у.е. – максимально возможному патологическому влиянию. На основе вычислений предложена методика качественной градации степе-

ни П, которая легла в основу оптимизации ряда лечебно-диагностических, профилактических, экспертных, прогностических и реабилитационных процессов. Значения в диапазоне 1,0-0,80 у.е. соответствовали низкому уровню П; 0,79-0,50 у.е. – среднему уровню П и 0,49-0 у.е. – высокому уровню П.

Целью настоящего исследования была валидация МКОП – доказательство надежности, чувствительности, и следующих видов валидности (В): внешней, содержательной, конструктивной и критериальной.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Рандомизированное контролируемое проспективное клиническое исследование выполнялось на базе кафедры госпитальной терапии Белгородского государственного национального исследовательского университета, Белгородской областной клинической больницы Святителя Иоасафа и Городской больницы № 2 г. Белгорода в соответствии с этическими принципами Хельсинкской декларации Всемирной Медицинской Ассоциации (Форталеза, Бразилия, октябрь 2013 г.), правилами GCP [2] и нормативно-правовыми документами Минздрава РФ.

Для решения поставленных задач было обследовано 110 пациентов, из них 47 мужчин (42,7%) и 63 женщины (57,27%), проживающих в г. Белгороде и Белгородском районе. Критериями включения в исследование послужили возраст 18 лет и старше, наличие информированного согласия, IIIa группа состояния здоровья по результатам диспансеризации [4], наличие метаболического синдрома (МС), в том числе – осложненного развитием атеросклероза и сахарного диабета (СД) [6], наличие полиморбидной патологии (одновременное наличие у пациента двух и более нозологических форм).

Медиана возраста обследованных пациентов составила 58 (53-63) лет¹ и колебалась в диапазоне 24-84 лет. Гипертонической болезнью (ГБ) страдали подавляющее большинство пациентов (98,2%, 108/110). У трети пациентов наблюдался СД (27,3%, 30/110). У каждого пятого пациента (22,7%, 25/110) наблюдались последствия сердечно-сосудистых событий в виде постинфарктного кардиосклероза. Перенесенные мозговой инсульт (МИ) или транзиторная ишемическая атака (ТИА) выявлялись в каждом шестом случае (16,4%, 18/110). Девять обследованных пациентов (8,1%, 9/110) перенесли коронарную реваскуляризацию.

Более чем в половине случаев (55,5%, 61/110) имела хроническая сердечная недостаточность.

Все пациенты имели полиморбидную патологию. Наиболее частыми являлись заболевания органов дыхания (69,1%, 76/110), костно-мышечной (69,1%, 76/110) и пищеварительной систем (63,6%, 70/110). Заболеваниями суставов страдала без малого половина пациентов (45,5%, 50/110). Нередко (51,8%, 57/110) выявлялись болезни глаза и его придаточного аппарата. В трети случаев (40,9%, 45/110) наблюдались болезни мочеполового аппарата.

На протяжении 6 месяцев пациенты, включенные в исследование, наблюдались по программе диспансерного наблюдения (ДН) в соответствии с приказом Министерства здравоохранения РФ «Об утверждении Порядка проведения диспансерного наблюдения» [5]. Всем пациентам, включенным в исследование, было проведено трехкратное обследование: после включения в исследование (первый этап), через 1 неделю (второй этап) и через 6 месяцев ДН (третий этап). Программа обследования включала общеклиническое обследование (физикальный осмотр по классической общепринятой методике, определение веса, роста, индекса массы тела, объема талии, лодыжечно-плечевого индекса); лабораторное обследование (клинический анализ крови, клинический анализ мочи, биохимический анализ крови с определением глюкозы натощак, креатинина, гликозилированного гемоглобина, общего холестерина (ОХС), холестерина липопротеинов низкой и высокой плотности, триглицеридов, мочевой кислоты, пероральный глюкозотолерантный тест, расчет скорости клубочковой фильтрации по формуле СКД-EPI, определение мочевой экскреции альбумина за сутки); инструментальное обследование (электрокардиография, эхокардиография, ультразвуковое исследование брахиоцефальных артерий, тредмил-тест, суточное мониторирование ЭКГ и АД, пульсоксиметрия); консультации специалистов (офтальмолог, невролог, гинеколог, уролог, кардиолог, отоларинголог, гастроэнтеролог, хирург, ревматолог, эндокринолог, уролог, психотерапевт). При наличии у пациента противопоказаний к нагрузочному тестированию, толерантность к физической нагрузке (ТФН) определялась при помощи индекса DASI [11]. Дополнительное обследование пациентов включало определение степени никотиновой зависимости (тест Фагерстрёма) [9], оценку уровня тревоги и депрессии (HADS) [16], определение биологического возраста по методике В.П. Войтенко [1], качества жизни (SF-36) [16], риск сердечно-сосудистых осложнений при плановых оперативных вмешательствах [13]. По общепринятой методике определялся прогноз забо-

¹ Здесь и далее в тексте, если не указан другой способ, данные представлены в виде медианы и значений верхнего и нижнего квартилей Me (Q1-Q3)

левания, а также показания и противопоказания к санаторно-курортному лечению на основании приказа Минздравсоцразвития России [3].

Оценка П производилась с помощью МКОП и наиболее распространенных в доступной литературе методов ее оценки: система CIRS-G (Cumulative Illness Rating Scale for Geriatrics) [14], индекс Kaplan-Feinstein [12], индекс Charlson [7] с последующей оценкой степени корреляции результатов.

Внешняя и содержательная В изучались с помощью опроса специалистов – 10 врачей-терапевтов участковых со стажем работы не менее 10 лет и экспертов – научных работников (7 докторов и 2 кандидата медицинских наук). Надежность МКОП подтверждали оценкой внутреннего постоянства (вычисление коэффициента Кронбаха α [8]) и воспроизводимости (метод «тест-ретест»). Для оценки конструктивной В МКОП применяли количественные и качественные внешние критерии. Изучали их корреляцию с индексами МКОП и анализ сопряженности с качественной градацией степени П. Для доказательства прогностической критериальной В были исследованы сопряженности градаций ИП для стратификации признаков, имеющих прогностическое практическое значение при оказании ПМСП и их качественные значения, определенные общепринятыми методами. Оценка чувствительности МКОП осуществлялась на третьем этапе исследования путем расчета предсказуемых различий ее индексов в исследуемых группах. Были вычислены индексы чувствительности Guyatt Responsiveness Index (GRI) [10] для ИП и промежуточных индексов кластеров МКОП на первом (до начала ДН) и третьем (через 6 месяцев ДН) этапах исследования. Для этого были сформированы две группы: группа со стабильным состоянием здоровья пациентов, где изменения не ожидалось, и группа с состоянием здоровья, претерпевшем значимые изменения со временем. В качестве критерия, отражающего изменение состояния здоровья пациентов с полиморбидной патологией на фоне МС, была избрана ТФН. Из 99 пациентов, выполнивших тест с дозированной физической нагрузкой в рамках третьего этапа исследования, были сформированы две группы: первая группа, численностью 29 человек, у которых ТФН повысилась более 2,0 METs в сравнении с исходным уровнем, и вторая группа (группа контроля), численностью 32 человека, изменение уровня ТФН у которых не превысило 1 METs. Индекс чувствительности GRI вычислялся как отношение среднего изменения значений в первой группе к стандартному отклонению изменений во второй группе, где изменения не ожидалось.

Исследование взаимосвязи между парами дискретных качественных признаков проводилось с использованием анализа парных таблиц сопряженности. Помимо оценок критерия Пирсона Хи-квадрат (χ^2) и достигнутого уровня статистической значимости этого критерия, вычислялись и оценки интенсивности связи анализируемых признаков, такие как V-коэффициент Крамера. Корреляцию оценивали при помощи коэффициента Спирмена (r_s), критическое значение уровня статистической значимости (p) принималось равным 0,05. Для сравнения центральных параметров групп использовались параметрические и непараметрические методы: дисперсионный анализ, в том числе с критерием Краскела-Уоллиса и ранговыми метками Вилкоксона, медианный критерий и критерий Ван дер Вардена. Процедуры статистического анализа выполнялись с помощью статистических пакетов SAS 9.4, STATISTICA 12 и IBM-SPSS-23.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В процессе опроса 10 врачей-терапевтов участковых (стаж работы не менее 10 лет) респонденты указали на отдельные недостаточно конкретизированные формулировки индикаторов. Результатом установления внешней В стала корректировка формулировок семи индикаторов.

Для доказательства содержательной В проведена экспертиза на предмет соответствия содержания индикаторов и кластеров МКОП содержанию и структуре понятия П, итогом которой стала корректировка формулировки 21 индикатора и сокращение их общего количества в реестре до 55, одобренных экспертами.

Надежность МКОП подтверждали оценкой внутреннего постоянства и воспроизводимости (таблица 1). Внутреннее постоянство определяли путем вычисления коэффициента Кронбаха α для каждого кластера отдельно по причине их однородности [8]. Воспроизводимость подтверждали методом «тест-ретест» – оценка корреляции между первичным и повторным (через одну неделю) средними значениями ИП и промежуточных индексов у 86 пациентов, состояние здоровья которых по оценке исследователя на момент повторного обследования не изменилось. Среднее значение ИП в этой группе при первичном исследовании составило $0,69 \pm 0,12$, при повторном – $0,70 \pm 0,14^2$ у.е. Коэффициент корреляции Спирмена составил 0,86 ($p < 0,0001$). Для всех кластеров МКОП коэффициент Кронбаха α превысил 0,70,

² Данные представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения ($m \pm \sigma$).

что подтверждает внутреннее постоянство кластеров МКОП. Установлена умеренная или сильная степень корреляции значений промежуточных индексов МКОП и высокая степень корреляции значений ИП методом «тест-ретест», что доказывает воспроизводимость МКОП.

Конструктивную В оценивали по ее конвергентной и дискриминативной характеристикам. Для этого с помощью коэффициента Спирмена (r_s) проводилась оценка корреляции индексов МКОП с такими внешними критериями, как шкалы методики оценки качества жизни SF-36 [15], значение фактического биологического возраста (ФБВ), определенное методом И.П. Войтенко (1979) [1], количество сопутствующих заболеваний, уровни ОХС и систолического артериального давления (сАД), ТФН (таблица 2). Установлена связь признака ИП со всеми шкалами методики оценки качества жизни SF-36: сильная прямая (r_s в диапазоне 0,60-0,82, $p<0,0001$) – со шкалами, относящимися к физическому компоненту здоровья (РН) и средняя по силе (r_s в диапазоне 0,50-0,76, $p<0,0001$) – со шкалами психологического компонента здоровья (МН), что соответствует гипотезе. Были статистически подтверждены гипотезы о наличии и отсутствии различных по силе корреляций промежуточных индексов МКОП с внешними критериями. Были подтверждены ожидания высокого уровня корреляции ИП и, особенно, I_4 с признаком количества сопутствующих заболеваний: r_s составил 0,71 и 0,89 ($p<0,0001$) соответственно. Были доказаны гипотезы: сильная связь признака I_5 со шкалами SF-36, отражающими физическое функционирование, средняя по силе связь I_5 со шкалами, отражающими эмоциональное функционирование и слабая связь со шкалами ВР, GH, VT и MT. Также соответствуют гипотетическим ожиданиям сильная связь ряда промежуточных индексов с одними внешними признаками (I_1 и ФБВ, I_2 и уровень АД,

I_2 и уровень ОХС, I_3 и ТФН) и отсутствие или слабая интенсивность связи промежуточных индексов с другими внешними показателями (I_1 и уровень АДс, I_2 и количество сопутствующих заболеваний, I_3 и количество сопутствующих заболеваний, I_4 и уровень ОХС, I_5 и уровень ОХС).

Одним из результатов МКОП является качественная градация степени П в соответствии с полученным ИП. Для обоснования конструктивной В этой градации был проведен анализ сопряженности этого признака с внешними качественными критериями (таблица 3). Обнаружена статистически значимая взаимосвязь степени П и факта перенесенных инфаркта миокарда и ОНМК, ТИА в прошлом, стадии ГБ, ХСН и ХБП, наличия тяжелых осложнений СД, степени тяжести заболеваний дыхательной и костно-мышечной систем. По интенсивности связь находится на среднем уровне (V-критерий Крамера в диапазоне 0,29-0,50). В то же время не выявлено статистически достоверной связи степени П и пола. Анализ сопряженности степени П и вышеприведенных качественных признаков доказывает конвергентную и дискриминативную В качественной градации степеней П на основании результатов МКОП.

Для оценки критериальной текущей (или конкурентной) В была использована связь ИП с итоговыми результатами других известных методов оценки П: индекс Kaplan-Feinstein, система CIRS-G, индекс Charlson. Коэффициент корреляции Спирмена составил: -0,90, -0,91 и -0,83 соответственно (уровень значимости $p<0,0001$). Таким образом, обнаружена сильная обратная связь результатов оценки П посредством МКОП и результатов других наиболее распространенных методик ее оценки, что доказывает критериальную В МКОП.

Таблица 1

Оценка внутреннего постоянства и воспроизводимости промежуточных индексов методики комплексной оценки полиморбидности

Кластеры МКОП	Коэффициент Кронбаха α	Коэффициент корреляции Спирмена («тест-ретест»), $p<0,0001$
Немодифицируемые индикаторы здоровья	0,74	0,86
Модифицируемые индикаторы здоровья	0,86	0,74
Коморбидная патология (сердечно-сосудистые синдромы и нозологии)	0,87	0,65
Мультиморбидная патология (другие нозологии)	0,84	0,71
Функциональный статус	0,79	0,68

Таблица 2

Оценка корреляции индексов методики комплексной оценки полиморбидности
с количественными внешними критериями

Внешние критерии	Индекс полиморбидности (ИП)	Индекс немодифицируемых индикаторов здоровья (И1)	Индекс модифицируемых индикаторов здоровья (И2)	Индекс коморбидной патологии (И3)	Индекс мультиморбидной патологии (И4)	Функциональный индекс (И5)
Физическое функционирование (PH), r_s	0,71 $p<0,0001$	0,31 $p=0,0004$	0,29 $p=0,0009$	0,82 $p<0,0001$	0,78 $p<0,0001$	0,79 $p<0,0001$
Ролевое физическое функционирование (RP), r_s	0,73 $p<0,0001$	0,28 $p=0,0009$	0,35 $p=0,0003$	0,83 $p<0,0001$	0,72 $p<0,0001$	0,88 $p<0,0001$
Боль (BP), r_s	0,60 $p<0,0001$	0,17 $p=0,0113$	0,08 $p=0,0418$	0,38 $p=0,0002$	0,79 $p<0,0001$	0,32 $p=0,0004$
Общее здоровье (GH), r_s	0,82 $p<0,0001$	0,10 $p=0,0248$	0,11 $p=0,0211$	0,89 $p<0,0001$	0,79 $p<0,0001$	0,40 $p<0,0001$
Жизнеспособность (VT), r_s	0,76 $p<0,0001$	0,39 $p=0,0003$	0,20 $p=0,0015$	0,58 $p<0,0001$	0,72 $p<0,0001$	0,29 $p=0,0009$
Социальное функционирование (SF), r_s	0,65 $p<0,0001$	0,42 $p<0,0001$	0,12 $p=0,0210$	0,44 $p<0,0001$	0,39 $p=0,0004$	0,69 $p<0,0001$
Ролевое эмоциональное функционирование (RE), r_s	0,57 $p<0,0001$	0,24 $p=0,0011$	0,11 $p=0,0207$	0,32 $p=0,0003$	0,51 $p<0,0001$	0,62 $p<0,0001$
Психическое здоровье (MT), r_s	0,50 $p<0,0001$	0,11 $p=0,0199$	0,22 $p=0,0013$	0,38 $p=0,0007$	0,59 $p<0,0001$	0,45 $p=0,0003$
Фактический биологический возраст (метод В.П. Войтенко), r_s	-0,40 $p<0,0001$	-0,87 $p<0,0001$	-0,11 $p=0,0211$	-0,30 $p=0,0003$	-0,54 $p<0,0001$	-0,30 $p=0,0005$
Количество сопутствующих заболеваний, r_s	0,71 $p<0,0001$	0,51 $p<0,0001$	0,19 $p=0,0016$	0,23 $p=0,0012$	0,89 $p<0,0001$	0,41 $p<0,0001$
Уровень АДс, r_s	0,4 $p<0,0001$	0,1 $p=0,0211$	0,89 $p<0,0001$	0,64 $p<0,0001$	0,32 $p=0,0003$	0,41 $p<0,0001$
Уровень ОХС, r_s	0,4 $p<0,0001$	0,12 $p=0,0203$	0,78 $p<0,0001$	0,52 $p<0,0001$	0,21 $p=0,0084$	0,11 $p=0,0210$
Толерантность к ФН, r_s	0,6 $p<0,0001$	0,2 $p=0,009$	0,58 $p<0,0001$	0,87 $p<0,0001$	0,41 $p<0,0001$	0,76 $p<0,0001$

Таблица 3

Результаты анализа сопряженности качественного признака, отражающего степень полиморбидности,
с внешними качественными критериями

Качественные критерии	χ^2	Значение достигнутого уровня значимости «р»	Величина V-критерия Крамера
Пол	4,21	0,12	0,20
ОНМК или ТИА в анамнезе	23,18	<0,0001	0,46
Стадия ГБ	54,76	<0,0001	0,50
ПИКС	23,25	<0,0001	0,46
ФК СН	16,33	<0,0001	0,27
Стадия ХСН	51,90	<0,0001	0,49
Наличие тяжелых осложнений СД	26,05	<0,0001	0,34
Стадия ХБП	32,75	<0,0001	0,39
Степень тяжести заболеваний дыхательной системы	33,82	<0,0001	0,41
Степень тяжести заболеваний костно-мышечной и соединительной ткани	18,38	<0,0001	0,29

Были исследованы сопряженности градации ИП для экспресс-анализа определения степени стойкой нетрудоспособности и степень стойкой нетрудоспособности, установленная у пациентов по результатам медико-социальной экспертизы ($\chi^2=80,21$, $p<0,0001$); градации ИП для определения прогноза результата лечения и прогноз результата лечения, сделанный лечащим врачом ($\chi^2=59,25$, $p<0,0001$); градации ИП для определения риска оперативных вмешательств и риск оперативных вмешательств согласно Lee Index ($\chi^2=96,37$, $p<0,0001$); градации ИП для определения показаний к санаторно-курортному лечению и показания к санаторно-курортному лечению согласно Приказу Минздравсоцразвития России ($\chi^2=205,18$, $p<0,0001$) [3].

Выявлена статистически значимая взаимосвязь степеней прогностических признаков, опре-

деленных посредством МКОП и общепринятыми методами. По интенсивности связь находится на высоком уровне (V-критерий Крамера в диапазоне 0,52-0,97), что является доказательством прогностической критериальной В МКОП.

По ряду качественных признаков (пол, стадия ГБ, стадия ХСН, наличие ОНМК или ТИА, ИМ в анамнезе) достигнутые уровни значимости критерия хи-квадрат Пирсона у сформированных для оценки чувствительности МКОП групп имели значения 5% и более, таким образом, обе группы были однородны по этим признакам и сопоставимы. Не было установлено статистически значимых различий между группами при сравнении медиан следующих количественных признаков: возраст, ТФН на первом этапе исследования, что подтверждает их сопоставимость (таблица 4).

Таблица 4

Результаты сравнения медиан количественных признаков в группах, сформированных для оценки чувствительности МКОП

Характеристики	I группа, n=29	II группа (контроль), n=32	Уровень значимости «р»	
			Критерий Краскела- Уоллиса	Критерий Ван дер Вардена
Возраст на I этапе, М (Q1-Q3), лет	56(54-62)	57(53-64)	0,8670	0,9090
Толерантность к ФН на I этапе, METs	5,0(4,5-5,5)	5,1(4,7-5,2)	0,9312	0,8859
Толерантность к ФН на II этапе, METs	7,1 (6,7-8,3)	5,7 (4,9-5,5)	0,0064	0,0102
Индекс полиморбидности на I этапе, у.е.	0,71 (0,62-0,78)	0,69 (0,59-0,80)	0,4568	0,3294
Индекс полиморбидности на II этапе, у.е.	0,81 (0,71-0,89)	0,74 (0,66-0,87)	0,0341	0,0289
Индекс кластера немодифицируемых индикаторов на I этапе, у.е.	0,69 (0,61-0,75)	0,71 (0,62-0,76)	0,4787	0,2684
Индекс кластера немодифицируемых индикаторов на II этапе, у.е.	0,68 (0,61-0,74)	0,70 (0,61-0,76)	0,3985	0,2057
Индекс кластера модифицируемых индикаторов на I этапе, у.е.	0,69 (0,57-0,74)	0,70 (0,62-0,75)	0,2565	0,1248
Индекс кластера модифицируемых индикаторов на II этапе, у.е.	0,82 (0,79-0,87)	0,72 (0,65-0,80)	0,0121	0,0117
Индекс кластера коморбидной патологии на I этапе, у.е.	0,58 (0,56-0,67)	0,57 (0,55-0,66)	0,3451	0,4228
Индекс кластера коморбидной патологии на II этапе, у.е.	0,59 (0,57-0,68)	0,59 (0,57-0,66)	0,6687	0,4254
Индекс кластера мультиморбидной патологии на I этапе, у.е.	0,63 (0,59-0,73)	0,65 (0,60-0,76)	0,0845	0,0625
Индекс кластера мультиморбидной патологии на II этапе, у.е.	0,75 (0,68-0,79)	0,69 (0,65-0,74)	0,0289	0,0194
Индекс функционального кластера на I этапе, у.е.	0,64 (0,53-0,71)	0,66 (0,56-0,74)	0,1598	0,1167
Индекс функционального кластера на II этапе, у.е.	0,80 (0,79-0,87)	0,70 (0,63-0,77)	0,0091	0,0057

Таблица 5

Оценка чувствительности МКОП для ее индексов путем вычисления индекса GRI

Индексы МКОП	Индекс GRI
Индекс полиморбидности (ИП)	-0,81
Индекс кластера немодифицируемых индикаторов (И1)	-0,19
Индекс кластера модифицируемых индикаторов (И2)	-3,92
Индекс кластера коморбидной патологии (И3)	-0,21
Индекс кластера мультиморбидной патологии (И4)	-1,18
Индекс функционального кластера (И5)	-2,24

На первом этапе исследования группы были статистически однородны при сравнении медиан как ИП, так и промежуточных индексов МКОП. Через 6 месяцев диспансерного наблюдения установлено статистически значимое различие между группами при сравнении медиан следующих количественных признаков: ТФН, ИП, И2, И4, И5. Таким образом, подтверждается чувствительность ИП, И2, И4 и И5 к изменениям ТФН у пациентов. Медианы И1 и И3 через 6 месяцев диспансерного наблюдения остались статистически однородны в первой и второй группах, что объясняется содержащимися в этих кластерах индикаторами, не способными значимо изменять свои значения с течением времени.

Индексы чувствительности Guyatt Responsiveness Index (GRI) [10] были вычислены для ИП и промежуточных индексов кластеров МКОП на первом (до начала ДН) и третьем (через 6 месяцев ДН) этапах исследования (таблица 5).

Полученные значения индекса чувствительности GRI колебались в диапазоне от 0,19 до 3,92. И1 и И3 показали незначительную чувствительность к изменениям в состоянии здоровья пациентов. Остальные индексы МКОП показали чувствительность средней (ИП, И4) и высокой интенсивности (И2, И5).

Таким образом, валидация МКОП доказала ее надежность (коэффициент Кронбаха α превысил 0,70, установлена умеренная или сильная степень корреляции индексов МКОП методом «тест-ретест»). На основании статистического подтверждения гипотез о наличии и отсутствии различных по интенсивности корреляций индексов МКОП и сопряженностей степени полиморбидности с внешними критериями доказана конвергентная и дискриминативная критериальная валидность. Конкурентная валидность была доказана наличием сильной обратной связи (коэффициент корреляции Спирмена составил от -0,83 до -0,91 при уровне значимости $p < 0,0001$) результатов оценки П посредством МКОП и результатов других наиболее распространенных методик ее оценки (индекс Kaplan-Feinstein, система CIRS-G, индекс Charlson). Выявлена статистически значи-

мая взаимосвязь степеней прогностических признаков, определенных посредством МКОП и общепринятыми методами. По интенсивности связь находится на высоком уровне (V-критерий Крамера в диапазоне 0,52-0,97), что является доказательством прогностической критериальной В МКОП. Чувствительность МКОП была доказана путем расчета предсказуемых различий ее индексов. Между сформированными для доказательства чувствительности группами установлено ожидаемое статистически значимое различие при сравнении медиан большинства индексов МКОП. Полученные для них значения индекса чувствительности GRI колебались в диапазоне от -0,81 до -3,92 и показали чувствительность средней и высокой интенсивности.

Индексы и кластеры МКОП высокодифференцированы и отражают соответствующую их названию информацию.

МКОП рекомендуется к использованию в медицинских организациях, оказывающих ПМСП, с целью оптимизации и совершенствования лечебно-диагностической, реабилитационной, экспертной и профилактической работы с пациентами, имеющими метаболический синдром на фоне полиморбидной патологии.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Войтенко В.П. Биологический возраст // Биология старения. – Л. : Наука, 1982. – С. 102-115. [Voytenko V.P. Biological age. in Biology of aging. L. : Nauka; 1982: 102-115 (in Russ.).]
2. ГОСТ Р 52379-2005 Надлежащая клиническая практика. – М. : Стандартинформ, 2006. – 39 с. [GOST R 52379-2005 Good clinical practice. M. : Standartinform; 2006: 39 s. (in Russ.).]
3. Приказ Минздравсоцразвития России от 22.11.2004 № 256 (ред. от 15.12.2014) «О Порядке медицинского отбора и направления больных на санаторно-курортное лечение» (зарегистрировано в Минюсте России 14.12.2004 № 6189). [Order of the Ministry of Health and Social Development of Russia from 22.11.2004 № 256 (Edited on December 15, 2014) "On the Procedure for Medical Selection and Referral of Patients for Sanatorium and Spa Treat-

- ment" (registered in the Ministry of Justice of Russia on December 14, 2004 No. 6189) (in Russ.)).
4. Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 3 февраля 2015 г. № 36н «Об утверждении порядка проведения диспансеризации определенных групп взрослого населения». [Order of the Ministry of Health of the Russian Federation of February 3, 2015, No. 36n, "On Approval of the Procedure for Clinical Screening of Certain Adult Populations." (in Russ.)].
5. Приказ Министерства здравоохранения РФ от 21 декабря 2012 г. № 1344н «Об утверждении Порядка проведения диспансерного наблюдения». [Order of the Ministry of Health of the Russian Federation from December 21, 2012 № 1344n "On approval of the procedure for dispensary observation." (in Russ.)].
6. Чазова И.Е., Мычка В.Б., Кисляк О.А., Кузнецова И.В., Литвин А.Ю., Шестакова М.В., Бугрова С.А., Звенигородская Л.А., Кошельская О.А., Кухарчук В.В., Мамедов М.Н.О., Медведева И.В., Мкртумян А.М., Небиеридзе Д.В., Недогода С.В., Перепеч Н.Б., Подзолков В.И., Симонова Г.И., Титов В.Н., Тюрина Т.В., Фурсов А.Н., Хирманов В.Н., Чукаева И.И., Шальнова С.А., Шубина А.Т., Всероссийское научное общество кардиологов, Российское медицинское общество по артериальной гипертензии. Диагностика и лечение метаболического синдрома. Российские рекомендации (второй пересмотр) // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2009. – Т. 8, № 6, Приложение 2. – С. 1-29. [Chazova I.E., Mychka V.B., Kislyak O.A., Kuznetsova I.V., Litvin A.Yu., Shestakova M.V., Bugrova S.A., Zvenigorodskaya L.A., Koshel'skaya O.A., Kukharchuk V.V., Mamedov M.N.O., Medvedeva I.V., Mkrtumyan A.M., Nebiyeridze D.V., Nedogoda S.V., Perepech' N.B., Podzolkov V.I., Simonova G.I., Titov V.N., Tyurina T.V., Fursov A.N., Khirmanov V.N., Chukayeva I.I., Shal'nova S.A., Shubina A.T., Vserossiyskoye nauchnoye obshchestvo kardiologov, Rossiyskoye meditsinskoye obshchestvo po arterial'noy gipertonii. Diagnosis and treatment of metabolic syndrome. Russian recommendations (second revision). Kardiovaskulyarnaya terapiya i profilaktika. 2009; 8 (6, Suppl. 2): 1-29 (in Russ.)].
7. Charlson M.E., Pompei P., Ales H.L., MacKenzie C.R. A new method of classifying prognostic comorbidity in longitudinal studies: Development and validation // Journal Chronic Disease. – 1987. – Vol. 40, N 5. – P. 373-383.
8. Cronbach L.J. Coefficient alpha and the internal structure of tests // Psychometrika. – 1951. – Vol. 16, N 3. – P. 297-334.
9. Fagerstrom K. Determinants of tobacco use and renaming the FTND to the Fagerstrom Test for Cigarette Dependence // Nicotine Tob. Res. – 2012. – Vol. 14, N 1. – P. 75-78 – DOI:10.1093/ntr/ntr137.
10. Guyatt G., Walter S., Norman G. Measuring Change over Time: Assessing the Usefulness of Evaluative Instruments // J. Chronic. Dis. – 1987. – Vol. 40, N 2. – P. 171-178.
11. Hlatky M.A., Boineau R.E., Higginbotham M.B., Lee K.L., Mark D.B., Cliff R.M., Cobb F.R., Pryor D.B. A brief selfadministered questionnaire to determine functional capacity (the Duke Activity Status Index) // Am J Cardiol. – 1989. – Vol. 64, N 10. – P. 651-654.
12. Kaplan M.H., Feinstein A.R. Acritique of methods in reported studies of long-term vascular complications in patients with diabetes mellitus // Diabetes. – 1973. – Vol. 22, N 3. – P. 160-174.
13. Lee T.H., Marcantonio E.R., Mangione C.M., Thomas E.J., Polanczyk C.A., Cook E.F., Sugarbaker D.J., Donaldson M.C., Poss R., Ho K.K., Ludwig L.E., Pedan A., Goldman L. Derivation and prospective validation of a simple index for prediction of cardiac risk of major noncardiac surgery // Circulation. – 1999. – Vol. 100, N 10. – P. 1043-1049.
14. Miller M.D., Towers A. Manual of Guidelines for Scoring the Cumulative Illness Rating Scale for Geriatrics (CIRS-G). – Pittsburg, Pa : University of Pittsburg., 1991. – 31 p.
15. Ware J.E., Snow K.K., Kosinski M., Gandek B. SF-36 Health Survey. Manuel and Interpretation Guide. – Lincoln, RI. : Quality Metric Incorporated, 2000. – 150 p.
16. Zigmond A.S., Snaith R.P. The hospital anxiety and depression scale // Acta Psychiatrica Scandinavica. – 1983. – Vol. 67, N 6. – P. 361-370.

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ПСИХОЭМОЦИОНАЛЬНОГО И ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ПАЦИЕНТОВ С ОСТРЫМ КОРОНАРНЫМ СИНДРОМОМ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ЕГО ИСХОДА

© Михин В.П.¹, Коробова В.Н.¹, Харченко А.В.¹, Спасский А.А.², Каюшников А.Б.²,
Ледовский С.М.², Маркина Т.Н.², Чернятина М.А.¹

¹Кафедра внутренних болезней № 2 Курского государственного медицинского университета, Курск;

²Национальное агентство клинической фармакологии и фармации, Москва

E-mail: viktoria.korobova@mail.ru

Сердечно-сосудистые заболевания продолжают занимать лидирующие позиции в инвалидизации и смертности населения. Наиболее опасными нозологиями, ассоциированными с летальным исходом, в структуре ишемической болезни сердца остаются ее острые формы, в первую очередь острый коронарный синдром (ОКС), исходом которого являются острый инфаркт миокарда (ОИМ) и нестабильная стенокардия (НС). Доказана триггерная роль гиперсимпатикотонии и нарушения психоэмоционального состояния в патогенезе указанных нозологий. В этой связи изучение психоэмоционального и функционального состояния пациентов, поступающих в отделение неотложной кардиологии с диагнозом ОКС, на фоне госпитальной и постгоспитальной реабилитации является важным и актуальным. В статье приведены результаты сравнительной оценки психоэмоционального и функционального состояния больных ОИМ и НС.

Ключевые слова: острый коронарный синдром, функциональное состояние, психоэмоциональное состояние, нестабильная стенокардия, острый инфаркт миокарда.

COMPARATIVE ASSESSMENT OF PSYCHO-EMOTIONAL AND FUNCTIONAL STATE OF PATIENTS WITH ACUTE CORONARY SYNDROME ACCORDING TO ITS OUTCOME

Mikhin V.P.¹, Korobova V.N.¹, Kharchenko A.V.¹, Spasskiy A.A.², Kayushnikov A.B.²,
Ledovskiy S.M.², Markina T.N.², Chernyatina M.A.¹

¹Department of Internal Medicine N 2 of Kursk State Medical University, Kursk

²National Agency of Clinical Pharmacology and Pharmacy, Moscow

Cardiovascular diseases continue to occupy a leading position in the disability and mortality of the population. The most dangerous diseases associated with the fatal outcome in the structure of coronary heart disease remain its acute forms, primarily acute coronary syndrome (ACS), the outcome of which are acute myocardial infarction (AMI) and unstable angina (UA). Trigger role of hypersympathicotonia and the disturbance of the psycho-emotional state in the pathogenesis of these diseases have been proved. In this regard, the study of the psycho-emotional and functional state of patients entering the emergency cardiology department with a diagnosis of ACS, on the background of hospital and post-hospital rehabilitation is important and relevant. The article presents the results of a comparative assessment of the psycho-emotional and functional state of patients with AMI and UA.

Keywords: acute coronary syndrome, functional state, psycho-emotional state, unstable angina, acute myocardial infarction.

Сердечно-сосудистые заболевания, и в первую очередь ишемическая болезнь сердца, продолжают занимать лидирующие позиции среди причин смертности и инвалидизации населения, как в нашей стране, так и в развитых странах мира [2, 4]. Наиболее опасными нозологиями, ассоциированными с летальным исходом, в структуре ишемической болезни сердца остаются ее острые формы, в первую очередь острый коронарный синдром (ОКС) [4]. Термин ОКС в клинической практике был предложен новозеландским врачом Harvey White в 1996-1997 гг. для обозначения состояний при остром нарушении коронарного кровообращения, как правило, обусловленных тромбозом коронарных артерий, когда еще не наступил окончательный некроз кардиомиоцитов [3]. При этом ОКС в зависимости от

эффективности проводимой терапии и хирургических вмешательств разрешается формированием острого инфаркта миокарда (ОИМ) или, при восстановлении кровотока в инфарктных артериях, – нестабильной стенокардией (НС) [3, 14]. Одними из триггерных факторов острого коронарного тромбоза, определяющих развитие ОКС, являются гиперсимпатикотония и нарушения психоэмоционального состояния, во многом зависящие от статуса вегетативной нервной системы [1, 2, 5, 9]. В настоящее время созданы программно-аппаратные комплексы (ПАК), которые позволяют оценить не только характер вегетативной регуляции, но и в целом – функционального состояния (ФС) организма, в частности – с помощью временного и спектрального анализа вариабельности ритма сердца и фрактальной нейроди-

намики [7, 8, 11]. ФС представляет собой системный ответ организма, обеспечивающий его адекватность потребностям деятельности, поэтому главным содержанием ФС является характер интеграции функций и, особенно, регулирующих механизмов [10, 13]. Фрактальная нейродинамика представляет собой метод обработки ритмограмм путем преобразования кардиосигнала в кодовую информацию по двоичному основанию, которая позволяет выделить связь между различными уровнями регуляции физиологических функций организма [7, 8]. Однако взаимосвязь характера исхода ОКС с функциональным и психоэмоциональным состоянием пациентов до сих пор остается малоизученной.

В этой связи целью настоящей работы явилась сравнительная оценка психоэмоционального и функционального состояния пациентов с ОКС в зависимости от его исхода.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследование было включено 197 больных (137 мужчин и 60 женщин) в возрасте 40-65 лет ($56,9 \pm 6,2$), поступающих в отделение неотложной кардиологии с диагнозом ОКС (44 пациента с подъемом сегмента ST на ЭКГ (22%) и 153 пациента без подъема сегмента ST (78%)). Ретроспективно по окончательному диагнозу пациенты были распределены на две рандомизированные группы: I группа – пациенты с НС (86 человек), II группа – пациенты с ОИМ (111 человек).

Протокол исследования № 9 был одобрен региональным этическим комитетом при ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» Минздрава России от 09.11.15 г.

Критерии рандомизации: пол, возраст. Критерии включения в исследование: возраст, наличие острой коронарной патологии, информированное согласие (согласие и протокол заседания регионального этического комитета № 9 от 09.11.15 г.). Критерии исключения: кардиогенный шок на момент включения, фибрилляция предсердий и/или частая экстрасистолия (более 10 в мин) в момент исследования, отказ от участия. Тромболитическая терапия была проведена 3 больным (1,5% пациентов), ангиопластика не проводилась в связи с наличием противопоказаний.

Диагноз «инфаркт миокарда» и «нестабильная стенокардия» устанавливался согласно общепринятым критериям с учетом маркеров некроза миокарда (тропонины Т и I, МВ-фракция креатинфосфокиназы), наличия типичной клинической картины и характерных изменений на ЭКГ [12].

Исследование проводилось на 3, 8 и 14 сутки пребывания в стационаре и через 6 и 12 месяцев после выписки и включало: анкетирование и оценку функционального состояния организма с помощью ПАК «Омега-М» (ООО «Динамика», г. Санкт-Петербург). Анкетирование проводилось по методике опросников САН и Спилбергера-Ханина. Опросник САН позволял определить уровень самочувствия (Сан), активности (Акт) и настроения (Нас), норма указанных показателей находится в диапазоне 50-55 баллов [6]. Методика Спилбергера-Ханина использовалась для самооценки тревожности, отражая уровень ситуативной тревожности (СТ) и личностной тревожности (ЛТ). Интерпретация результатов анкеты Спилбергера-Ханина: до 30 баллов – низкий уровень тревожности, 31-44 баллов – умеренный уровень тревожности; 45 и более баллов – высокий уровень тревожности [6].

Функциональное состояние пациентов оценивалось с помощью ПАК «Омега-М» (регистрационное удостоверение № ФСР 2010/09117 от 01.11.2010 г.) по следующим показателям:

А – показатель адаптации сердечно-сосудистой системы, который отражает степень активности автономного контура регуляции ритма сердца [7, 11];

В – показатель вегетативной регуляции, характеризующий степень активности вегетативного контура регуляции ритма сердца [8, 11];

С – показатель центральной регуляции, показывает степень активности гипоталамо-гипофизарной системы (ГГС) [7, 8, 11];

Д – показатель психоэмоционального состояния, оценивает степень активности центральной нервной системы;

Н – интегральный показатель ФС испытуемых, характеризует общее функциональное состояние [7, 8, 11].

Норма вышеуказанных параметров ФС составляла 60-100% для здоровых лиц [8, 11].

Статистическая обработка результатов осуществлялась с помощью пакета программ «Омега-М» (ООО «Динамика», г. Санкт-Петербург) и пакета прикладных статистических программ SAS (Statistical Analysis System, SAS Institute, Cary, NC, USA) – с применением параметрических и непараметрических алгоритмов вариационной статистики, учитывающих тип и шкалу измерений каждого из показателей. Результаты представлены в виде средних арифметических значений и их стандартной ошибки ($M \pm m$). Межгрупповое сравнение проводили с помощью t-теста, критерия Стьюдента при $p < 0,05$.

Таблица 1

Психозмоциональное состояние больных нестабильной стенокардией и острым инфарктом миокарда (M±m)

Диагноз	Дата	САН			Спилбергер – Ханин	
		Сам	Акт	Нас	СТ	ЛТ
НС (n=86)	3 сут	31,3±1,5	33,6±1,7	33,1±1,7	49,2±1,7*	50±1,7
	8 сут	32,7±1,2	35,6±1,3*	36,3±1,4	46,3±1,4^	48±1,4*
	14 сут	39±1,4*	40,4±1,3*	41,6±1,4	44,1±1,3^	45,5±1,4^
	6 мес	41,3±1,2*	43,9±1,2^	44,1±1,3*	42±1,3*	43,1±1,4
	12 мес	40,5±1,2	42,7±1,2	43,8±1,3	42,1±1,3*	42,7±1,4*
ОИМ (n=111)	3 сут	29,5±1,4	30,8±1,5	30,1±1,4	53,8±1,6*	54,5±1,6
	8 сут	30±1,1	32,2±1*	32,7±1,2	52,3±1,3^	53±1,3*
	14 сут	34,8±1,1*	36,6±1*	38,2±1,2	49,7±1,1^	50,8±1,2^
	6 мес	37,3±1,2*	39,7±1,1^	40±1,2*	46,1±1,1*	46,6±1,2
	12 мес	38,1±1,2	40,2±1,1	41,1±1,3	45,8±1,1*	46,9±1,2*

Примечание: * – достоверное различие между группами НС и ОИМ, $p < 0,05$; ^ – достоверное различие между группами НС и ОИМ, $p < 0,001$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ результатов анкетирования по методике «САН» выявил наличие низкого уровня значений показателей Сам, Акт, Нас на протяжении всего периода наблюдения (табл. 1).

Различий в значение показателя Сам у больных НС и ОИМ на 3 и 8 сут пребывания в стационаре не было, к моменту выписки (на 14 сут) и через 6 месяцев наблюдения у больных ОИМ результаты были значительно ниже, чем у больных НС, а через 12 мес – различия между группами вновь отсутствовали.

Значения показателя Акт у исследуемых больных на 3 сут не различались, на 8, 14 сут и через 6 мес – у больных с ОИМ значения были ниже, чем в группе НС, через 12 мес – различия не определялись.

Величины показателя Нас в группе НС были выше, чем в группе ОИМ только при исследовании через 6 мес, на других этапах – различий выявлено не было.

Таким образом, различия между группами НС и ОИМ в отношении показателя Сам были определены на 14 сут и через 6 мес, Акт – 8 и 14 сут и через 6 мес, а Нас – только через 6 мес (табл. 1).

Результаты анализа анкеты Спилбергера-Ханина показали, что значения показателя СТ у больных с ОИМ были выше, чем у больных с НС на всех этапах исследования. При интерпретации полученных данных было выявлено, что в группе ОИМ показатель СТ находился на высоком уровне, а в группе НС высокий уровень регистрировался лишь на 3 и 8 сут, а с 14 сут и до 12 мес – значения соответствовали умеренному уровню.

Результаты показателя ЛТ с 3 до 14 сут соответствовали высокому уровню тревожности у

больных обеих групп, однако на 8 и 14 сут численное значение указанного показателя в группе ОИМ было выше, чем в группе НС, анализ результатов через 6 и 12 мес показал, что в группе НС уровень тревожности перешел с высокого на умеренный, в то время как в группе ОИМ остался без изменений (табл. 1).

Анализ результатов анкетирования САН и Спилбергера-Ханина показал, что численное значение показателей свидетельствовало об однопавленной динамике в выделенных группах, однако для больных ОКС с исходом в ОИМ характерно наличие более выраженного нарушения психозмоционального состояния, чем в группе больных НС.

Параметры ФС больных ОКС, определенные с помощью ПАК «Омега-М», вне зависимости от его исхода были ниже нормальных величин на всех этапах исследования (табл. 2).

Значение показателя А у больных с НС был на 7-8% выше, чем у больных с ОИМ с 3 сут и до 6 мес, а через 12 мес различий между группами не было зарегистрировано.

Величина показателя В на 3 и 8 сут в выделенных группах не отличалась, в то время как к 14 сут у больных с НС она была выше на 8%, через 6 мес – выше на 7%, а через 12 мес различия отсутствовали.

Уровень показателя С между группами различался на 3 сут – в группе НС он был выше на 8%, через 6 мес – на 7%, по сравнению с группой больных ОИМ. На остальных этапах исследования различий между группами не выявлено.

Значения показателя D в группе НС с 3 по 8 сут были выше на 8% и 6% соответственно, по сравнению с группой ОИМ, а с 14 сут и до окончательного этапа исследования – выделенные группы не отличались друг от друга.

Таблица 2

Функциональное состояние больных нестабильной стенокардией и острым инфарктом миокарда, (M±m)

Показатели/ Parameters	Дата/ Date	НС/UA (n=86)	ОИМ/AMI (n=111)	Значения p/ p value
Адаптация сердечно-сосудистой системы (А)	3 сут	26,4±2,6	19,1±1,7	0,0171*
	8 сут	26,4±2,6	18,3±1,8	0,0109*
	14 сут	27,2±2,8	19,1±1,7	0,0136*
	6 мес	30,9±2,8	23,9±2,1	0,0434*
	12 мес	31,9±2,7	26,2±2,2	0,0990
Вегетативная регуляция (В)	3 сут	40,7±2,5	33,7±2,4	0,0666
	8 сут	41,2±3,2	34,3±2,5	0,0553
	14 сут	44,1±3,3	36,1±2,4	0,0490*
	6 мес	30,9±3,1	23,9±2,1	0,0434*
	12 мес	31,9±2,6	26,2±2,1	0,0990
Нейрогуморальная регуляция (С)	3 сут	29±2,4	20,8±1,7	0,0059*
	8 сут	27,1±2,4	21,8±1,9	0,0806
	14 сут	27,2±2,5	21,7±1,8	0,0740
	6 мес	36,3±2,6	29,2±2,1	0,0306*
	12 мес	36,2±2,6	32,2±2,2	0,2417
Психозомоциональное состояние (D)	3 сут	31±2,4	22,4±1,7	0,0048*
	8 сут	29,3±2,5	23,1±1,9	0,0462*
	14 сут	29,2±2,5	24,1±1,9	0,1103
	6 мес	37,9±2,6	31,7±2	0,0532
	12 мес	37,8±2,5	35,8±2,1	0,5346
Интегральный показатель здоровья (Н)	3 сут	31,8±2,5	24±1,8	0,0116*
	8 сут	31,2±2,5	24,4±1,9	0,0299*
	14 сут	31,9±2,6	25,2±1,8	0,0383*
	6 мес	38,6±2,7	31,2±2,1	0,0273*
	12 мес	38,7±2,7	34,4±2,2	0,2101

Примечание: * – статистически достоверные различия.

Анализ величины показателя Н выявил различия между больными в зависимости от исхода ОКС: с 3 сут и до 6 мес значение показателя Н в группе больных с НС было на 7-8% выше, чем в группе больных с ОИМ, через 12 мес различия между группами отсутствовали.

Исследование ФС пациентов с помощью ПАК «Омега-М» выявило, что во время всего периода наблюдения параметры А, В, С, D, Н регистрировались ниже нормы у выделенных групп пациентов. Тем не менее у больных с исходом ОКС в ОИМ значения показателей А, С, D, Н на 3 сут; А, D, Н – на 8 сут; А, В, Н – на 14 сут; А, В, С, D, Н – через 6 мес были ниже, чем у больных с исходом ОКС в НС. Анализ результатов ФС пациентов через 12 мес выявил отсутствие разницы между группами больных ОИМ и НС (табл. 2).

Таким образом, различия между группами НС и ОИМ в ряде показателей ФС, которые позволяют оценить состояние организма от периферического до центрального уровня управления организмом, свидетельствуют о возможности их использования для разработки прогностических критериев исхода ОКС.

Таким образом, у больных ОИМ ряд параметров психозомоционального и функционального состояния был ниже, чем у больных НС.

Разница между больными с ОИМ и НС прослеживалась на всех этапах длительного наблюдения, в частности: с 3 по 14 сут – в отношении показателей Акт, СТ, А, D, Н, через 6 мес – по всем показателям, а к 12 мес – только в отношении СТ и ЛТ.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Белялов Ф.И. Депрессия, тревога и стресс у пациентов с ишемической болезнью сердца // Терапевтический архив. – 2017 – Т. 89, № 8. – С. 104-109. – DOI:10.17116/terarkh2017898104-109. [Belialov F.I. Depression, anxiety, and stress in patients with coronary heart disease. Terapevticheskiy arkhiv. 2017; 89 (8): 104-109 (in Russ.)].
2. Бова А.А. Острый коронарный синдром – современное состояние проблемы // Военная медицина. – 2008. – Т. 9, № 4. – С. 23-26. [Bova A.A. Acute coronary syndrome – the current state of the problem. Voyennaya meditsina. 2008; 9 (4): 23-26 (in Russ.)].
3. Бокерия Л.А., Гудкова Р.Г. Болезни системы кровообращения и сердечно-сосудистая хирургия в

- Российской Федерации. Состояние и проблемы // Аналитический вестник Совета Федерации Федерального Собрания РФ. – 2015. – № 597 (44) – С. 9-18. [Bokeriya L.A., Gudkova R.G. Diseases of the circulatory system and cardiovascular surgery in the Russian Federation. Status and problems. Analiticheskiy vestnik Soveta Federatsii Federal'nogo Sobraniya RF. 2015; 597 (44): 9-18. (in Russ.)].
4. Дубикайтис Т.А. Острый коронарный синдром // Российский семейный врач. – 2017. – Т. 21, № 1. – С. 5-14. [Dubikaitis T.A. Acute coronary syndrome. Rossiyskiy semeynyy vrach. 2017; 21 (1): 5-14. (in Russ.)].
5. Кожокарь К.Г., Урванцев И.А., Николаев К.Ю. Влияние психосоциальных факторов на развитие ишемической болезни сердца и острого коронарного синдрома // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2016. – № 15 (3). – С. 58-62. [Kozhokar K.G., Urvantseva I.A., Nikolaev K.Yu. The influence of psychosocial factors on the development of ischemic heart disease and acute coronary syndrome. Kardiovaskulyarnaya terapiya i profilaktika. 2016; 15 (3): 58-62. (in Russ.)].
6. Методики диагностики эмоциональной сферы: психологический практикум / сост. О.В. Барканова. – Вып. 2. – Красноярск: Литера-принт, 2009. – 237 с. [Methods for diagnosing of the emotional sphere: psychological practice. ed O.V. Barkanova. Krasnoyarsk: Litera-print; 2009; (2): 237 (in Russ.)].
7. Обоснование аппаратно-программных методов, предназначенных для скрининг-диагностики внутренних заболеваний и для оценки эффективности лечебно-профилактических мероприятий в системе диспансеризации военнослужащих и пенсионеров МО: отчет о научно-исслед. работе. – СПб: Изд-во ВМА, 2002. – 77 с. [Substantiation of the hardware and software methods intended for screening and diagnosis of internal diseases and for assessing the effectiveness of therapeutic and prophylactic measures in the system of medical examination of servicemen and retirees of the Ministry of Defense: a report on the scientific-research. work. SPb: Izd-vo VMA; 2002: 77 (in Russ.)].
8. Смирнов К.Ю., Смирнов Ю.А. Разработка и исследование методов математического моделирования и анализа биоэлектрических сигналов. – СПб., 2001. – 43 с. [Smirnov K.Yu., Smirnov Yu.A. Development and research of methods of mathematical modeling and analysis of bioelectric signals. SPb.; 2001: 43 (in Russ.)].
9. Шимохина Н.Ю. Роль тревожно-депрессивных расстройств в патогенезе острого коронарного синдрома // Сибирское медицинское обозрение. – 2014. – Т. 86, № 2. – С. 47-52. [Shimohina N.Yu. The role of anxiodepressive disorders in the pathogenesis of acute coronary syndrome. Sibirskoye meditsinskoye obozreniye. 2014; 86 (2): 47-52 (in Russ.)].
10. Хватова М.В. Функциональное состояние человека как интегральная характеристика // Вестник ТГУ. – 2008. – № 3. – С. 22-27. [Khvatova M.V. Functional state of a person as an integral characteristic. Vestnik TGU. 2008; (3): 22-27 (in Russ.)].
11. Ярилов С.В. Физиологические аспекты новой информационной технологии анализа биоэлектрических сигналов и принципы технической реализации. – СПб, 2001. – 48 с. [Yarilov S.V. Physiological aspects of the new information technology for the analysis of bioelectric signals and the principles of technical implementation. SPb.; 2001: 48 (in Russ.)].
12. Hamm C.W., Bassand J.P., Agewall S., Bax J., Borsersma E., Bueno H., Caso P., Dudek D., Gielen S., Huber K., Ohman M., Petrie M.C., Sonntag F., Uva M.S., Storey R.F., Wijns W., Zahger D.; European Society of Cardiology. [ESC guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation. The Task Force for the management of acute coronary syndromes (ACS) in patients presenting without persistent ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC)] // G Ital Cardiol (Rome). – 2012. – Vol. 13, N 3. – P. 171-228. – DOI: 10.1714/1038.11322.
13. Khayyam-Nekouei Z., Neshatdoost H., Yousefy A., Sadeghi M., Manshaee G. Psychological factors and coronary heart disease // ARYA Atherosclerosis. – 2013. – Vol. 9, N 1. – P. 102-111.
14. Sanchis-Gomar F., Perez-Quilis C., Leischik R., Lucia A. Epidemiology of Coronary Heart Disease and Acute Coronary Syndrome // Annals of Translational Medicine. – 2016 – Vol. 4, N 13 – P. 256. – DOI: 10.21037/atm.2016.06.33.

ФИБРИЛЛЯЦИИ ПРЕДСЕРДИЙ У ПАЦИЕНТОВ С ОЖИРЕНИЕМ В ПРАКТИКЕ ТЕРАПЕВТА© *Рябая И.Н., Сердечная Е.В.***Кафедра поликлинической терапии и сестринского дела
Северного государственного медицинского университета, Архангельск**E-mail: soldik24@yandex.ru

Проведено обследование 296 пациентов с фибрилляцией предсердий и артериальной гипертензией, состоящее из сбора жалоб, анамнеза, объективного обследования, выполнено измерение объема талии (ОТ), исследование уровня лептина крови у пациентов с ИМТ 25 кг/м² и более на начало наблюдения, электрокардиографическое исследование (ЭКГ), эхокардиографическое исследование (ЭхоКГ) – в начале и в конце исследования. Пароксизмы фибрилляции предсердий регистрировались при выполнении ЭКГ в случае возникновения симптомов, характерных для ФП, бессимптомные формы выявлялись при ежедневном контроле регулярности пульса на лучевой артерии, затем проводилась ЭКГ для подтверждения ФП. Время наблюдения пациентов 1 год. Избыточный вес и абдоминальное ожирение влияют на течение фибрилляции предсердий, увеличивая количество повторных пароксизмов. Предикторами повторных пароксизмов фибрилляции предсердий являлись у женщин: ОТ более 80 см, содержание гормона выше 8,7 мг/мл и диастолическое артериальное давление более 90 мм рт. ст., у мужчин: ИМТ 25 кг/м² и более.

Ключевые слова: фибрилляция предсердий, ожирение, пароксизм, лептин, предикторы.

ATRIAL FIBRILLATION IN OBESE PATIENTS IN THERAPEUTIC PRACTICE*Ryabaya I.N., Serdechnaya E.V.***Department of Polyclinic Therapy and Nursing of Northern State Medical University, Arkhangelsk**

We examined 296 patients with atrial fibrillation and arterial hypertension consisting of a collection of complaints, anamnesis, and objective examination, measurement of waist circumference (WS), the study of leptin levels in blood of the patients with BMI 25 kg/m² or more at the beginning of the observation, electrocardiographic examination (ECG), echocardiography at the beginning and at the end of the study. Paroxysms of atrial fibrillation were recorded when performing ECG in case of occurrence of symptoms typical for AF, but asymptomatic forms were detected by daily monitoring the regularity of the radial pulse with the subsequent ECG to confirm AF. A patient should be observed for a year. Overweight and abdominal obesity affect the course of atrial fibrillation, increasing the number of repeated paroxysms. Predictors of repeated paroxysms of atrial fibrillation were women with WS more than 80 cm, the hormone content above 8.7 mg/ml and diastolic blood pressure over 90 mmHg and men with BMI 25 kg/m² or more.

Keywords: atrial fibrillation, obesity, paroxysm, leptin, predictors.

Фибрилляция предсердий (ФП) является распространенным нарушением ритма сердца и по праву считается эпидемией 21 века [14, 24]. ФП является предиктором смерти пожилых пациентов и инвалидизации молодых [26].

Sumeray M. с соавторами впервые установили зависимость между ожирением и фибрилляцией предсердий у пациентов в кардиохирургических отделениях [25]. Эти наблюдения позднее были подтверждены данными из несколько крупных когортных исследований [11, 16, 22, 23, 27]. За последние годы были проведены исследования, доказывающие липотоксическое поражение миокарда при ожирении, выражающееся в изменении структуры миокарда и его функционального состояния [27].

Значительное влияние на формирование атерогенеза, тромбообразования, эндотелиальной дисфункции оказывает гормон жировой ткани – лептин [15, 22]. Влияние лептина на процессы аритмогенеза в предсердиях изучены недостаточно.

На базе кафедры поликлинической терапии СГМУ г. Архангельска было проведено исследование пациентов с впервые выявленной фибрилляцией предсердий, имеющих в анамнезе артериальную гипертензию.

Цель исследования: изучить особенности фибрилляции предсердий у пациентов с ожирением.

Критерии включения: документированное наличие ФП. Впервые зарегистрированный пароксизм ФП.

Критерии исключения: возраст пациента менее 18 лет, клапанные пороки сердца, тиреотоксикоз, синдром WPW.

**МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ
ИССЛЕДОВАНИЯ**

Проведено первичное обследование, состоящее из сбора жалоб, анамнеза, объективного обследования. Всем пациентам проведено измерение объема талии (ОТ), исследование уровня лептина крови методом иммуноферментного анализа

(ИФА) – у пациентов с ИМТ 25 кг/м^2 и более на начало наблюдения. Нормальные показатели ОТ: $\text{ОТ} \leq 94 \text{ см}$ для мужчин, $\text{ОТ} \leq 80 \text{ см}$ для женщин.

Референтные значения лептина:

- для женщин: $3,7\text{--}11,1 \text{ нг/мл}$;
- для мужчин: $2\text{--}5,6 \text{ нг/мл}$.

Инструментальные методы исследования: электрокардиографическое исследование (ЭКГ), эхокардиографическое исследование (ЭхоКГ) – в начале и в конце исследования;

Индекс массы тела рассчитывается по следующей формуле: $\text{ИМТ} (\text{кг/м}^2) = \text{вес} (\text{кг}) / \text{рост} (\text{м}^2)$.

Изучались структурные параметры сердца: конечно-диастолический размер левого предсердия (КДР ЛП), конечно-систолический размер левого желудочка (КСР ЛЖ), конечно-диастолический размер левого желудочка (КДР ЛЖ), фракция выброса (ФВ), гипертрофия левого желудочка (ГЛЖ).

Пароксизмы фибрилляции предсердий регистрировались при выполнении ЭКГ в случае возникновения симптомов, характерных для ФП, бессимптомные формы выявлялись при ежедневном контроле регулярности пульса на лучевой артерии, затем проводилась ЭКГ для подтверждения ФП.

Время наблюдения пациентов 1 год.

Участники исследования ознакомлены с целями и основными положениями исследования, подписали письменно оформленное согласие на участие. Этический комитет одобрил протокол исследования.

Статистическая обработка данных выполнена с использованием пакетов прикладных программ Statistica 10 и SAS JMP 11. Сравнения трех групп по количественной шкале проводились на основе непараметрического критерия Краскелла-Уоллеса. Сравнения двух групп по количественной шкале проводилась на основе непараметрического критерия Манна-Уитни. Статистическая значимость различных значений для бинарных и номинальных показателей определялась с использованием критерия Хи-квадрат Пирсона. Для описания количественных показателей использовались среднее значение и стандартное отклонение в формате « $M \pm S$ ». Уровень статистической значимости был зафиксирован на уровне вероятности ошибки 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В исследовании приняли участие 296 пациентов, мужчины – 114 (38,51%), женщины – 182 (61,49%). Средний возраст обследованных 69,2 года. 296 человек (100%) имели в анамнезе артериальную гипертензию.

У большинства пациентов ФП была выявлена при самостоятельном обращении – 249 (84,1%), при очередном снятии ЭКГ – 24 (8,1%), случайно на приеме у терапевта – 17 (5,7%), при проведении суточного мониторирования ЭКГ – 6 (2,1%).

Более половины пациентов – 196 (66,2%) имели повторные пароксизмы ФП в течение года.

У 38 (19,53%) человек установилась постоянная форма ФП.

На основании индекса массы тела (ИМТ) были выделены четыре группы пациентов: норма – 53 человека (17,9%) ($\text{ИМТ} < 25$), избыточная масса тела – 112 человек (37,8%) ($25 \leq \text{ИМТ} < 30$), первая степень ожирения – 86 человек (29,1%) ($30 \leq \text{ИМТ} < 35$) и вторая-третья степень ожирения – 45 человек (15,2%) ($\text{ИМТ} \geq 35$). Таким образом, распространенность ожирения у пациентов с ФП в нашем городе составила 44,3%.

На основании объема талии (ОТ) были выделены две группы испытуемых: «Норма» ($\text{ОТ} \leq 94 \text{ см}$ для мужчин $N=42$ и $\text{ОТ} \leq 80 \text{ см}$ для женщин $N=22$) и «Избыточный вес и абдоминальное ожирение» ($\text{ОТ} > 94$ для мужчин $N=72$ и $\text{ОТ} > 80 \text{ см}$ для женщин $N=160$).

Анализ показателей сердечно-сосудистой системы в группах с разным ОТ при первичном осмотре (таблица 1) показывает, что группы различаются по показателю КДР ЛП ($p=0,0016$), наличию ГЛЖ ($p=0,0471$).

В группе с показателем ОТ в пределах нормы среднее значение КДР ЛП $38,7 \pm 4,9$, в группе с показателем ОТ выше нормы среднее значение КДР ЛП $41,2 \pm 5,0$ ($p=0,0016$). Было проведено сравнение групп с показателем ОТ в пределах нормальных значений и ОТ выше нормальных значений на наличие ГЛЖ. При анализе первичной ЭхоКГ было установлено, что 24 человека (37,5%) в группе с показателем ОТ в пределах нормальных значений имеют ГЛЖ, 114 (51,6%) имеют ГЛЖ в группе с показателем ОТ выше нормы; ($p=0,0471$) – статистически значим.

При проведении повторной ЭхоКГ через 1 год в группе с показателем ОТ в пределах нормы среднее значение КДР ЛП $39,4 \pm 4,4$, в группе с показателем ОТ выше нормы среднее значение КДР ЛП $41,5 \pm 5,0$ ($p=0,0028$). Было установлено, что 28 (46,7%) в группе с показателем ОТ в пределах нормальных значений имеют ГЛЖ, 152 (71,0%) имеют ГЛЖ в группе с показателем ОТ выше нормы; ($p=0,0004$) – статистически значим (таблица 2).

При анализе групп с наличием пароксизмов ФП было установлено, что в группе с показателем ОТ в пределах нормальных значений 34 (17,3%) человека имеют пароксизмы ФП, в группе с показателем ОТ выше нормы 162 (82,7%) человека имеют повторные пароксизмы ФП; $p < 0,0001$.

Таблица 1

Сравнения групп с разным ОТ по структурно-функциональным показателям сердечно-сосудистой системы при первичной ЭхоКГ (среднее $\pm$ стандартное отклонение) и уровень статистической значимости (критерий Манна-Уитни)

Показатель	M $\pm$ S Норма (N=64)	M $\pm$ S Выше нормы (N=232)	Уровень P
КДР ЛЖ	51,1 $\pm$ 7,2	51,3 $\pm$ 5,5	0,3978
КСР ЛЖ	33,5 $\pm$ 7,1	33,9 $\pm$ 5,3	0,3134
ФВ, %	62,7 $\pm$ 8,7	62,0 $\pm$ 7,8	0,5900
КДР ЛП	38,7 $\pm$ 4,9	41,2 $\pm$ 5,0	0,0016
ГЛЖ	24 (37,5%)	114 (51,6%)	0,0471

Таблица 2

Сравнения групп с разным ОТ по структурно-функциональным показателям сердечно-сосудистой системы при повторной ЭхоКГ (среднее $\pm$ стандартное отклонение) и уровень статистической значимости (критерий Манна-Уитни)

Показатель	M $\pm$ S Норма (N=64)	M $\pm$ S Выше нормы (N=232)	Уровень P
КДР ЛЖ	50,7 $\pm$ 6,5	51,4 $\pm$ 5,7	0,4018
КСР ЛЖ	33,6 $\pm$ 6,3	34,0 $\pm$ 5,6	0,3827
ФВ	61,8 $\pm$ 7,1	61,4 $\pm$ 6,9	0,3690
КДР ЛП	39,4 $\pm$ 4,4	41,5 $\pm$ 5,0	0,0028
ГЛЖ	28 (46,7%)	152 (71,0%)	0,0004

Таблица 1

Сравнения групп с наличием/отсутствием повторных пароксизмов по ОТ (число человек и проценты) и уровень статистической значимости (критерия хи-квадрат Пирсона)

Группа ОТ	Нет (N=82)	Есть (N=196)	Всего	Уровень P (df=1)
Норма	32 (39,0%)	34 (17,3%)	66	0,0001
Выше нормы	50 (61,0%)	162 (82,7%)	212	

Таблица 4

Показатели адекватности модели для показателя «Наличие повторных пароксизмов»

AuROC	0,80374
Чувствительность	81,9%
Специфичность	68,9%
Эффективность	75,4%

Группы пациентов, у которых случались повторные пароксизмы, и пациентов, у которых пароксизмов не было, также различаются по содержанию лептина.

Содержание гормона больше в группе пациентов с повторными пароксизмами 27,0 $\pm$ 20,1 – среднее значение, 17,9 $\pm$ 18,7 – среднее значение показателя лептина для группы пациентов без повторных пароксизмов ФП (p=0,0003).

Нашей задачей также было определить предикторы повторных пароксизмов ФП.

Данные по отсутствию/наличию рецидива были получены у 278 пациентов, из них у 82 пациентов (29%) повторных пароксизмов не было, а у 196 (71%) пароксизмы были. На основании полученных выводов было построено «дерево решений для показателя «Наличие повторных пароксизмов» (рис. 1). Предложенная модель является достаточно удачной (таблица 4): AuROC=0,80, эффективность=75%.

Статистический анализ показывает, что для мужчин, страдающих ожирением, риск рецидива достаточно велик (81%).

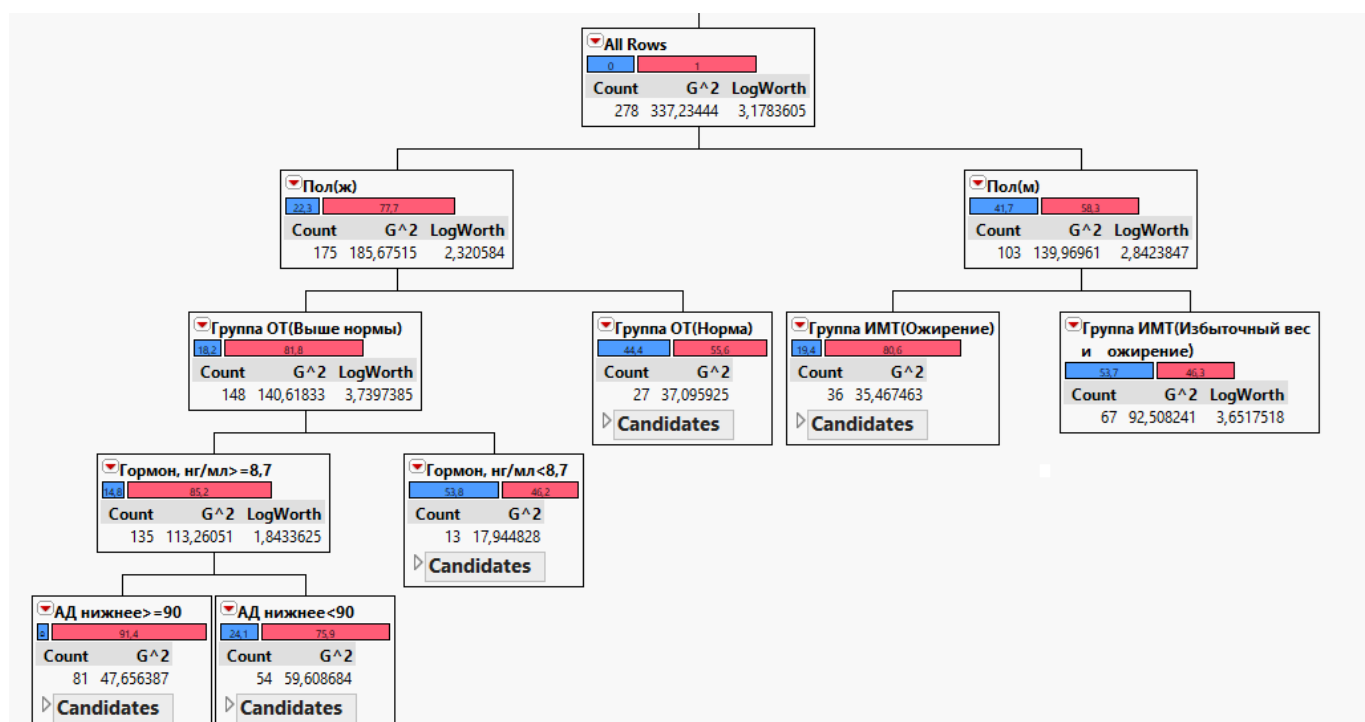


Рис. 1. Дерево решений для показателя «Наличие повторных пароксизмов».

У женщин сравнительно небольшим риском рецидива обладают те, у кого ОТ в норме (54%). Если же ОТ у женщины выше нормы, а содержание гормона менее 8,7 мг/мл, то риск рецидива также мал (46%). В случае, когда ОТ у женщины выше нормы, содержание гормона более 8,7 мг/мл и повышенное диастолическое АД (более 90), то риск рецидива составляет 92%. АД диастолическое в пределах нормы несколько снижает этот риск (до 76%).

Распространенность ожирения у пациентов с ФП по данным нашего исследования составила 44,3%.

Распространенность избыточного веса и ожирения у пациентов с фибрилляцией предсердий, по данным крупного немецкого регистра, составила 25% [21].

В данном регистре в отличие от нашего исследования не у всех пациентов присутствовала артериальная гипертензия в анамнезе.

По данным исследования Писаревской К.А. с участием 104 пациентов с ФП с восстановленным синусовым ритмом зарегистрировано у 61,1% пациентов ожирение [6]. Анализ показателей сердечно-сосудистой системы в группах с разным ОТ при первичном осмотре (таблица 1) показывает, что группы различаются по показателю КДР ЛП ($p=0,0016$), наличию ГЛЖ ($p=0,0471$), при осмотре через год группы также различаются по этим двум показателям. Полученные результаты соответствуют литературным источникам, связь между абдоминальным ожирением и расширением левого предсердия, развитием гипертрофии

миокарда левого желудочка установлена достаточно давно [9, 12].

При анализе групп с наличием пароксизмов ФП было установлено, что в группе с показателем ОТ в пределах нормальных значений 34 (17,3%) человека имеют пароксизмы ФП, в группе с показателем ОТ выше нормы 162 (82,7%) человека имеют повторные пароксизмы ФП $p<0,0001$. Данные литературы свидетельствуют о большей распространенности ФП у пациентов с ожирением, причем частота пароксизмов ФП растет по мере увеличения степени ожирения [4, 8, 23].

В исследовании Онучиной Е.Л. с соавторами, проводимом с участием 151 пациента с метаболическим синдромом, установлено, что у пациентов с фибрилляцией предсердий ОТ больше ($p=0,03$) [5].

Группы пациентов, у которых случались повторные пароксизмы, и пациентов, у которых пароксизмов не было, также различаются по содержанию лептина.

Содержание гормона больше в группе пациентов с повторными пароксизмами $27,0 \pm 20,1$ – среднее значение, $17,9 \pm 18,7$ – среднее значение показателя лептина для группы пациентов без повторных пароксизмов ФП ($p=0,0003$). В литературных источниках нет сведений о показателях лептина в зависимости от наличия/отсутствия повторных пароксизмов ФП.

Предикторами повторных пароксизмов ФП являлись у женщин: ОТ более 80 см, содержание лептина выше 8,7 мг/мл и диастолическое артери-

альное давление более 90 мм рт. ст., у мужчин: ИМТ 25 кг/м² и более.

В исследовании the Women's Health Study, участниками которого стали более 34000 женщин – специалистов в области здравоохранения, не имеющие ССЗ, сообщается, что существует линейная зависимость между ИМТ и ФП, на 4,7% повышается риск развития ФП при увеличении ИМТ на 1 [27]. Elhendy A. в исследовании с участием 692 пациентов, отметил, избыточная масса тела является предиктором повторных пароксизмов ФП [13].

По результатам Фремингемского исследования АГ являлась независимым предиктором ФП, у женщин с АГ риск ФП увеличивался на 70% [20].

По данным исследования RACE артериальная гипертензия являлась предиктором неэффективной кардиоверсии [17].

На основании проведенных исследований можно сделать следующие выводы.

Распространенность ожирения у пациентов с ФП в г. Архангельске составляет 44,3%.

С увеличением объема талии у пациентов с ФП увеличиваются размеры левого предсердия, возрастает распространенность гипертрофии левого желудочка.

Количество пациентов с повторными пароксизмами ФП растет по мере увеличения ОТ.

Пациенты с повторными пароксизмами ФП имеют более высокий уровень лептина в сравнении с пациентами без пароксизмов ФП.

Предикторами повторных пароксизмов ФП являлись у женщин: ОТ более 80 см, содержанием гормона выше 8,7 мг/мл и диастолическое артериальное давление более 90 мм рт. ст., у мужчин: ИМТ 25 кг/м² и более.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Аракелян М.С., Потешкина Н.Г., Могутова П.А. Корригируемые и некорригируемые факторы риска в прогнозировании рецидивирования фибрилляции предсердий у больных артериальной гипертензией // Российский кардиологический журнал. – 2012. – № 6. – С. 34-38. [Arakelyan M.S., Poteshkina N.G., Mogutova P.A. Modifiable and non-modifiable risk factors in predicting the recurrence of atrial fibrillation in patients with arterial hypertension. Rossiyskiy kardiologicheskii zhurnal – Russian Journal of Cardiology. 2012; (6): 34-38. (in Russ.).]
2. Дербенева С.А., Богданов А.Р., Феофанова Т.Б., Залетова Т.С., Голубева А.А., Каганов Б.С., Зейгарник М.В. Особенности функционального статуса сердечно-сосудистой системы у больных с ожирением // Медицинская наука и образование Урала. – 2012. – № 1. – С. 126-129. [Derbeneva S.A., Bogdanov A.R., Feofanova T.B., Zaletova T.S., Golubeva A.A., Kaganov B.S., Zeigarnik M.V. The study of

cardiac status in patients with obesity. Meditsinskaya nauka i obrazovanie Urala. 2012; (1): 126-129. (in Russ.).]

3. Дружилов М.А., Дружилова О.Ю., Бетелева Ю.Е., Кузнецова Т.Ю. Ожирение как фактор сердечно-сосудистого риска: акцент на качество и функциональную активность жировой ткани // Российский кардиологический журнал. – 2015. – № 4. – С. 111-117. – DOI: 10.15829/1560-4071-2015-4-111-117. [Druzhilov M.A., Druzhilova O.Y., Beteleva Y.E., Kuznetsova T.Y. Obesity as cardiovascular risk factor: accent on quality and functional activity of adipose tissue. Rossiyskiy kardiologicheskii zhurnal – Russian Journal of Cardiology. 2015; (4): 111-117. (in Russ.).]
4. Олейник О.А., Самойлова Ю.Г., Ворожцова И.Н., Денисенко Т.Н., Башняк М.В., Харламова Е.Ю. Клинико-метаболические и молекулярно-генетические механизмы формирования сердечно-сосудистых осложнений при ожирении // Сибирский Медицинский Журнал. – 2011. – Т. 26, № 4. – С. 16-22. [Oleynik O.A., Samoylova Y.G., Vorozhtsova I.N., Denisenko T.N., Bashnyak M.V., Kharlamova E.Yu. Clinical metabolic and molecular genetic mechanisms of formation of cardiovascular complication in obesity. Sibirskiy Meditsinskiy Zhurnal. 2011; 26 (4): 16-22. (in Russ.).]
5. Онучина Е.Л., Соловьев О.В., Онучин С.Г., Мочалова О.В., Кононов С.К. Оценка факторов риска развития фибрилляции предсердий у пациентов с метаболическим синдромом // Клиническая медицина. – 2012. – № 1. – С. 72-76. [Onuchina E.L., Solov'ev O.V., Onuchin S.G., Mochalova O.V., Kononov S.K. Assessment of risk factors of atrial fibrillation in patients with metabolic syndrome. Klinicheskaya meditsina. 2012; (1): 72-76. (in Russ.).]
6. Писаревская К.А. Распространенность ожирения у пациентов с неклапанной персистирующей фибрилляцией предсердий в процессе длительного наблюдения // Запорожский медицинский журнал. – 2016. – № 2 (95). – С. 16-21. – DOI: 10.14739/2310-1210.2016.2.69171. [Pysarevskaya K.O. The prevalence of obesity in patients with non-valvular persistent atrial fibrillation during long observations. Zaporozhskiy meditsinskiy zhurnal. 2016; (2): 16-21. (in Russ.).]
7. Постоева А.В., Дворяшина И.В., Бахтина З.Э., Елисеева И.В. Анализ предикторов гипертрофии левого желудочка у женщин с ожирением различной выраженности // Ожирение и метаболизм. – 2015. – Т. 12, № 4. – С. 34-41. – DOI: 10.14341/omet2015434-41. [Postoeva A.V., Dvoryashina I.V., Bakhtina Z.E., Eliseeva I.V. Analysis of left ventricular hypertrophy predictors in women with different levels of obesity. Ozhirenie i metabolism. 2015; 12 (4): 34-41. (in Russ.).]
8. Цыпленкова Н.С., Панова Е.И., Жданкина Н.В., Морозова Е.П., Каратаева О.В. Фибрилляция предсердий у больных с ожирением и артериальной гипертензией // Архив внутренней медицины. – 2015. – Т. 5, № 25. – С. 62-64. [Tsyplenkova N.S., Panova E.I., Zhdankina N.V., Morozova E.P., Karataeva O.V. Atrial fibrillation in the patients with

- obesity and arterial hypertension. Arkhiv" vnutrenney meditsiny – The Russian Archives of Internal Medicine. 2015; (5): 62-64. (in Russ.).
9. Шестакова М.В., Бутрова С.А., Сухарева О.Ю. Метаболический синдром как предвестник развития сахарного диабета 2-го типа и сердечно-сосудистых заболеваний // Терапевтический архив. – 2007. – № 10. – С. 5-8. [Shestakova M.V., Butrova S.A., Sukhareva O.Yu. Metabolic syndrome as a precursor of diabetes mellitus type 2 and cardiovascular diseases. Terapevticheskiy arkhiv. 2007; (10): 5-8. (in Russ.).]
10. Чумакова Г.А., Веселовская Н.Г., Козаренко А.А., Воробьева Ю.В. Особенности морфологии, структуры и функции сердца при ожирении // Российский кардиологический журнал. – 2012. – № 4. – С. 93-99. [Chumakova G.A., Veselovskaya N.G., Kozarenko A.A., Vorobyeva Y.V. Heart morphology, structure, and function in obesity. Rossiyskiy kardiologicheskiy zhurnal – Russian Journal of Cardiology. 2012; (4): 93-99. (in Russ.).]
11. Abed H.S., Wittert G.A., Leong D.P., Shirazi M.G., Bahrami B., Middeldorp M.E., Lorimer M.F., Lau D.H., Antic N.A., Brooks A.G., Abhayaratna W.P., Kalman J.M., Sanders P. Effect of weight reduction and cardiometabolic risk factor management on symptom burden and severity in patients with atrial fibrillation: a randomized clinical trial // JAMA. – 2013. – Vol. 310, N 19. – P. 2050-2060. – DOI: 10.1001/jama.2013.280521.
12. Coromilas J. Obesity and atrial fibrillation. Is one epidemic feeding the other? // Journal of the American Medical Association. – 2004. – Vol. 292, N 20. – P. 2519-2520. – DOI: 10.1001/jama.292.20.2519
13. Elhendy A., Gentile F., Khandheria B.K., Gersh B.J., Bailey K.R., Montgomery S.C., Seward J.B., Tajik A.J. Thromboembolic complications after electrical cardioversion in patients with atrial flutter // Am. J. Med. – 2001. – Vol. 111, N 6. – P. 433-438.
14. Ferrari R., Bertini M., Blomstrom-Lundqvist C., Dobrev D., Kirchhof P., Pappone C., Ravens U., Tarmargo J., Tavazzi L., Vicedomini G.G. An update on atrial fibrillation in 2014: from pathophysiology to treatment // Int J Cardiol. – 2016. – Vol. 203. – P. 22-29. DOI: 10.1016/j.ijcard.2015.10.089.
15. Fukui A., Takanashi N., Nakada C., Masaki T., Kume O., Shinohara T., Teshima Y., Hara M., Saikawa T. Role of leptin signaling in the pathogenesis of angiotensin II-mediated atrial fibrosis and fibrillation // Circ Arrhythm Electrophysiol. – 2013. – Vol. 6, N 2. – P. 402-409. – DOI: 10.1161/CIRCEP.111.000104.
16. Guglin M., Maradia K., Chen R., Curtis A.B. Relation of Obesity to Recurrence Rate and Burden of Atrial Fibrillation // Am. J. of Cardiol. – 2011. – Vol. 107, N 4. – P. 579-582. – DOI: 10.1016/j.amjcard.2010.10.018.
17. Hagens V.E., Ranchor A.V., Van Sonderen E., Bosker H.A., Kamp O., Tijssen J.G., Kingma J.H., Crijns H.J., Van Gelder I.C.; RACE Study Group. Effect of rate or rhythm control on quality of life in persistent atrial fibrillation. Results from the Rate Control Versus Electrical Cardioversion (RACE) Study // J. Am. Coll. Cardiol. – 2004. – Vol. 43, N 2. – P. 241-247.
18. Han S.H., Quon M.J., Kim J.A., Koh K.K. Adiponectin and cardiovascular disease: response to therapeutic interventions // J Am Coll Cardiol. – 2007. – Vol. 49, N 5. – P. 531-538. – DOI: 10.1016/j.jacc.2006.08.061.
19. Iacobellis G., Ribaudo M.C., Zappaterreno A., Iannucci C.V., Di Mario U., Leonetti F. Adapted changes in left ventricular structure and function in severe uncomplicated obesity // Obesity Research. – 2004. – Vol. 12, N 10. – P. 1616-1621. – DOI: 10.1038/oby.2004.201.
20. Kannel W.B., Abbot R.D., Savage D.D., McNamara P.M. Epidemiology features of chronic atrial fibrillation: the Framingham study // N. Engl. J. Med. – 1982. – Vol. 306, N 17. – P. 1018-1022. – DOI: 10.1056/NEJM198204293061703.
21. Nabauer M., Gerth A., Limbourg T., Schneider S., Oeff M., Kirchhof P., Goette A., Lewalter T., Ravens U., Meinertz T., Breithardt G., Steinbeck G. The Registry of the German Competence NETwork on Atrial Fibrillation: patient characteristics and initial management // Europace. – 2009. – Vol. 11, N 4. – P. 423-434. – DOI: 10.1093/europace/eun369.
22. Nalliah C.J., Sanders P., Kottkamp H., Kalman J.M. The role of obesity in atrial fibrillation // European Heart Journal. – 2016. – Vol. 37, N 20. – P. 1565-1572. – DOI: 10.1093/eurheartj/ehv486.
23. Pathak R.K., Middeldorp M.E., Meredith M., Mehta A.B., Mahajan R., Wong C.X., Twomey D., Elliott A.D., Kalman J.M., Abhayaratna W.P., Lau D.H., Sanders P. Long-Term Effect of Goal-Directed Weight Management in an Atrial Fibrillation Cohort: A Long-Term Follow-Up Study (LEGACY) // J. Am Coll Cardiol. – 2015. – Vol. 65, N 20. – P. 2159-2169. – DOI: 10.1016/j.jacc.2015.03.002.
24. Stewart S., Hart C.L., Hole D.J., McMurray J.J. Population prevalence, incidence, and predictors of atrial fibrillation in the Renfrew/Paisley study // Heart – 2001. – Vol. 86, N 5. – P. 516-521.
25. Sumeray M., Steiner M., Sutton P., Treasure T. Age and obesity as risk factors in perioperative atrial fibrillation // Lancet. – 1988. – Vol. 2, N 8608. – P. 448.
26. Vidaillet H., Granada J.F., Chyou P., Maassen K., Ortiz M., Pulido J.N., Sharma P., Smith P.N., Hayes J. A population-based study of mortality among patients with atrial fibrillation or flutter // Am J Med. – 2002. – Vol. 113, N 5. – P. 365-370.
27. Tedrow U.B., Conen D., Ridker P.M., Cook N.R., Koplan B.A., Manson J.E., Buring J.E., Albert C.M. The long- and short-term impact of elevated body mass index on the risk of new atrial fibrillation the WHS (women's health study) // J. Am Coll Cardiol. – 2010. – Vol. 55, N 21. – P. 2319-2327. – DOI: 10.1016/j.jacc.2010.02.029.

ОСОБЕННОСТИ ТЕЧЕНИЯ РЕАКТИВНЫХ АРТРИТОВ У ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ НА СОВРЕМЕННОМ ЭТАПЕ

© Писарева А.Д., Матвиенко Е.В., Кривдина Н.Д., Хмелевская И.Г., Разинькова Н.С.

Кафедра педиатрии Курского государственного медицинского университета, Курск

E-mail: dvoinyh.nina@yandex.ru

В статье рассматриваются особенности течения реактивного артрита у детей. Выделены этиологические факторы, такие как кишечные, урогенитальные и респираторные инфекции. Чаще всего реактивный артрит был диагностирован у девочек дошкольного возраста. Более чем в 65% случаев у детей в анамнезе выявлены острые респираторные инфекции, хронические очаги инфекции, такие как тонзиллит, ангина, кариес. У трети обследованных детей отмечалась семейная отягощенность по ревматическим заболеваниям. Установлено, что у большинства пациентов заболевание носило острый характер. Среди клинических проявлений чаще всего встречались поражения тазобедренных и коленных суставов по моноартикулярному типу, сопровождающиеся выраженной интенсивностью болевого синдрома и умеренной лабораторной активностью. У всех пациентов в дебюте заболевания суставной синдром характеризовался умеренной отечностью сустава.

Ключевые слова: реактивный артрит, инфекция, коленные суставы, сиаловые кислоты.

FEATURES OF THE COURSE OF REACTIVE ARTHRITIS IN CHILDREN AND ADOLESCENTS AT PRESENT STAGE

Pisareva A.D., Matvienko E.V., Krivdina N.D., Khmelevskaya I.G., Razinkova N.S.

Department of Pediatrics of Kursk State Medical University, Kursk

The article considers the features of the course of reactive arthritis in children. Etiological factors such as intestinal, urogenital and respiratory infections have been identified. Most often, reactive arthritis was diagnosed in pre-school girls. In more than 65% of cases, children have a history of acute respiratory infections, chronic foci of infection, such as tonsillitis, quinsy, and caries. A third of the children surveyed had a family history of rheumatic fever. It was found that in most patients the disease had acute character. Among the clinical manifestations the most common lesions of the hip and knee joints were monoarticular type, in all patients in the onset of the disease the joint syndrome was characterized by moderate edema of the joint.

Keywords: reactive arthritis, infection, knee joints, sialic acids.

Проблема реактивного артрита (РеА) является одной из наиболее актуальных в современной педиатрической ревматологии. Распространенность различных вариантов заболевания за последние годы увеличилась с 0,3 до 0,7 на 1000 детского населения [4].

Данная патология относится к XIII классу – болезни костно-мышечной системы и соединительной ткани, а также включена в группу инфекционных артропатий, этиологическим фактором которых являются различные микробиологические агенты [2]. Существует многообразие этиологических факторов и предикторов [6, 8], приводящих к развитию этого заболевания. Так, согласно современным представлениям, наиболее часто болезнь развивается после кишечной и урогенитальной инфекции, которая обусловлена такими этиологическими факторами как энтеробактерии (*Yersinia enterocolitica*, *Yersinia pseudotuberculosis*, *Salmonella enteritidis*, *Shigella flexneri*, *Shigella sonnei*), а также острой либо персистирующей урогенитальной инфекцией (*Chlamydia trachomatis*) [7].

Инфекции респираторного тракта (*Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*) нередко яв-

ляются причинами развития данной патологии. В связи с этим многие авторы используют в своей клинической практике термин «постреспираторный» РеА [1, 3, 5]. Существует также мнение, что в детском возрасте респираторные агенты являются наиболее частым причинным фактором возникновения РеА, чем урогенитальные или энтероколитические [9].

Реактивные артриты, клиническая картина которых очень разнообразна и является в первую очередь отражением этиологического инфекционного фактора, в ряде случаев представляют большие трудности для диагностики.

Существующие клинические рекомендации и клиничко-лабораторные подходы не позволяют проводить объективную раннюю диагностику этой патологии. Только динамическое наблюдение и обследование позволяет правильно верифицировать диагноз [2, 11].

Проблема реактивных артритов по многим вопросам остается нерешенной и это, в первую очередь, связано с особенностями дебюта болезни, неспецифичностью клинических проявлений [10], которые нередко очень схожи с другими ревматическими заболеваниями, сопровождаю-

щимися артритом, однако имеют более неблагоприятное течение и прогноз.

Целью исследования явилось выявление особенностей течения реактивных артритов у детей и подростков в различные возрастные периоды.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследовании приняли участие 21 пациент в возрасте 3-16 лет с установленным диагнозом реактивный артрит (13 девочек и 8 мальчиков).

Все дети были разделены по возрасту на 3 группы: дошкольный возраст (1-6 лет – 52,3%), младший школьный возраст (7-11 лет – 23,8%), старший школьный возраст (12-16 лет – 23,8%).

У всех исследуемых оценивались показатели, характеризующие воспалительный процесс (количество лейкоцитов, СОЭ, уровень сиаловых кислот, серомукоид, С-реактивный протеин). Для идентификации «триггерных» факторов был использован иммуноферментный анализ крови, позволяющий определить антитела класса IgM и IgG к микоплазме, уреоплазме, хламидиям, вирусу простого герпеса, цитомегаловирусу, вирусу Эпштейн Барр.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета программ Microsoft Office, Statgraphics Plus 5.0. Для оценки достоверности отличий использовался t-критерий Стьюдента. Критический уровень значимости для проверки статистических гипотез при сравнении групп принимался равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе проведенного анализа установлено, что средний возраст больных на момент обследования составлял $8,11 \pm 0,32$ года. Чаще встречались дети дошкольного возраста (52,3%) с четким преобладанием девочек (61,9%, $p < 0,01$). Возраст дебюта заболевания варьировал от 1 до 16 лет и в среднем составил $8,75 \pm 0,42$ года.

Преморбидный фон больных характеризовался рядом неблагоприятных факторов: отягощенным акушерским анамнезом (примерно у 1/4 пациентов), частыми острыми респираторными заболеваниями и повторными ангинами (65,4% и 53,8% соответственно), наличием хронического тонзиллита и кариеса (64,8% и 46,2% соответственно). Необходимо подчеркнуть, что у 1/3 обследованных детей отмечалась семейная отягощенность по ревматическим заболеваниям суставов. Обращал на себя внимание тот факт, что не только родственники второй линии родства болели реактивным артритом ($42,53 \pm 3,18\%$),

но и достаточно высокий удельный вес ($21,50 \pm 2,43\%$) родственников первой линии наследования (родители пациентов) имели в анамнезе эту патологию. Следует отметить, что у абсолютного большинства больных артрит развивался через 1-4 недели после перенесенной кишечной и/или острой назофарингеальной инфекции.

В зависимости от триггерного фактора было выделено три основных варианта реактивных артритов у обследуемых детей: постреспираторные (вызванные *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*), которые встречались у 34,2%, артриты после носоглоточных инфекций – у 19,1% и урогенитальные – у 14,2%. Достаточно часто имела место персистенция вирусов. Так, у $41,3 \pm 0,32\%$ лиц были обнаружены антитела к вирусу простого герпеса 1 и 2 типа, несколько реже ($30,1 \pm 0,47\%$) – к цитомегаловирусу и лишь у $19,02 \pm 0,69\%$ исследуемых к вирусу Эпштейн-Барр. Следует отметить, что практически у 1/3 больных имело место сочетание внутриклеточной бактериальной инфекции с вышеописанными вирусными агентами.

Особенностью условий возникновения РеА стали также частые случаи травм пораженных суставов у 23,1% детей и предшествующая вакцинация у 9,4% пациентов.

В общей группе больных с РеА у подавляющего большинства заболевание носило острый характер (от 2 недель до 3 месяцев – 78,8%, $p < 0,01$). Рецидивирующее течение наблюдалось у 21,2% обследованных детей и достоверно чаще наблюдалось у детей дошкольного возраста (40,8%). Это позволяет расценивать данную возрастную категорию как группу риска по рецидивированию РеА.

Ведущим клиническим проявлением данной патологии был суставной синдром с преимущественно олиго- (47,6%) и моноартикулярным (42,8%) поражением суставов. Следует отметить, что моноартикулярный вариант достоверно чаще встречался в младшей возрастной группе ($p < 0,01$), в то время как олигоартикулярный – в старшей. Полиартикулярное поражение диартрозов наблюдалось у 9,5% детей. Воспалительные изменения наиболее часто локализовались в коленных (80,9%) и тазобедренных (19,1%) суставах. При этом в средней и старшей возрастной группе наиболее часто поражались именно коленные диартрозы ($p < 0,01$), в то время как у детей дошкольного возраста – тазобедренные ($p < 0,05$). Кроме того, в патологический процесс также вовлекались голеностопные (14,2%), значительно реже мелкие суставы кистей и стоп (4,7%). У 4,2% детей и подростков артрит дебютировал с поражения лучезапястных суставов, и это вызы-

вало необходимость проведения дифференциальной диагностики с ревматическим процессом. Определено, что независимо от половой принадлежности во всех возрастных периодах преобладающей была частота поражения суставов нижних конечностей.

В ходе проведения исследования установлено, что жалобы общего характера наиболее часто встречались в группе больных дошкольного возраста ($p<0,01$) и у лиц женского пола ($p<0,05$). Утренняя скованность отмечена у 61,9% обследуемых и практически у половины из них она носила кратковременный характер, а затруднения при ходьбе у 14,2% детей.

Все дети, больные РеА, предъявляли жалобы на артралгии различной степени интенсивности. Согласно визуально-аналоговой шкале боли алгии чаще всего носили умеренный характер ($p<0,05$), возникали в течение дня, а также во время активных и пассивных движений в пораженных суставах. Следует отметить, что интенсивность суставного болевого синдрома была достоверно выше у детей дошкольного возраста и лиц женского пола ($p<0,01$).

Согласно данным проведенного исследования установлено, что у всех пациентов в дебюте заболевания суставной синдром характеризовался умеренной отечностью сустава, преимущественно за счет периартикулярных тканей, у 20,3% детей отмечалось локальное повышение температуры над пораженным диартрозом.

Оценивая данные рентгенологического обследования, у 93,2% пациентов патологические изменения не определялись, что может свидетельствовать о доброкачественном течении заболевания. И только у незначительного количества детей определялся региональный остеопороз и то лишь при рецидивирующем течении патологического процесса.

Что касается показателей острой фазы воспаления, то они у 58,7% детей находились в пределах возрастной нормы. Клинические проявления артрита сопровождалась лабораторной активностью преимущественно в группе детей дошкольного возраста ($p<0,05$). Так, средние показатели С-реактивного протеина составили $22,03 \pm 0,87$. Часто определялось незначительное повышение уровня сиаловых кислот и гликопротеина ($49,21 \pm 8,13\%$ и $31,48 \pm 3,28\%$ соответственно). У трети пациентов выявлялась повышенной концентрация серомукоида.

Таким образом, на основании проведенного клинико-лабораторного исследования больных с РеА установлено, что у подавляющего большинства заболевание носило острый характер ($p<0,01$). У детей дошкольного возраста суставной синдром представлен моноартикулярным ва-

риантом ($p<0,01$) с преимущественным вовлечением в патологический процесс тазобедренных суставов ($p<0,05$), сопровождающийся выраженной интенсивностью болевого синдрома ($p<0,01$) и умеренной лабораторной активностью. В средней и старшей возрастных группах преобладал олигоартрит ($p<0,01$) с поражением коленных суставов ($p<0,01$).

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Агабабова Э.Р., Бунчук Н.В., Шубин С.В., Урумова М.М., Солдатова С.И., Бадюкин В.В. Критерии диагноза реактивных артритов (проект) // Научно-практическая ревматология. – 2003. – № 3. – С. 82-83. [Asababova E.R., Bunchuk N.V., Shubin S.V., Urumova M.M., Soldatova S.I. Reactive arthritides diagnostic criteria (project). Nauchno-prakticheskaya revmatologiya. 2003; (3): 82-83. (in Russ.)].
2. Аснер Т.В., Калягин А.Н. Урогенные реактивные артриты: современные аспекты диагностики и лечения // Современная ревматология. – 2010. – № 4. – С. 11-15. [Asner T.V., Kalyagin A.N. Urogenic reactive arthritis: current aspects of diagnosis and treatment. Sovremennaya revmatologiya. 2010; (4): 11-15 (in Russ.)].
3. Мешков А.П. Диагностика и лечение болезней суставов. – М.: Медицинская книга, 2003. – 180 с. [Meshkov A.P. Diagnosis and treatment of joint diseases. M.: Meditsinskaya kniga; 2003: 180 (in Russ.)].
4. Кадурина Т.И., Аббакумова Л.Н. Оценка степени тяжести недифференцированной дисплазии соединительной ткани у детей // Мед. вест. Север. Кавказа. – 2008. – Т. 2, № 10. – С. 15-20. [Kadurina T.I., Abbakumova L.N. Estimation of the severity of the nondifferentiated connective tissue dysplasia in children. Meditsinskiy vestnik Severnogo Kavkaza. 2008; 2 (10): 15-20 (in Russ.)].
5. Лебец И.С., Шевченко Н.С., Матвиенко Е.В., Нелина И.Н., Кашкалда Д.А., Лetyаго А.В. Механизмы формирования остеоартроза у подростков // Украинский ревматологический журнал. – 2007. – Т. 30, № 4. – С. 3-6. [Lebets I.S., Shevchenko N.S., Matvienko O.V., Nelina I.M., Kashkalda D.A., Letyago A.V. Mechanisms of development of osteoarthritis in adolescents. Ukrainskiy revmatologicheskii zhurnal. 2007; 30 (4): 3-6 (in Ukr.)].
6. Матвиенко Е.В. Характеристика показателей иммунной системы у подростков, больных остеоартрозом, на фоне гипермобильного синдрома // Педиатрия, акушерство и гинекология. – 2006. – № 1. – С. 62-69. [Matviyenko E.V. Characteristics of the indices of the immune system in adolescents with osteoarthritis, against the background of hypermobile syndrome. Pediatriya, akusherstvo i ginekologiya. 2006; (1): 62-69 (in Russ.)].
7. Ревматические болезни. Руководство для врачей / под ред. В.А. Насоновой, Н.В. Бунчука. – М.: Медицина, 1997. – 520 с. [Rheumatic diseases. A guide

- for doctors. V.A. Nasonova, N.V. Bunchuk editors. M. : Meditsina; 1997: 520 (in Russ.)).
8. Шевченко Н.С., Лебец И.С., Нелина И.Н., Кашкалда Д.А., Матвиенко Е.В., Летяго А.В. Патогенетическая значимость воспаления при остеоартрозе у подростков с инициальными стадиями заболевания // Украинский ревматологический журнал. – 2010. – Т. 39, № 1. – С. 50-54. [Shevchenko N.S., Lebets I.S., Nelina I.N., Kashkalda D.A., Matvienko E.V., Letjago A.V. Pathogenetic role of the inflammation in osteoarthritis adolescents patients with initial disease stages. Ukrainskiy revmatologicheskij zhurnal. 2010; 39 (1): 50-54 (in Russ.)].
 9. Assier E., Boissier M.C., Dayer J.M. Interleukin-6: from identification of the cytokine to development of targeted treatments // Joint Bone Spine. – 2010. – Vol. 77, N 6. – P. 532-536. – DOI: 10.1016/j.jbspin.2010.07.007.
 10. Lacoste M.G., Cargnelutti D.E., Tamashiro H., Di Genaro M.S. Reactive arthritis with conjunctivitis, urethritis and diarrhea in a child: immunological study of potential bacterial trigger // Clin Exp Rheumatol. – 2008. – Vol. 26, N 2. – P. 381-382.
 11. Moorthy L.N., Gaur S., Peterson M.G., Landa Y.F., Tandon M., Lehman T.J. Poststreptococcal reactive arthritis in children: a retrospective study // Clin Pediatr (Phila). – 2009. – Vol. 48, N 2. – P. 174-182. – DOI: 10.1177/0009922808330107.

СПОСОБЫ ПРОФИЛАКТИКИ ГЕМОРРАГИЧЕСКИХ ОСЛОЖНЕНИЙ ПРИ ПОЗАДИЛОННОЙ АДЕНОМЭКТОМИИ

© Шкодкин С.В.^{1,2}, Золотухин Д.А.³, Идашкин Ю.Б.¹, Фиронов С.А.⁴, Невский А.А.^{1,2}, Ивлев С.Б.⁵

¹ Белгородская областная клиническая больница Святителя Иоасафа, Белгород;

² Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород;

³ Больница скорой медицинской помощи г. Ростова-на-Дону, Ростов-на-Дону;

⁴ 1602 военный клинический госпиталь, Ростов-на-Дону;

⁵ Городская больница № 1 г. Старого Оскола, Старый Оскол

E-mail: dima_zolotuhin86@mail.ru

Доброкачественная гиперплазия предстательной железы (ДГПЖ) представляет собой одно из наиболее распространенных заболеваний у мужчин пожилого и старческого возраста. В настоящее время медикаментозная терапия ДГПЖ занимает приоритетные позиции, однако хирургическое лечение не потеряло актуальности, а его частота остается стабильной на протяжении 10 лет. В нашем обзоре представлен анализ публикаций, освещающий проблему хирургии ДГПЖ больших размеров, причин и источников интраоперационной кровопотери и технических приемов, направленных на их минимизацию. На этапах позадилоной аденомэктомии авторы предлагают разные модификации профилактики геморрагических осложнений. Представленные работы указывают на различия взглядов на анатомию Сартолиниевского сплетения и предлагаемые способы хирургического гемостаза. Обозначена необходимость дальнейшего изучения хирургической анатомии сосудистой архитектоники предстательной железы как важного фактора снижения периоперационных осложнений и летальности.

Ключевые слова: доброкачественная гиперплазия предстательной железы, ДГПЖ, аденома простаты, аденомэктомия, Сартолиниевое сплетение, кровотечение, геморрагические осложнения, гемостаз.

METHODS OF PREVENTION OF HEMORRHAGIC COMPLICATIONS IN RETROPUBIC ADENOMECTOMY

Shkodkin S.V.^{1,2}, Zolotukhin D.A.³, Idashkin Y.B.¹, Fironov S.A.⁴, Nevsky A.A.^{1,2}, Ivlev S.B.⁵

¹ St. Joasaph Belgorod Regional Hospital, Belgorod; ² Belgorod National Research University, Belgorod;

³ Rostov-on-Don Emergency Hospital, Rostov-on-Don;

⁴ Rostov-on-Don Military Clinical Hospital N 1602, Rostov-on-Don; ⁵ Stary Oskol City Hospital N 1, Stary Oskol

Benign prostatic hyperplasia (BPH) is one of the most common diseases in men of elderly and senile age. Currently, medical therapy for BPH takes priority, but surgical treatment has not lost its relevance, and its frequency remains stable for 10 years. The review presents an analysis of publications highlighting the problem of large-scale BPH surgery, the causes and sources of intraoperative blood loss and techniques aimed at minimizing them. At the stages of retropubic adenomectomy, the authors propose different modifications to the prevention of hemorrhagic complications. The presented articles indicate differences in views on the anatomy of the plexus Sartolini and the proposed methods of surgical hemostasis. The need for further study of the surgical anatomy of the vascular architectonics of the prostate gland as an important factor in the reduction of perioperative complications and lethality is indicated.

Keywords: benign prostatic hyperplasia, BPH, prostate adenoma, adenomectomy, plexus Sartolini, hemorrhage, hemorrhagic complications, hemostasis.

Доброкачественная гиперплазия предстательной железы (ДГПЖ) является одной из наиболее частых причин обращений за урологической помощью у мужчин пожилого и старческого возраста, что по данным Европейской ассоциации урологов составляет до 20% от всех урологических нозологий [1]. Несомненно, рост ДГПЖ обуславливает развитие симптомов нижних мочевых путей и ухудшает качество жизни указанной категории больных [2, 17]. Необходимо отметить, что прогресс медикаментозной терапии привел к снижению необходимости хирургического лечения, однако на протяжении последнего десятилетия частота оперативных вмешательств остается стабильной и составляет 20% среди этой когорты пациентов в странах Западной Европы [18, 26].

На сегодняшний день лечение больных с большими размерами предстательной железы (ПЖ) по-прежнему остается одной из наиболее дискуссионных проблем [40]. Однако, несмотря на публикации о возможности трансуретральной резекции и энуклеации в лечении ДГПЖ больших размеров [4, 24], результаты которых широко обсуждаются в медицинской литературе последних лет, руководство большинства национальных урологических ассоциаций признают открытую аденомэктомию методом выбора в лечении данной категории пациентов [30, 31, 36-38]. На сегодняшний день используются два основных доступа при выполнении открытой аденомэктомии: чреспузырный и позадилоный [5]. Сообщения о промежуточном подходе спорадически и разно-

речивы. Экстравезикальный позадилобный доступ, по мнению большинства авторов, имеет преимущества по длительности послеоперационного периода и частоте обструктивных осложнений в пузырно-уретральном сегменте [28]. С другой стороны, существенным недостатком последнего является необходимость манипуляций на дорзальном венозном комплексе (Сартолиниевом сплетении), что резко увеличивает вероятность периоперационных геморрагических осложнений [18]. Поиск эффективных способов профилактики данных осложнений не утратил актуальности и по настоящий день [9].

Анализ доступных источников литературы показал, что хирургическое лечение ДГПЖ сопряжено с рядом технических сложностей и осложнений в виде интраоперационной кровопотери, что требует разработки технических приемов, направленных на их минимизацию [10]. Применительно к позадилобной аденомэктомии (ПАЭ) наиболее частыми источниками интраоперационной кровопотери являются Сартолиниевое сплетение и простатические артерии. Несмотря на то, что в течение последних десятилетий уровень оперативной техники значительно вырос, и появились новые физические методы гемостаза, средний объем кровопотери превышает 800 мл. Как известно, основной объем кровопотери приходится на этап выделения и перевязки дорзального венозного комплекса простаты. Анализ причин интраоперационных кровотечений свидетельствует о том, что в подавляющем большинстве своем они имеют венозное происхождение [13]. Таким образом, на сегодняшний день

проблема кровопотери при ПАЭ остается открытой и требует прицельных анатомических исследований кровеносного русла простаты, а также разработки эффективных способов профилактики геморрагических осложнений [30].

Нормальная анатомия сосудистого русла простаты.

В кровоснабжении предстательной железы участвуют основные (постоянные) и дополнительные (непостоянные) артерии. Основными источниками кровоснабжения являются нижняя мочепузырная и средняя прямокишечная артерии [19]. К дополнительным источникам следует относить ветви внутренней половой, запирающей артерий и артерии семявыносящих протоков (рис. 1). На поверхности предстательной железы формируется капсулярное артериальное сплетение, представленное многочисленными анастомозами основных и дополнительных источников кровоснабжения. Наиболее развитая анастомотическая сеть отмечается на основании и на боковых поверхностях [15]. С увеличением возраста происходит уменьшение внутреннего диаметра основных и дополнительных источников кровоснабжения и количества ветвей, васкуляризирующих простату [7, 11]. Существует мнение, что возрастные изменения экстраорганных артериального русла являются предпосылками для развития ишемических нарушений и развития соединительнотканной гиперплазии [7, 34]. Эти процессы в наибольшей степени свойственны верхушке железы, где выявляется наименьшее количество васкуляризирующих железу артерий и их анастомозов [8].

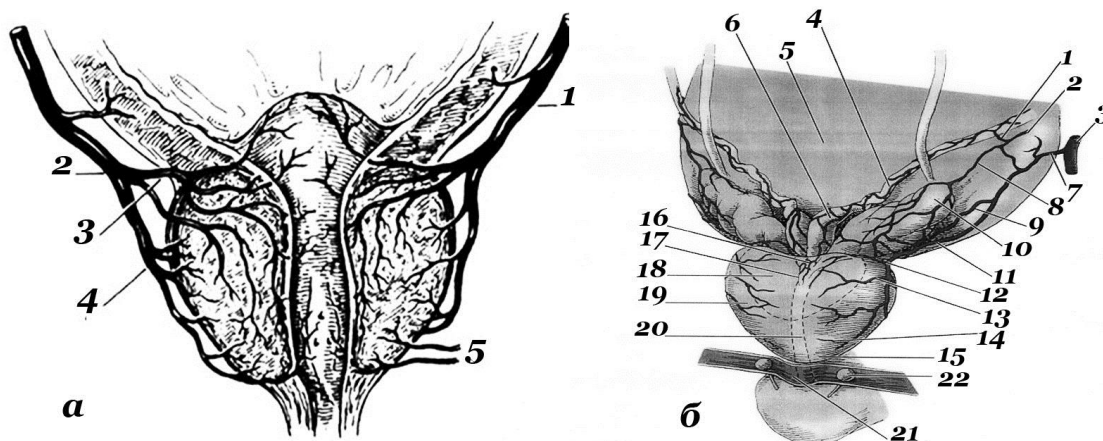


Рис. 1. Схема артериального кровоснабжения предстательной железы.

Примечание: а – основные: 1 – нижняя пузырная артерия; 2 – предстательная артерия; 3 – уретральная артерия; 4 – капсулярные артерии; 5 – ветви средней геморроидальной и половой артерий; б – дополнительные: 1 – артерия семявыносящего протока; 2 – пузырно-семявыносящая артерия; 3 – ягодично-половой ствол; 4 – семявыносящий проток; 5 – мочево́й пузырь; 6 – ампула семявыносящего протока; 7 – пузырно-простатическая артерия; 8 – мочепузырная артерия; 9 – нижняя мочепузырная артерия; 10 – семенной пузырек; 11 – простатическая артерия; 12 – уретральная ветвь; 13 – капсулярная ветвь; 14 – апикальная ветвь; 15 – верхушка простаты; 16 – артериальное сплетение; 17 – семявыносящий проток; 18 – центральная зона простаты; 19 – периферическая зона простаты; 20 – уретра; 21 – бульбо-уретральная железа (из Campbell's Urology.V. 1. 1998).

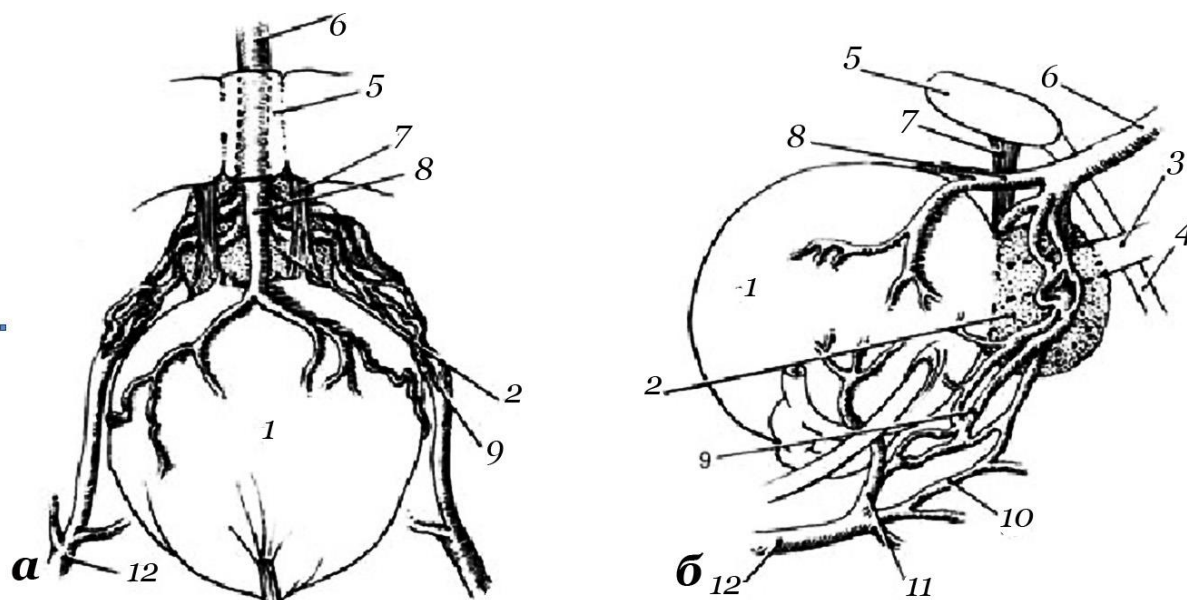


Рис. 2. Экстраорганное венозное русло простаты. Схема венозного оттока из предстательной железы.

Примечания: а – фронтальная проекция и б – сагиттальная проекция: 1 – мочевого пузыря; 2 – предстательная железа; 3 – мочеиспускательный канал; 4 – мочеполая диафрагма; 5 – симфиз; 6 – глубокая дорсальная вена полового члена; 7 – лобково-предстательная связка; 8 – глубокая ветвь глубокой дорсальной вены полового члена; 9 – боковое венозное сплетение; 10 – средняя геморроидальная вена; 11 – нижняя пузырная вена; 12 – подчревная вена (из Campbell's Urology.V. 1. 1998 с изменениями).

Экстраорганное венозное русло простаты является межорганным венозным коллектором малого таза (рис. 2). Оно представлено множественными межсистемными внутрисистемными анастомозами глубокой дорсальной вены полового члена, вен мочевого пузыря, семенных пузырьков и семявыносящего протока, прямой кишки и промежности. Относительно поверхностям предстательной железы в составе простатического венозного сплетения можно отметить переднюю, боковые и заднюю части [18]. При этом передняя часть в 83,8% случаев имеет два слоя – поверхностный и глубокий [16].

Н.В. Куренной и соавт. предложили следующие варианты архитектоники простатического венозного сплетения: магистральная, сетевидная и смешанная [12]. Необходимо отметить, что она имеет возрастную зависимость: магистральная форма наиболее часто встречается в юношеском, сетевидная – в пожилом возрасте. По данным Э.К. Арнольди и соавт., с возрастом отмечается увеличение диаметра вен и количества анастомозов между ними, что, по-видимому, способствует развитию застойных явлений в простатическом венозном сплетении [3]. Также об этом свидетельствуют обнаруженные в пожилом возрасте множественные флеболиты.

Проведя анализ литературы, посвященной позадилоной аденомэктомии, нами отмечено, что многие авторы уделяют большое внимание профилактике геморрагических осложнений и предлагают разные хирургические приемы, направленные на их минимизацию [21-25]. W. Gregoir [29] рекомендовал разделять дисталь-

ную комиссуру в области верхушки ПЖ, чтобы управлять глубокой дорсальной веной и восходящими ветвями пенильной дорсальной артерии, и накладывать одну лигатуру на латеральную везикопростатическую ножку с каждой стороны, чтобы прерывать артериальный кровоток и связи между заднелатеральным и передним простатическим венозными сплетениями. Автор так же предлагал в конце операции накладывать поперечные швы на переднюю поверхность капсулы ПЖ с целью обеспечения продольного сжатия капсулы и лучшего контроля перфорирующих сосудов. Р. Walsh и соавт. [41] усовершенствовали способ W. Gregoir путем пересечения пубопростатических связок и использования массивной лигатуры на глубокий дорсальный венозный комплекс на более дистальном уровне, что должно было более эффективно контролировать восходящий венозный кровоток. Авторы так же рекомендовали накладывать более широкую лигатуру на латеральные простатические ножки в области везикопростатического соединения. Однако, несмотря на это, риск существенного кровотечения после этих маневров сохранялся, потому что отсутствовал контроль над венозными каналами в боковой и передней стенках капсулы ПЖ и шейке мочевого пузыря.

В последующих работах было показано, что у части пациентов эти ветви начинали кровоточить после выделения аденомы из-за ослабления ранее наложенного дистального ряда поперечных пронизывающих кровоостанавливающих швов или в результате бокового надрыва капсульного разреза. Кроме того, дистальная обработка и массивное

лигирование глубокого дорзального венозного комплекса могли увеличить риск повреждения дистального сфинктера мочеиспускательного канала, приведя к повышению вероятности развития недержания мочи [35].

J. Amen-Palma и соавт. [20] предложили накладывать дополнительные пронизывающие швы на боковую стенку капсулы ПЖ после энуклеации аденоматозных узлов. Авторы методики накладывали швы на 3 и 9 ч условного циферблата на капсуле ПЖ. На примере лечения 117 пациентов они продемонстрировали возможность значительного уменьшения кровопотери – ее средний объем составил 175 мл. П.И. Пивоваров и соавт. [14] совершенствовали методику улучшения гемостаза путем использования несъемных кетгутовых швов и смещения слизистой оболочки задней полуокружности шейки мочевого пузыря в просвет мочеиспускательного канала с фиксацией ее к стенкам ложа АПЖ.

M. Srougi и соавт [39] разработали методику устранения недостатков существующих техник, вначале накладывая широкую лигатуру атравматической нитью (полиглактин 0) в заднелатеральной области везикопростатического соединения с каждой стороны, прерывая тем самым артериальные и венозные пути кровотока, идущие к передней поверхности ПЖ и шейке мочевого пузыря. После тракции ПЖ кпереди к начальному шву добавляли кзади от него по одной лигатуре с каждой стороны, тем самым обеспечивая лучший контроль над простатической артерией в месте ее вхождения. После обработки боковых простатических ножек накладывали еще кровоостанавливающие швы на переднюю поверхность капсулы ПЖ, чтобы выключить восходящий кровоток из ветвей глубокой дорзальной вены, и завязывали их. Указанные передние и боковые швы представляли первый ряд. Второй ряд широких и более поверхностных поперечных швов накладывали проксимальнее и параллельно первому ряду – ближе к шейке мочевого пузыря, но дистальнее нее. Их также завязывали до капсулотомии. Наконец, третий ряд глубоких швов (полиглактин 0) накладывали на переднюю поверхность ПЖ, дистальнее первого ряда. Эти швы не завязывали до полного удаления аденомы, так как энуклеация аденоматозных узлов приводила к ослаблению дистального ряда швов, что могло стать причиной профузного кровотечения в зоне дистальной границы капсулотомии. Затем с помощью электроножа выполняли поперечную капсулотомию длиной 4-5 см до аденоматозной ткани. До начала энуклеации на каждый угол капсульного разреза накладывали восьмиобразный шов (полиглактин 0) и завязывали, что уменьшало риск бокового надрыва разреза капсулы. Затем

накладывали еще три дистальных капсульных шва, которые завязывали уже после полного удаления аденоматозных узлов. После этого ложе аденомы «тригонизировали», в мочевой пузырь устанавливали 3-ходовой катетер Foley 22 Ch и ушивали капсулу непрерывным швом. Принцип лигирования глубоких дорзальных вен полового члена и латеральных простатических ножек до энуклеации аденомы заключен в методике, представленной I. Filiadis и соавт. [27]. Авторы сообщили, что даже при очень больших размерах ПЖ (медиана объема ПЖ составляла 145,4 см³) с помощью такого подхода можно добиться существенного снижения кровопотери. Показаний к гемотрансфузиям в их наблюдениях не было отмечено. Н.Ф. Сергиенко [16], напротив, предлагает производить рассечение капсулы ПЖ двумя продольными параллельными разрезами после предварительного ее прошивания без пересечения сосудов дорзального венозного комплекса с сохранением простатического отдела уретры, уретрального сосудистого сплетения и сосудисто-нервного пучка передней поверхности простаты, которые пересекаются в момент выполнения операции Лидского-Миллина [32]. Упрощение методики оперативного удаления аденоматозных тканей простаты превратило операцию в менее травматичную, с меньшей кровопотерей и с минимальным использованием электрохирургических инструментов [36] (рис. 3).

С.В. Шкодкин и соавт. [6] предложили выполнять наложение наружного Z-образного шва на левую простатическую артерию на 5 часах условного циферблата. Выколом через капсулу простаты нить выводить на внутреннюю поверхность ложа простаты. Затем этой же нитью осуществлять ретригонизацию, накладывая внутренний обвивной непрерывный шов с шагом 2-3 мм, адаптирующий шейку мочевого пузыря и заднюю поверхность капсулы простаты. На 7 часах условного циферблата производить выкол на наружную поверхность капсулы простаты, где накладывают и завязывают на правую простатическую артерию наружный Z-образный шов. Той же нитью производить ушивание разреза капсулы простаты наружным обвивным непрерывным швом. Концы нити завязывать на 5 часах условного циферблата. Способ позволяет обеспечить надежный гемостаз и герметизм шва капсулы простаты (рис. 4).

В доступной литературе не представлено сравнительных исследований топографии сосудов простаты в возрастном аспекте и особенности ангиоархитектоники, зависящие от объема ДГПЖ. Многообразие хирургических приемов подчеркивает неразрешенность проблемы и необходимость дальнейшего изучения хирургической

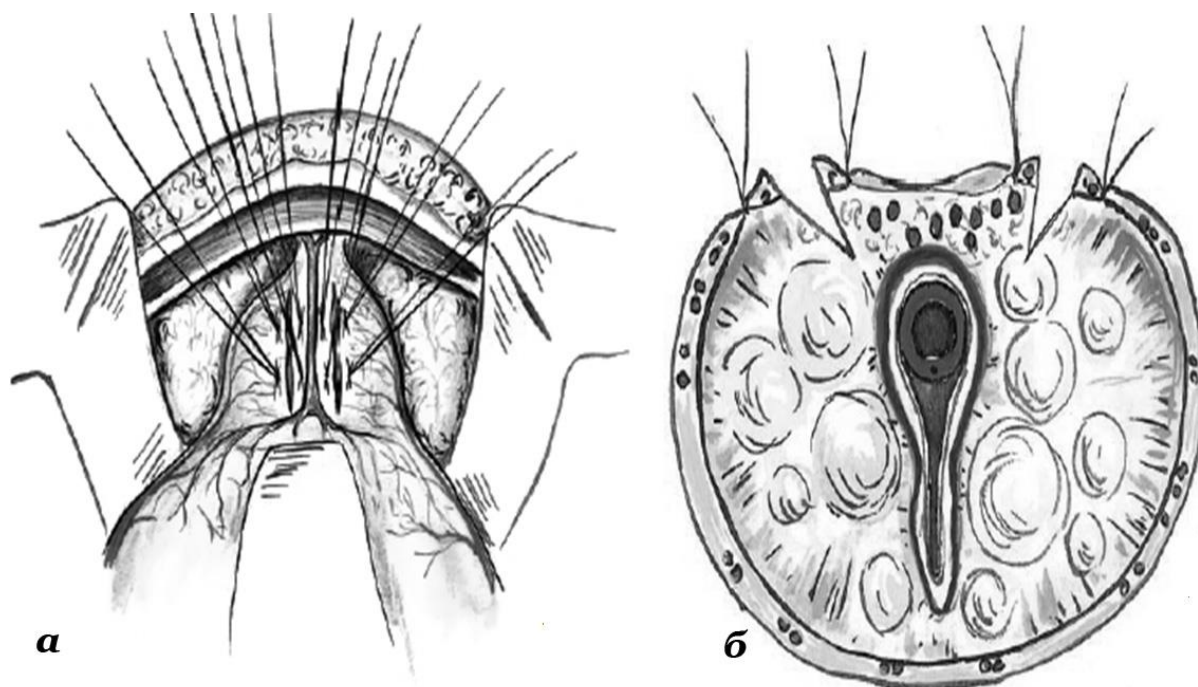


Рис. 3. Рассечение капсулы предстательной железы двумя продольными параллельными разрезами (Н.Ф. Сергиенко, 2012 г.).

Примечание: а – продольные разрезы по передней поверхности простаты; б – вид продольных параллельных разрезов хирургической капсулы при поперечном сечении простаты.

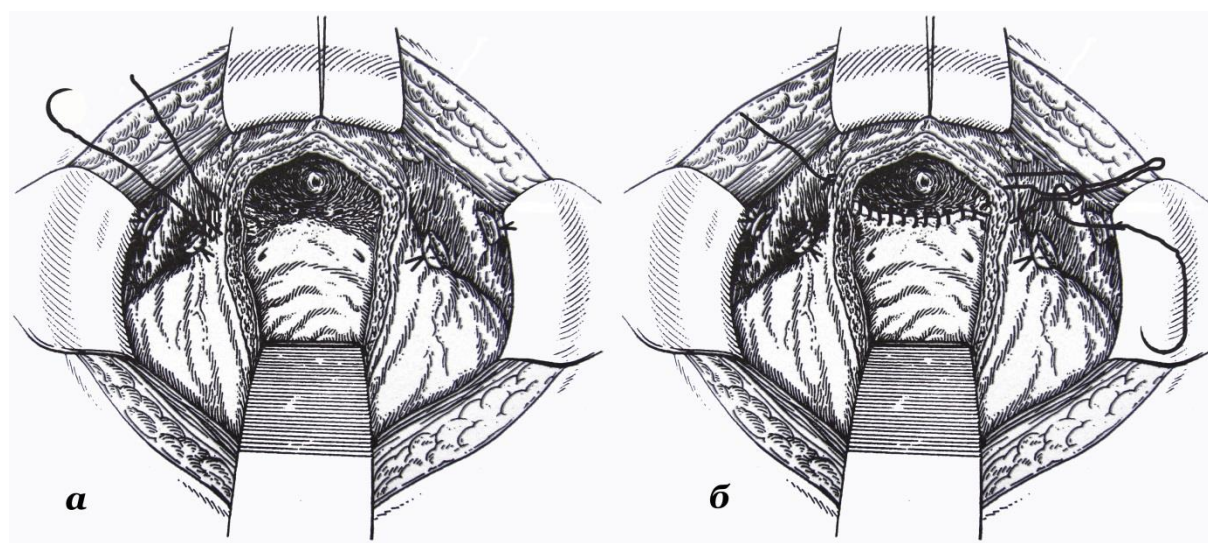


Рис. 4. Наложение наружных Z-образных швов на простатические артерии (Шкодкин С.В. и соавт., 2011 г.).

Примечание: а – наложение наружного Z-образного шва на левую простатическую артерию; б – наложение наружного Z-образного шва на правую простатическую артерию.

анатомии сосудистой архитектоники предстательной железы и разработки эффективных способов гемостаза как важных факторов снижения периоперационных геморрагических осложнений и летальности. Таким образом, являются актуальной проблемой и требуют дальнейшего изучения анатомические особенности сосудистого русла у пациентов с ДГПЖ больших размеров, а также совершенствование техники интраоперационного гемостаза.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Александрова Г.А., Лебедев Г.С., Огрызко Е.В., Кадулина Н.А., Беляева И.М., Кантеева А.Н., Гладких Т.Е., Щербакова Г.А. Заболеваемость взрослого населения России в 2011 году // Статистические материалы. Часть III. – М., 2012. – С. 139-141. [Aleksandrova G.A., Lebedev G.S., Ogryzko E.V., Kadulina N.A., Belyayeva I.M., Kanteyeva A.N., Gladkikh T.E., Shcherbakova G.A. Mor-

- idity of the adult population of Russia in 2011. Statistical materials. Pt. 3. M.; 2012: 139-141. (in Russ.)).
2. *Аполихин О.И., Сивков А.В., Солнцева Т.В., Комарова В.А.* Анализ урологической заболеваемости в Российской Федерации в 2005-2010 годах // Экспериментальная и клиническая урология. – 2012. – № 2. – С. 4-12. [*Apolikhin O.I., Sivkov A.V., Solntseva T.V., Komarova V.A.* Analysis of urological morbidity in the Russian Federation within the period of 2005-2010. *Eksperimental'naya i klinicheskaya urologiya.* 2012; (2): 4-12 (in Russ.)].
3. *Арнольд Э.К.* Хронический простатит: проблемы, опыт, перспективы. Ростов н/Д. – М. : Феникс, 1999. – 320 с. [*Arnol'di E.K.* Chronic prostatitis: problems, experience, prospects. *Rostov-on-Don – M. : Feniks;* 1999: 320 (in Russ.)].
4. *Васин А.Б., Ковальчук О.М.* Интраоперационная диагностика резидуальных долей ДГПЖ, больших объемов, в электрохирургии (ТУР) // Вестник медицинского института «РЕАВИЗ»: реабилитация, врач и здоровье. – 2013. – Т. 10, № 2. – С. 38-42. [*Vasin A.B., Kovalchuk O.M.* Intraoperative diagnostics of prostatic residual lobes in patients with large-sized benign prostatic hyperplasia during electrosurgery (TUR). *Vestnik meditsinskogo instituta «REAVIZ»: reabilitatsiya, vrach i zdorov'ye.* 2013; – 10 (2): 38-42 (in Russ.)].
5. *Велиев Е.И., Соколов А.Е., Богданов А.Б., Илюшин Л.В.* Модифицированная техника позадилоной аденомэктомии (техника РМАПО) // Урология. – 2012. – № 4. – С. 65-68. [*Veliyev E.I., Sokolov A.E., Bogdanov A.B., Ilyushin L.V.* Modified method of retropubic prostatectomy (RMAPE method). *Urology;* 2012; (4): 65-68 (in Russ.)].
6. Гемостатический шов при позадилоной аденомэктомии: заявка 2009149810 Россия, Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Белгородский государственный университет». – Шкодкин С.В., Идашкин Ю.Б., Фентисов В.В. – № 242210; заявлено 31.12.2009; опубл. 27.06.2011. [Hemostatic suture for retropubic adenomectomy: application 2009149810 Russia, State Educational Establishment of Higher Professional Education "Belgorod State University". *Shkodkin S.V., Idashkin Yu.B., Fentisov V.V.* N 242210; declared on 31/12/2009; publ. 06/27/2011 (in Russ.)].
7. *Джавад-Заде М.Д., Линева С.Н.* Гомеостаз при операциях на органах мочеполовой системы. М. : Медицина, 1987. – 240 с. [*Dzhavad-Zade M.D., Linev S.N.* Homeostasis in operations on the organs of the genitourinary system. M. : Meditsina; 1987: 240 (in Russ.)].
8. *Иванов А.И.* Возрастные изменения кровеносных и лимфатических сосудов предстательной железы у взрослых // Арх. анатомии, гистологии и эмбриологии. – 1966. – Т. 51, № 7. – С. 87-93. [*Ivanov A.I.* Age changes in the blood and lymphatic vessels of the prostate gland in adults. *Arkhiv anatomii, gistologii i embriologii.* 1966; 51 (7): 87-93 (in Russ.)].
9. *Иванов А.И.* Изменение кровеносных и лимфатических сосудов предстательной железы при ее гиперплазии // Урология и нефрология. – 1966. – № 1. – С. 23-28. [*Ivanov A.I.* Changes in the blood and lymph vessels of the prostate gland during its hyperplasia. *Urologiya i nefrologiya.* 1966; (1): 23-28 (in Russ.)].
10. *Кадыров, З.А., Эремешвили Г.М., Ишонаков Х.С.* Анализ осложнений разных методов операции у больных доброкачественной гиперплазией предстательной железы больших размеров // Вопросы урологии и андрологии. – 2013. – Т. 2, № 1. – С. 10-14. [*Kadyrov Z.A., Ereishvili G.M., Ishonakov Kh.S.* Analysis of complications of various methods of surgery in patients with benign large-size prostatic hyperplasia. *Voprosy urologii i andrologii.* 2013; 2 (1): 10-14 (in Russ.)].
11. *Кирпатовский В.И., Мкртчян К.Г., Фролова Е.В., Казаченко А.В.* Роль гормональных факторов и нарушения кровоснабжения предстательной железы в патогенезе ДГПЖ // Экспериментальная и клиническая урология. – 2013. – № 2. – С. 38-45. [*Kirpatovskiy V.I., Mkrtchyan K.G., Frolova E.V., Kazachenko A.V.* The role of the hormonal factors and blood supply disturbances of the prostate in the pathogenesis of the benign prostatic hyperplasia. *Eksperimental'naya i klinicheskaya urologiya.* 2013; (2): 38-45 (in Russ.)].
12. *Куренной Н.В.* Мочеполовое венозное сплетение и его клиническое значение // Вопросы урологии. Киев. – 1964. – Вып. 1. – С. 18-25. [*Kurennoy N.V.* Urinary venous plexus and its clinical significance. *Voprosy urologii.* Kiev. 1964; (1): 18-25 (in Russ.)].
13. *Лидский А.Т.* Хирургические подступы к предстательной железе при гипертрофии ее. Астрахань, 1923. – 118 с. [*Lidskiy A.T.* Surgical approaches to the prostate gland with hypertrophy of it. *Astrakhan;* 1923: 118 (in Russ.)].
14. *Пивоваров П.И., Гурский Б.Ф., Максимов В.Д., Горовой В.И.* Методика гемостаза при внепузырной позадилобковой аденомэктомии // Урология и нефрология. – 1991. – № 2. – С. 37-41. [*Pivovarov P.I., Gurskiy B.F., Maksimov V.D., Gorovoy V.I.* The method of hemostasis with extravesicular after-graft adenomectomy. *Urologiya i nefrologiya.* 1991; (2): 37-41 (in Russ.)].
15. *Привес М.Г.* Внутриорганные артерии предстательной железы // Вестн. венерологии и дерматологии. – 1953. – № 2. – С. 48-49. [*Prives M.G.* Intraorganic arteries of the prostate. *Vestnik venerologii i dermatologii.* 1953; (2): 48-49 (in Russ.)].
16. *Сергиенко Н.Ф., Васильченко М.И., Щекочихин А.В., Кудряшов О.И., Шершнев С.П., Рейнюк О.Л., Лотоцкий М.М., Бегаев А.И.* Экстрауретральная аденомэктомия. – М. : Патриот, 2010. – С. 222-236. [*Sergiyenko N.F., Vasil'chenko M.I., Shchekochikhin A.V., Kudryashov O.I., Shershnev S.P., Reynyuk O.L., Lototskiy M.M., Begayev A.I.* Extra-urethral adenomectomy. M. : Patriot; 2010: 222-236 (in Russ.)].
17. *Тюзииков И.А., Греков Е.А., Калинин С.Ю.* Особенности клинического течения и морфометрических параметров доброкачественной гиперплазии предстательной железы у мужчин с метаболическим синдромом и андрогенным дефицитом // Урология. – 2015. – № 5. – С. 66-69. [*Tyuzikov I.A., Grekov E.A., Kalinchenko S.Yu.* Особенности клинического течения и морфометрических параметров доброкачественной гиперплазии предстательной железы у мужчин с метаболическим синдромом и андрогенным дефицитом // Урология. – 2015. – № 5. – С. 66-69. (in Russ.)].

- Grekov E.A., Kalinchenko S.Yu. Features of clinical course and morphometric parameters of benign prostatic hyperplasia in men with metabolic syndrome and androgen deficiency. *Urologiya*. 2015; (5): 66-69 (in Russ.)).
18. Шевкуненко В.Н., Максименков А.Н. Крайние типы изменчивости венозной системы и их генез // Новый хирург. арх. – 1936. – Т. 36., кн. 141-144. – С. 380-385. [Shevkunenko V.N., Maksimenkov A.N. The extreme types of variability of the venous system and their genesis. *Novyy khirurgicheskiy arkhiv*. 1936; 36 (141-144): 380-385 (in Russ.)].
19. Aaron L., Franco O.E., Hayward S.W. Review of Prostate Anatomy and Embryology and the Etiology of Benign Prostatic Hyperplasia // *Urol Clin North Am*. – 2016. – Vol. 43, N 3. – P. 279-88. – DOI: 10.1016/j.ucl.2016.04.012
20. Amen-Palma J.A., Arteaga R.B. Hemostatic technique: extracapsular prostatic adenectomy // *J. Urol*. – 2001. – Vol. 166, N 4. – P. 1364-1367.
21. Banapour P., Patel N., Kane C.J., Cohen S.A., Parsons J.K. Robotic-assisted simple prostatectomy: a systematic review and report of a single institution case series // *Prostate Cancer Prostatic Dis*. – 2014. – Vol. 17, N 1. – P. 1-5. – DOI: 10.1038/pcan.2013.52.
22. Bernie J.E., Schmidt J.D. Simple perineal prostatectomy: lessons learned from a modern series // *J. Urol*. – 2003. – Vol. 170, N 1. – P. 115-118. – DOI: 10.1097/01.ju.0000071681.03755.b3
23. Berry S.J., Coffey D.S., Weish P.S. // *J. Urol*. 1998. – Vol. 132, N 3. – P. 474-479.
24. Christidis D., McGrath S., Perera M., Manning T., Bolton D., Lawrentschuk N. Minimally invasive surgical therapies for benign prostatic hypertrophy: The rise in minimally invasive surgical therapies // *Prostate Int*. – 2017. – Vol. 5, N 2. – P. 41-46. – DOI: 10.1016/j.pnil.2017.01.007.
25. Dall'Oglio M.F., Srougi M., Antunes A.A., Crippa A., Cury J. An improved technique for controlling bleeding during simple retropubic prostatectomy: a randomized controlled study // *BJU Int*. – 2006. – Vol. 98, N 2. – P. 384-387. – DOI: 10.1111/j.1464-410X.2006.06236.x
26. Egan K.B. The epidemiology of benign prostatic hyperplasia associated with lower urinary tract symptoms: prevalence and incident rates // *Urol Clin North Am*. – 2016. – Vol. 43, N 3. – P. 289-297. – DOI: 10.1016/j.ucl.2016.04.001.
27. Filiadis I., Adamopoulos V., Konstandinidis E. Modification of retropubic adenectomy: improved hemostasis and outcome // *Int. Urol. Nephrol*. – 2007. – Vol. 43, N 3. – P. 289-297. – DOI: 10.1016/j.ucl.2016.04.001.
28. Freyer P.J. A clinical lecture on total extirpation of the prostate for radical cure of enlargement of that organ: with four successful cases: delivered at the Medical Graduates' College. London, June 26 th // *Br. Med. J*. – 1901. – Vol. 2, N 2116. – P. 125-129.
29. Gregoir W. Haemostatic prostatic adenectomy. // *Eur. Urol*. – 1978. – Vol. 4, N 1. – P. 1-8.
30. Kozlowski J.M., Smith N.D., Grayhack J.T. Suprapubic transvesical prostatectomy and simple perineal prostatectomy for the treatment of benign prostatic hyperplasia // *Management of benign prostatic hypertrophy* / edited by K.T. McVary. – Totowa, New Jersey: Humana Press, 2004. – P. 221-226.
31. Mearini E., Marzi M., Mearini L., Zucchi A., Porena M. Open prostatectomy in benign prostatic hyperplasia: 10-year experience in Italy // *European urology*. – 2000. – Vol. 34, N 6. – P. 480-485.
32. Millin T. Retropubic prostatectomy; a new extravascular technique; report of 20 cases // *Lancet*. – 1945. – Vol. 2, N 6380. – P. 693-696.
33. Moosavi B., Flood T.A., Al-Dandan O., Breau R.H., Cagiannos I., Morash C., Malone S.C., Schieda N. Multiparametric MRI of the anterior prostate gland: clinical-radiological-histopathological correlation // *Clin Radiol*. – 2016. – Vol. 71, N 5. – P. 405-417. – DOI: 10.1016/j.crad.2016.01.002.
34. Nair S.M., Pimentel M.A., Gilling P.J. Evolving and investigational therapies for benign prostatic hyperplasia // *Can J Urol*. – 2015. – Vol. 22, Suppl 1. – P. 82-87.
35. Nesrallah L., Srougi M., Henrique A. Técnica hemostática de Gregoir-Walsh en prostatectomía retropública: experiencia preliminar // *J. Bras. Urol*. – 1993. – Vol. 19, N 1. – P. 141-144.
36. Nickel J.C., Gilling P., Tammela T.L., Morrill B., Wilson T.H. Comparison of dutasteride and finasteride for treating benign prostatic hyperplasia: the Enlarged Prostate International Comparator Study (EPICS) // *BJU Int*. – 2011. – Vol. 108, N 3. – P. 388-394. – DOI: 10.1111/j.1464-410X.2011.10195.x.
37. Nickel J.C., Méndez-Probst C.E., Whelan T.F., Paterson R.F., Razvi H. 2010 Update: Guidelines for the management of benign prostatic hyperplasia. // *Can. Urol. Assoc J*. – 2010. – Vol. 4, N 5. – P. 310-316.
38. Novara G., Galfano A., Gardi M., Ficarra V., Boccon-Gibod L., Artibani W. Critical review of guidelines for BPH diagnosis and treatment strategy // *Eur. Urol*. – 2006. – Suppl 5. – P. 418-429. – DOI: 10.1016/j.eursup.2006.02.005
39. Srougi M., Dall'oglio M.F., Bomfim A.C. Andreoni C., Cury J., Ortiz V. An improved technique for controlling bleeding during simple retropubic prostatectomy // *BJU Int*. – 2003. – Vol. 92, N 7 – P. 813-817.
40. Vuichoud C., Loughlin K.R. Benign prostatic hyperplasia: epidemiology, economics and evaluation // *Can J Urol*. – 2015 – Vol. 22, Suppl 1. – P. 1-6.
41. Walsh P.C., Oesterling J.E. Improved hemostasis during simple retropubic prostatectomy // *J. Urol*. – 1990. – Vol. 143, N 6. – P. 1203-1204.

ФОРМИРОВАНИЕ НАВЫКОВ САМООБСЛУЖИВАНИЯ В ПРОГРАММЕ ВОССТАНОВИТЕЛЬНОГО ОБУЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ МОЛОДОГО ВОЗРАСТА С ОСТРЫМИ НАРУШЕНИЯМИ МОЗГОВОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ

© Никишина В.Б.¹, Петраш Е.А.¹, Шутеева Т.В.¹, Стороженко М.В.², Савостиков В.А.¹

¹ Курский государственный медицинский университет, Курск;

² Курский областной санаторий «Соловьиные зори», Курск

E-mail: petrash@mail.ru

В статье представлены результаты исследования по формированию навыков самообслуживания в программе восстановительного обучения постинсультных пациентов молодого возраста. Сравнительный анализ функций праксиса у постинсультных пациентов молодого возраста до и после восстановительного обучения позволил выявить значимое повышение темпа и точности кинетического, кинестетического и пространственно-динамического праксиса; повышение дифференцированности и координированности серийной организации движений и действий. У постинсультных пациентов молодого возраста с поражением не ведущего (правого) полушария головного мозга отмечается более интенсивная динамика как по восстановлению функций праксиса (оцениваемых по критериям темпа, точности, дифференцированности и координированности), так и по формированию мелкомоторных навыков самообслуживания в сравнении с пациентами с локализацией очага поражения в ведущем (левом) полушарии. Интенсивность восстановления функции с последующим формированием навыка обусловлена включенностью не ведущего полушария и взаимосвязана с повышением точности и темпа моторных функций.

Ключевые слова: навыки самообслуживания, восстановительное обучение, пациенты молодого возраста с острыми нарушениями мозгового кровообращения.

FORMATION OF SELF-SERVICE SKILLS IN THE PROGRAM OF RETROACTIVE TRAINING OF YOUNG PATIENTS WITH ACUTE DISORDERS OF CEREBRAL CIRCULATION

Nikishina V.B.¹, Petrash E.A.¹, Shuteeva T.V.¹, Storozhenko M.V.², Savostikov V.A.¹

¹ Kursk State Medical University, Kursk;

² Kursk Regional Sanatorium "Solov'inye Zori" ("Nightingale Dawns"), Kursk

The article presents the results of investigating the self-service skills formation in the program of restorative education for young post-stroke patients. Comparative analysis of the praxis functions in post-stroke young patients before and after rehabilitation training made it possible to reveal a significant increase in the rate and accuracy of the kinetic, kinesthetic, and spatio-temporal praxis; increasing the differentiation and coordination of the seriated organization of movements and actions. In post-stroke young patients with a lesion of the non-leading (right) cerebral hemisphere, a more intensive dynamics is observed both in restoring the praxis functions (estimated according to the criteria of pace, accuracy, differentiation and coordination), and in developing small self-service skills in comparison with patients with the lesion in the dominant (left) hemisphere. The intensity of functional restoration with the subsequent formation of the skill is due to the involvement of the non-leading hemisphere and is interrelated with an increase in the accuracy and pace of motor functions.

Keywords: self-service skills, rehabilitation education, young patients with acute disorders of cerebral circulation.

Согласно данным статистико-демографических отчетов Минздрава РФ, количество смертельных исходов за последние 5 лет (2012–2017 г.г.) от цереброваскулярных болезней сокращается [3]. Тогда как по распространенности заболеваемости инфарктом мозга отмечается тенденция положительной ее динамики. То есть количество пациентов, попадающих в зону активной реабилитации, с данной нозологией, очевидно, растет. В ряде исследовательских и статистических обзоров также отмечается существенное снижение возрастных границ возникновения острых нарушений мозгового кровообращения (ОНМК) до 35–40 лет [7]. Молодым возрастом для возникновения ОНМК является хронологический возраст до 45 лет. В связи с этим актуальной является необходимость реабилитации и восстано-

вительного обучения постинсультных пациентов молодого возраста, перенесших ОНМК. Существенная часть функциональных нарушений при данной нозологии связана с моторно-двигательной сферой (как мелкомоторной, так и грубомоторной) на всех уровнях ее организации: рефлексорном, локомоторном, произвольном, автоматизированном.

В настоящее время программы реабилитации и восстановительного обучения ориентированы преимущественно на восстановление грубомоторных функций (ходьба, поддержание позы тела и др.) и локомоций верхних конечностей [9, 10]. Восстановительному обучению, направленному на поддержание мелкомоторных действий, не уделяется достаточно внимания. Именно произвольные мелкомоторные действия составляют

основу для формирования автоматизированных действий [1], которые складываются в навыки самообслуживания постинсультных пациентов.

Методологическое построение программы восстановительного обучения постинсультных пациентов молодого возраста осуществлялось на принципах нейроэволюционной теории Дж. Эдельмана: нейроны в головном мозге когнитивно или поведенчески специализированы; «используй или потеряешь» (функционирующие нейроны борются за место связывания; механизм конкуренции лежит в основе формирования функций); «работающие вместе, связываются вместе» (направление связывания нейронов от сенсорной и моторной коры к ассоциативной; депривация нейронов как их нефункционирование приводит к необратимым последствиям на уровне сенсорной и моторной коры) [8].

Моторно-двигательные функции имеют иерархическую структуру, включающую рефлекторный, локомоторный, произвольный и автоматизированный уровни организации движений. Морфофункциональная организация движений на рефлекторном уровне обеспечивается активностью спинного мозга и стволовых отделов головного мозга; на локомоторном уровне включает в себя субталамус, спинной мозг, красное ядро среднего мозга, ретикулярные ядра моста, вестибулярные ядра продолговатого мозга и моста, мозжечок и базальные ганглии. На произвольном уровне морфофункциональная организация движений обеспечивается прецентральной извилиной лобной коры головного мозга, моторной корой (4,6 поля по Бродману), корой поясной извилины и ассоциативной лобной корой; автоматизированный уровень движений обеспечивается базальными ганглиями, мозжечком и ассоциативной лобной корой. Представленные уровни организации движений реализуются в трех функциональных блоках мозга (по А.Р. Лурия): энергетическом блоке, блоке приема, переработки и хранения информации и блоке программирования, регуляции и контроля деятельности [4]. Нарушения рефлекторного уровня организации движений функционально соответствуют первому блоку мозга – энергетическому; проявления локомоторных нарушений соответствуют второму функциональному блоку мозга; нарушения произвольных и автоматизированных движений функционально соответствуют третьему блоку мозга [5, 6, 11].

Целью исследования является изучение эффективности формирования навыков мелкомоторного самообслуживания в программе восстановительного обучения пациентов молодого возраста с острыми нарушениями мозгового кровообращения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Общий объем исследовательской выборки составил 19 человек (11 мужчин и 8 женщин) в возрасте 27-44 года ($32,48 \pm 4,29$ года), впервые перенесших острое нарушение мозгового кровообращения. Все пациенты были госпитализированы в течение первых суток после перенесенного инфаркта мозга. Исследование проводилось в раннем восстановительном периоде; все пациенты находились на реабилитации в неврологическом отделении санатория. Основанием включения испытуемых в исследовательские группы являлись: полушарная локализация очага ишемического инсульта в теменно-височной области коры головного мозга; левополушарный профиль латерализации (по результатам оценки профиля латерализации с использованием «Методики автоматизированного исследования индивидуального латерального профиля» (студия ВиЭль) все пациенты являлись праворукими). В первую группу испытуемых вошли 8 человек с локализацией очага поражения в левом (ведущем) полушарии головного мозга; вторую группу составили 11 пациентов молодого возраста, перенесших ишемический инсульт, с правополушарной локализацией очага поражения (в не ведущем полушарии). У 5 пациентов был диагностирован кардиоэмболический ишемический инсульт, у 5 – атеротромботический, криптогенный ишемический инсульт без признаков системной гиперкоагуляции был диагностирован у 7 пациентов, с признаками коагулопатии неуточненного генеза – у 2.

Для подтверждения локализации очага и характера инсульта использовались методы нейровизуализации: компьютерная томография (КТ) и(или) магнито-резонансная томография (МРТ). В неврологическом статусе были выявлены гемипарезы умеренной степени выраженности той или иной латерализации, центральные парезы 7 и 12 пар черепно-мозговых нервов, расстройства различных видов чувствительности (по гемитипу). По результатам когнитивного тестирования в данной группе пациентов с использованием шкалы MMSE были выявлены легкие когнитивные расстройства, одновременно проявляющиеся в нескольких когнитивных сферах.

Организация основного исследования осуществлялась последовательно в два этапа: диагностический этап и этап восстановительного обучения. Задачи и методы диагностического этапа представлены в таблице 1.

Таблица 1

Задачи и методы диагностического этапа исследования

Задача	Метод
Оценка гностических функций (пространственного и символического гнозиса)	Функциональные нейропсихологические пробы: «Слепые часы»; «Бочка и ящик»; проба на узнавание символических изображений (цифр и букв).
Оценка моторных функций по уровням:	
- рефлекторный уровень;	Оценка карпорадиального рефлекса верхних конечностей; сухожильных рефлексов с двуглавой и трехглавой мышц верхних конечностей.
- локомоторный уровень;	Оценка поддержания позы тела (сидя); ориентация собственного тела во внешнем пространстве (верх-низ, право-лево).
- произвольный уровень;	Функциональные нейропсихологические пробы, направленные на оценку кинетического, кинестетического, пространственно-динамического праксиса.
- автоматизированный уровень.	Выполнение функциональных символических действий, соответствующих навыкам самообслуживания: навыки организации собственного питания (самостоятельная еда ложкой); навыки одевания/раздевания (застегивание/расстегивание молнии); навыки безопасности (самостоятельный набор телефонного номера).

Оценка результатов выполнения функциональных нейропсихологических проб, направленных на исследование функций праксиса и автоматизированных действий (по критериям темпа, точности, координированности), а также пространственного и символического гнозиса, осуществлялась по 4-балльной шкале (Вассерман Л.И., 1997): 0 баллов – отсутствие ошибок или «неспецифические» ошибки для той или иной пробы, свойственные и здоровым испытуемым; 1 балл – слабовыраженные нарушения, отмечается ряд мелких погрешностей, исправляемых самостоятельно (нижняя нормативная граница); 2 балла – нарушения высших психических функций средней степени тяжести (испытуемый в состоянии выполнить задание после нескольких попыток, развернутых подсказок и наводящих вопросов); 3 балла – грубые расстройства высших психических функций (задание недоступно для выполнения даже после подробного многократного разъяснения со стороны экспериментатора) [2].

Программа восстановительного обучения постинсультных пациентов включала в себя три этапа, которые формировались в соответствии с уровнями организации движений: локомоторный уровень, уровень произвольной регуляции, уровень автоматизированных движений.

На локомоторном уровне все движения осуществлялись сначала с помощью, затем по зрительному образцу, потом самостоятельно в следующей последовательности: 1) ритмическое сгибание/разгибание лучезапястного и локтевого суставов с увеличением ритма (грубомоторные движения); 2) движения руками с имитацией шага в нескольких вариантах (левая нога – левая рука; правая нога – правая рука; левая нога – правая рука; правая нога – левая рука); 3) ритмическое сгибание/разгибание пальцев рук (отдельно левой рукой, правой рукой, двумя руками одновременно). На произвольном уровне выполнялась следующая последовательность задач восстановительного обучения: 1) серийная организация движений со зрительно-сенсорным контролем; со слухо-сенсорным контролем; 2) дивергенция

символического навыка самообслуживания (разложить действие на отдельные двигательные акты вербально; разложить действие на отдельные символические движения; разложить действие на отдельные моторные акты); 3) воспроизведение символического действия в обратном порядке; 4) конвергенция символических действий по перемещению объекта в горизонтальной плоскости (вертикально, горизонтально, по диагонали); 5) конвергенция символических действий по перемещению объекта в трехмерном пространстве. На уровне автоматизации последовательность задач восстановительного обучения имела следующий вид: 1) автоматизация кинетического, кинестетического, пространственно-динамического компонентов серийной организации движений; 2) автоматизация серии мелкомоторных движений, составляющих навыки самообслуживания (самостоятельная еда ложкой; застегивание/расстегивание молнии; самостоятельный набор телефонного номера).

Каждое занятие программы восстановительного обучения предполагает последовательную активацию локомоторного, произвольного и уровня автоматизации движений. Алгоритм построения занятия по восстановительному обучению включает в себя выполнение обучающих заданий в определенной последовательности и с учетом изменения доли временного интервала, отведенного для активации каждого уровня организации движения (локомоторного, произвольного, автоматизированного) в общей продолжительности занятия. Хронологическая длительность восстановительного обучения по формированию автоматизированных мелкомоторных движений (навыков самообслуживания) постинсультных пациентов составила 20 дней с ежедневной периодичностью занятий (по два занятия в день – в первой и второй половине дня). Продолжительность занятий в процессе восстановительного обучения варьировалась – от 15 до 35 минут, постепенно увеличиваясь к окончанию курса восстановительного обучения.

Статистическая обработка полученных результатов осуществлялась с использованием методов описательной (показатели средних значений, среднее квадратическое отклонение) и сравнительной статистики (непараметрического критерия χ^2 – Фридмана, $p < 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате оценки исходного уровня гностических функций у постинсультных пациентов молодого возраста (до восстановительного обучения) вне зависимости от полушарной локализа-

ции очага ишемического инсульта выявлено нарушение символического и пространственного гнозиса. Нарушение пространственного гнозиса проявляется в снижении точности право-левой ориентировки во внешнем пространстве при сохранности ориентировки в квазипространстве (в собственном теле). Нарушение символического гнозиса (узнавание цифровых и буквенных обозначений) проявляется в том, что пациенты не фиксируют ошибки пространственного расположения букв и цифр.

В результате предварительной оценки моторных функций у постинсультных пациентов молодого возраста до восстановительного обучения на рефлекторном уровне все пациенты характеризуются отсутствием спинальных нарушений. На локомоторном уровне вне зависимости от полушарной локализации очага поражения у всех групп пациентов выявлено снижение точности право-левой ориентировки во внешнем пространстве при сохранности ориентации в собственном теле и удержании позы тела в течение 30-35 минут. На произвольном уровне выявлено снижение темпа и точности кинетического, кинестетического, пространственно-динамического праксиса. Нарушения произвольных движений и действий проявляются в затруднениях воспроизведения поз пальцев кистей рук как по зрительному, так и по кинестетическому образцу. Постинсультные пациенты молодого возраста с локализацией очага поражения в ведущем (левом) полушарии при воспроизведении необходимого положения на руке, контрлатеральной очагу поражения, помогают себе второй рукой. Пациенты с локализацией очага поражения в не ведущем полушарии (правом) находят нужную позу методом подбора. Проявлением нарушения пространственно-динамического праксиса являются ошибки в право-левой ориентировке, а также снижение реципрокной координации движений. У постинсультных пациентов молодого возраста отмечаются два типа проявлений снижения реципрокной координации движений: синхронное выполнение действий правой и левой рукой; отставание темпа действий руки, контрлатеральной очагу поражения. При выполнении заданной последовательности действий («кулак-ребро-ладонь»), выявлено нарушение выполнения моторной программы, что проявляется в ее упрощении (пропуск одного из звеньев программы); либо персевераторном повторении одного и того же элемента такое количество раз, сколько звеньев содержит исходный образец моторной программы; либо внесении дополнительных элементов программы.

При оценке автоматизированного уровня организации движений у постинсультных пациентов молодого возраста вне зависимости от полу-

шарной локализации очага поражения до восстановительного обучения выявлена невозможность выполнения символических действий, соответствующих навыкам самообслуживания (самостоятельная еда, застегивание/расстегивание молнии, набор телефонного номера), что обусловлено невозможностью самостоятельного формирования и фиксации моторной программы. Выполнение отдельных символических движений и действий, составляющих мелкомоторные навыки самообслуживания, постинсультным пациентам вне зависимости от полушарной локализации очага поражения является доступным.

После завершения курса восстановительного обучения постинсультных пациентов молодого возраста была проведена повторная оценка моторных функций в соответствии с выделенными уровнями организации движений (локомоторным, произвольным, автоматизированным) по группам испытуемых. В результате была выявлена положительная динамика по всем исследуемым показателям (таблица 2).

В результате исследования достоверно установлено, что у пациентов молодого возраста, перенесших ОНМК (ишемический инсульт), в уровне организации движений преобладающим является уровень произвольных движений и действий при равнозначной представленности рефлекторного и автоматизированного уровней, в то время как в норме движения,

соответствующие произвольному и автоматизированному уровням, совокупно составляют 2/3 от общего объема движений.

Сравнительный анализ функций праксиса у постинсультных пациентов молодого возраста позволил выявить значимое повышение темпа и точности кинетического, кинестетического и пространственно-динамического праксиса. Выявлено значимое повышение дифференцированности и координированности серийной организации движений и действий. Учитывая обратный характер оценочной шкалы, снижение количественного показателя свидетельствует о значимой положительной динамике (рис. 1).

Таким образом, в результате исследования у постинсультных пациентов молодого возраста с поражением не ведущего (правого) полушария головного отмечается более интенсивная динамика как по восстановлению функций праксиса (оцениваемых по критериям темпа, точности, дифференцированности и координированности), так и по формированию мелкомоторных навыков самообслуживания в сравнении с пациентами с локализацией очага поражения в ведущем (левом) полушарии. Интенсивность восстановления функции с последующим формированием навыка обусловлена включенностью не ведущего полушария и взаимосвязана с повышением точности и темпа моторных функций.

Таблица 2

Показатели значимости различий показателей двигательных функций у постинсультных пациентов молодого возраста до и после восстановительного обучения (χ^2 Фридмана, $p < 0,05$)

Показатели		Поражение ведущего (левого) полушария	Поражение не ведущего (правого) полушария
Произвольный уровень движений	Кинетический праксис	0,029*	0,034*
	Кинестетический праксис	0,038*	0,018*
	Пространственно-динамический праксис	0,019*	0,029*
Автоматизированный уровень движений	Навык самостоятельного приема пищи	0,007*	0,051*
	Навык самостоятельного застегивания/расстегивания молнии	0,012*	0,044*
	Навык самостоятельного набора телефонного номера	0,034	0,026*

Примечание: * – статистическая значимость различий показателей двигательных функций до и после восстановительного обучения у пациентов с поражением ведущего (не ведущего) полушария.

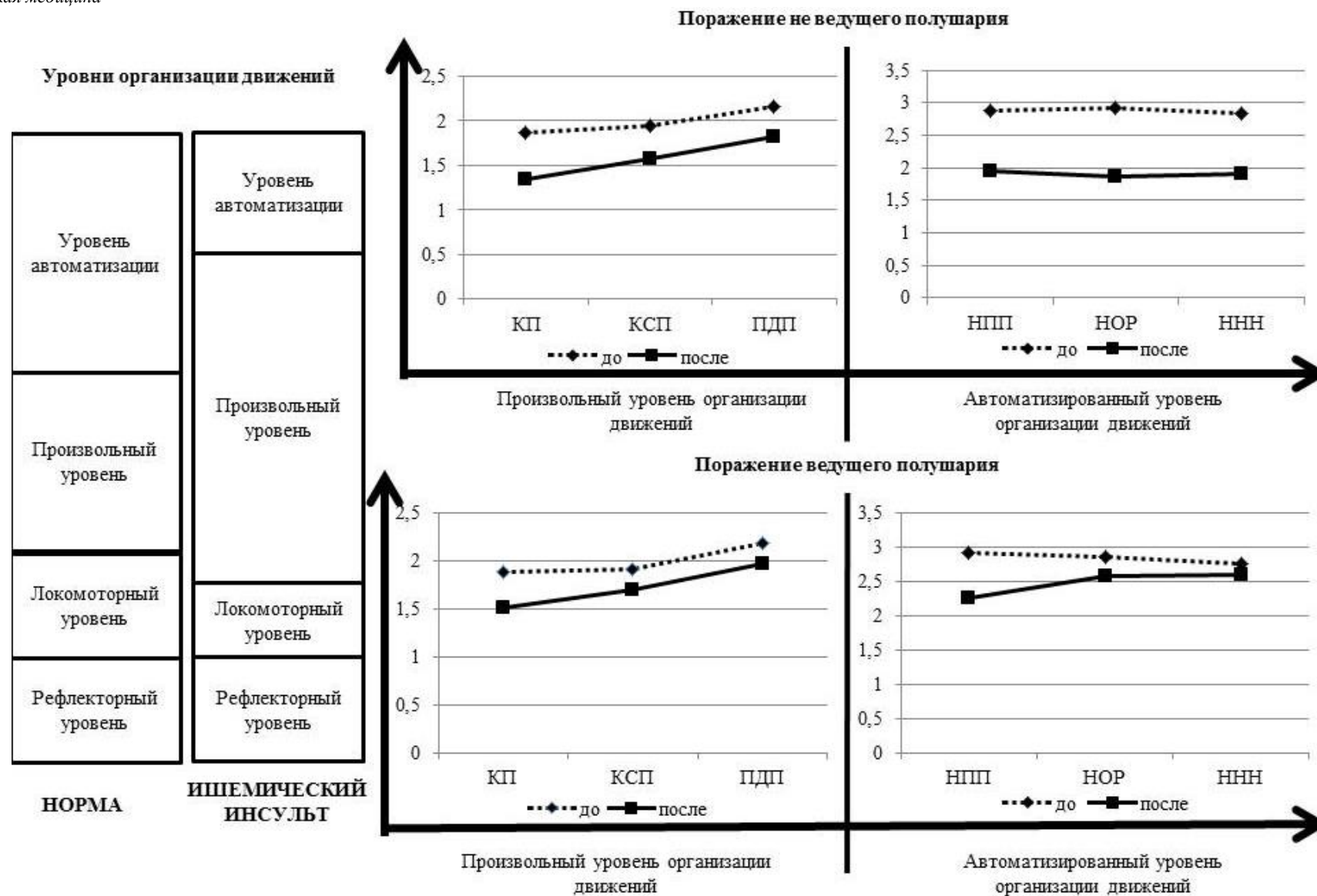


Рис. 1. Показатели динамики формирования навыков самообслуживания постинсультных пациентов молодого возраста с учетом полушарной локализации очага поражения.

Условные обозначения: КП – кинетический праксис, КСП – кинестетический праксис; ПДП – пространственно-динамический праксис; НПП – навык самостоятельного приема пищи; НОР – навык самостоятельного одевания/раздевания; ННН – навык самостоятельного набора телефонного номера.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Александров Ю.И. Психофизиологические закономерности научения и методы обучения // Психологический журнал. – 2012. – Т. 33, № 6. – С. 5-19. [Alexandrov Yu.I. Psychophysiological regularities of learning and methods of training. *Psikhologicheskii zhurnal*. 2012; 1(6): 5-19 (in Russ.)].
2. Вассерман Л.И., Дорофеева С.А., Меерсон Я.А. Методы нейропсихологической диагностики: Практическое руководство. – СПб.: Стройлеспечатъ, 1997. – 400 с. [Vasserman L.I., Dorofeeva S.A., Meerson Ya.A. Neuropsychological diagnostic methods: a practical guide. SPb.: Stroylespechat'; 1997: 400 (in Russ.)].
3. Демографический ежегодник России. 2017: Стат. сб. – М.: Росстат, 2017. – 263 с. [Demographic Yearbook of Russia. 2017. M.: Rosstat; 2017: 263 (in Russ.)].
4. Лурия А.Р. Высшие корковые функции человека. – СПб.: Питер, 2008. – 624 с. [Luriya A.R. Higher cortical functions of man. SPb.: Piter; 2008: 624 (in Russ.)].
5. Никитина В.Б., Петраш Е.А., Запесоцкая И.В. Восприятие эмоций у больных с ишемическим инсультом // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2015. – Т. 115, № 10-1. – С. 4-9. [Nikishina V.B., Petrash E.A., Zapesotskaya I.V. Perception of emotions in patients with ischemic stroke. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii im. S.S. Korsakova*. 2015; 115(10-1): 4-9 (in Russ.)].
6. Никитина В.Б., Петраш Е.А. Реципрокная организация конструктивной деятельности у пациентов с ишемическим инсультом // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2017. – Т. 117. – № 3-2. – С. 79-89. [Nikishina V.B., Petrash E.A. Reciprocal organization of constructive activity in patients with ischemic stroke. *Zhurnal nevrologii i psikiatrii im. S.S. Korsakova*. 2017; 117(3-2): 79-89 (in Russ.)].
7. Ревезук Е.А., Карпов С.М. Распространенность ОНМК среди лиц молодого возраста // Успехи современного естествознания. – 2012. – № 5. – С. 61-62; URL: <http://natural-sciences.ru/ru/article/view?id=30084> (дата обращения: 11.04.2018). [Reveguk E.A., Karpov S.M. The prevalence of stroke among young adults. *Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya*. 2012; (5): 61-2; URL: <http://natural-sciences.ru/ru/article/view?id=30084> (in Russ.)].
8. Edelman G. Second Nature: Brain Science and Human Knowledge. – Yale: Yale University Press, 2006. – 203 p.
9. Hawkins K.A., Fox E.J., Daly J.J., Rose D.K., Christou E.A., McGuirk T.E., Otzel D.M., Butera K.A., Chatterjee S.A., Clark D.J. Prefrontal over-activation during walking in people with mobility deficits: Interpretation and functional implications // *Hum Mov Sci.* – 2018. – Vol. 59. – P. 46-55. – DOI: 10.1016/j.humov.2018.03.010.
10. Israely S., Leisman G., Machluf C.C., Carmeli E. Muscle Synergies Control during Hand-Reaching Tasks in Multiple Directions Post stroke // *Front Comput Neurosci.* – 2018. – Vol. 12. – P. 10. – DOI: 10.3389/fncom.2018.00010
11. Nikishina V.B., Petrash E.A., Bushueva O.Y., Zapesotskaya I.V. Analysis of measures of functional asymmetry of the brain in patients with ischemic stroke: a neuropsychological study // *Neuroscience and Behavioral Physiology.* – 2016. – Vol. 46, N 4. – P. 408-412.

ПРОФИЛАКТИКА РАННИХ ПОСЛЕОПЕРАЦИОННЫХ ТРОМБОЗОВ ПОРТОКАВАЛЬНЫХ ШУНТОВ У ПАЦИЕНТОВ С ЦИРРОЗОМ ПЕЧЕНИ

© *Онницев И.Е., Дзидзава И.И., Котив Б.Н., Ивануса С.Я., Зубарев П.Н., Алентьев С.А., Парфенов А.О.*

Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург

E-mail: ionnicev@mail.ru

На основании анализа результатов лечения больных с циррозом печени, которым выполнялись портокавальные анастомозы с 2003-го по 2017 год, разработан лечебно-диагностический алгоритм профилактики ранних послеоперационных тромбозов портокавальных шунтов с применением сочетания фармакологических и механических методов профилактики. Совершенствование техники операций, антикоагулянтная профилактика, начатая в предоперационном периоде и продолженная после портокавального шунтирования, позволяет избежать тромботических осложнений у больных. Динамический контроль проходимости портокавального анастомоза позволяет в ранние сроки выявить признаки нарушения проходимости шунта и принять меры к его реканализации. Ежедневный контроль и оценка изменений гемостазиологических показателей позволяет выявлять выраженность тромбинемии и проводить контроль за антикоагулянтной терапией.

Ключевые слова: цирроз печени, портальная гипертензия, портокавальный анастомоз, тромбоз портокавального анастомоза.

PREVENTION OF EARLY POSTOPERATIVE THROMBOSIS OF PORTOCAVAL SHUNTS IN PATIENTS WITH HEPATIC CIRRHOSIS

Onnitsev I.E., Dzidzava I.I., Kotiv B.N., Ivanusa S.Ya., Zubarev P.N., Alentiev S.A., Parfenov A.O.

S.M. Kirov Military Medical Academy, Saint-Petersburg

On analyzing the results of managing patients with hepatic cirrhosis, who underwent portocaval anastomoses from 2003 to 2017, a therapeutic and diagnostic algorithm for preventing early postoperative thrombosis of decompressive venous anastomoses was developed by using a combination of pharmacological and mechanical preventive methods. Improving the technique of surgeries, anticoagulant prevention, which began in the preoperative period and continued after portocaval bypass surgery, avoids thrombotic complications in patients. Dynamic control of the patency of portocaval anastomosis allows to detect early signs of the impaired shunt patency and to take measures for its recanalization. Daily monitoring and evaluation of changes in hemostasiological parameters allows you to identify the severity of thrombinemia and monitor anticoagulant therapy.

Keywords: liver cirrhosis, portal hypertension, portocaval anastomosis, portocaval anastomosis thrombosis.

Несмотря на широкое внедрение в клиническую практику современных эндоскопических, рентгенэндоваскулярных вмешательств, а также большого накопленного опыта лечения больных с различными вариантами синдрома портальной гипертензии, наиболее радикальным методом лечения остается портокавальное шунтирование. Поэтому поиск эффективных путей профилактики послеоперационных осложнений у данной категории тяжелых больных продолжает оставаться актуальным [1, 2, 5].

Развитие тромбоза или стеноза портокавального шунта относится к числу осложнений, при котором во многих случаях повышается портальное давление и возникает рецидив пищеводно-желудочного кровотечения. Предупреждение возникновения тромбоза является важным условием благоприятного течения послеоперационного периода [2, 7, 8, 9]. Особенностью внедрения эффективной профилактики тромбозомболических осложнений у больных циррозом печени является относительно высокий риск тяжелых геморрагических осложнений (прежде всего кровотечения из варикозных вен пищевода) после наложения декомпрессивных венных анастомозов. Фармакологические методы достаточно эффективны и относительно дешевы, но связаны с риском послеоперационных геморрагических осложнений [3, 4, 6].

Сложность в выборе препарата и его дозировки для профилактики ранних послеоперационных тромбозов (и тромбозомболий) обусловлена дисбалансом в системе гемостаза у больных циррозом печени на фоне различных проявлений печеночной недостаточности. Исследования, направленные на определение эффективных и безопасных доз низкомолекулярных гепаринов (НМГ) для профилактики тромбозов после хирургической коррекции портальной гипертензии, являются на сегодняшний день актуальными.

Сложность в выборе препарата и его дозировки для профилактики ранних послеоперационных тромбозов (и тромбозомболий) обусловлена дисбалансом в системе гемостаза у больных циррозом печени на фоне различных проявлений печеночной недостаточности. Исследования, направленные на определение эффективных и безопасных доз низкомолекулярных гепаринов (НМГ) для профилактики тромбозов после хирургической коррекции портальной гипертензии, являются на сегодняшний день актуальными.

Цель настоящей работы: разработать комбинированный метод профилактики послеоперационных тромбозомболических осложнений на основе сочетания механических и фармакологических

Таблица 1

Перечень выполненных хирургических вмешательств

Название вмешательства	Число операций, n
Дистальный спленоренальный анастомоз	47
Мезентерикокавальный Н-анастомоз с аутовенозной вставкой	22
Чрезъяремный внутривеночный портосистемный шунт (TIPS)	6
ВСЕГО	75

методов профилактики у больных циррозом печени.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Нами проведен анализ результатов профилактики венозных тромбозомических осложнений у 75 пациентов, которым выполнены портокавальные анастомозы с 2003-го по 2017 год.

В качестве селективной декомпрессии порտальной системы использовали дистальный спленоренальный анастомоз (ДСРА) (n=47). Основным показанием к выполнению ДСРА считали рецидивирующие кровотечения из варикозно расширенных вен пищевода и желудка при неэффективности эндоскопического лигирования вен пищевода. Противопоказанием к данному оперативному вмешательству были тромбоз селезеночной вены, резистентный асцит, клинические признаки печеночной энцефалопатии.

Средний возраст пациентов составил $49,6 \pm 11,4$ года. С учетом критериев степени печеночной дисфункции Child-Turcotte-Pugh пациенты распределились следующим образом: компенсированный цирроз (класс А) – 23 наблюдения, субкомпенсированный (класс В) – 41, декомпенсированный (класс С) – 11 больных.

В 59 (78,6%) случаях показанием к выполнению портокавального шунтирования в плановом порядке были пищеводно-желудочные кровотечения в анамнезе после эндоскопической эрадикации варикозных вен. Ряд пациентов (37,3%) указывали на неоднократные геморрагии.

В 16 (21,4%) наблюдениях портокавальное шунтирование предпринято с профилактической целью. Показанием к выполнению различных вариантов ПКА у этих пациентов были рецидивирующее варикозное расширение вен пищевода (ВРВП) III-IV степени после профилактического эндоскопического лигирования, диуретикорезистентный асцит.

Все пациенты были разделены на 3 группы. Все группы были сопоставимы по полу и возрасту.

1-я группа – 35 (60,7%) пациентов, которым комплекс мер профилактики тромботических осложнений включал наряду с механическими

методами (эластическое бинтование) фармакопрофилактику гепаринами различной молекулярной массы: при высокой степени риска кровотечения из вен пищевода – нефракционированный гепарин (НФГ) 5000 ЕД 3 раза в сутки подкожно, низкомолекулярные гепарины (фраксипарин) 0,3 мл подкожно 1 раз в сутки за 12 часов до операции. При низкой степени риска кровотечения – НФГ по 5000 ЕД 5 раза в сутки подкожно, фраксипарин 0,3 мл за 12 часов до операции.

2-я группа – 23 (39,3%) пациента, которым антикоагулянтная профилактика тромбозомических осложнений гепаринами различной молекулярной массы проводилась в отсроченном режиме – через 4-6 часов после операции в связи с угрозой значительного послеоперационного кровотечения и высокого риска кровотечения из ВРВП.

В 3-ю группу вошли 17 (22,2%) пациентов, которым антикоагулянтная профилактика в течение первых суток послеоперационного периода не проводилась в связи с угрозой интраоперационного, послеоперационного кровотечения и высокого риска кровотечения из ВРВП.

Риск кровотечения из ВРВП оценивали по данным ФГДС. При наличии ВРВП II-III ст. – риск кровотечения низкий. Кровотечение из ВРВП или ВРВЖ в фазе неустойчивого гемостаза (наличие «фибриновой пробки» в зоне дефекта вены), ВРВП IV ст. – риск высокий.

Мониторинг системы гемостаза выполняли для контроля проводимой антитромботической профилактики и определения степени тромбинемии на различных этапах хирургического лечения с исследованием тромбоцитарного звена и коагуляционной активности. Первый этап – до операции, второй – каждый день послеоперационного периода и перед выпиской из стационара. Протокол гемостазиологического обследования больных включал ряд показателей: активированное частичное тромбопластиновое время (АЧТВ), международное нормализованное отношение (МНО), тромбиновое время, концентрацию фибриногена, уровень антитромбина III (АТ III). При гемостазиологическом исследовании до операции установлено нарушение тромбоцитарного и коагуляционного гемостаза у 31 (41,2%) больного, из них у 11 (14,6%) пациентов первой группы, у

9 (12,4%) пациентов второй группы и 11 (14,6%) пациентов третьей группы.

Во всех группах проведен анализ возможных причин развития тромбоза венного анастомоза и тромбоэмболических осложнений.

Для оценки эффективности мер профилактики тромботических поражений системы нижней полой вены (НПВ), воротной вены и портокавального анастомоза проводился мониторинг ультразвуковой доплерографии. В случае выявления тромбоза шунта выполняли КТ-ангиографию с целью определения размера тромба и степени обструкции анастомоза.

Первая ультразвуковая доплерография выполнялась перед операцией, а последующие – в послеоперационном периоде (1-8 день). При выявлении тромбоза анастомоза, проксимальных тромбозов системы НПВ мониторинг с изучением границ и подвижности тромботических масс в продольной и поперечной плоскости в течение 8 дней проводился ежедневно с последующим

увеличением интервала до 2-3 дней в течение всего срока пребывания в стационаре.

Проводилась сравнительная оценка ультразвуковой картины в b-режиме. Анализировались данные цветового и энергетического картирования (ЦДК, ЦДКЭ) венозного кровотока и его спектральные характеристики (рис. 2).

Для определения различий между предложенными способами проведения профилактики тромбозов провели статистическую обработку полученных данных при помощи таблиц сопряженности 2x2 с помощью критерия хи-квадрат с поправкой Йетса на непрерывность.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У 28 (35,4%) пациентов для декомпрессии портальной системы выполнена селективная разгрузка гастроэзофагеального венозного бассейна при помощи дистального спленоренального анастомоза. Анатомическое расположение венных



Рис. 1. Компьютерная томограмма. Дистальный спленоренальный анастомоз (1 – селезеночная вена; 2 – почечная вена).

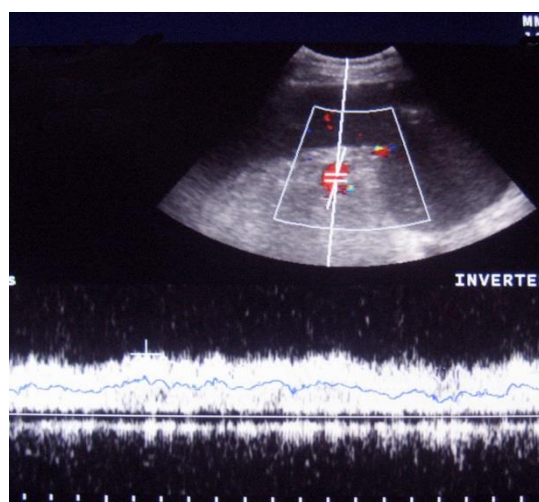
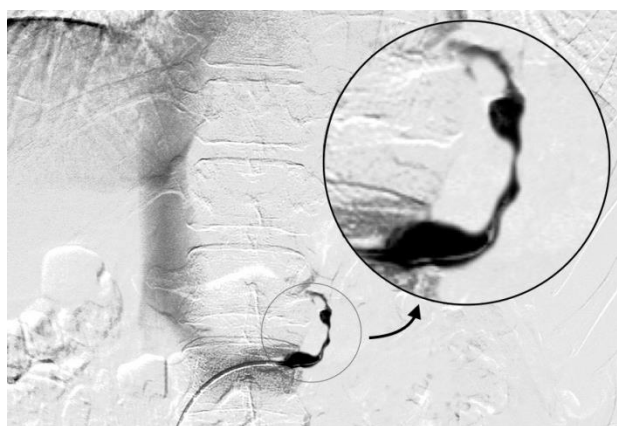


Рис. 2. Ультрасонограмма в режиме доплерографии. Дистальный спленоренальный анастомоз с гепатофугальным кровотоком.

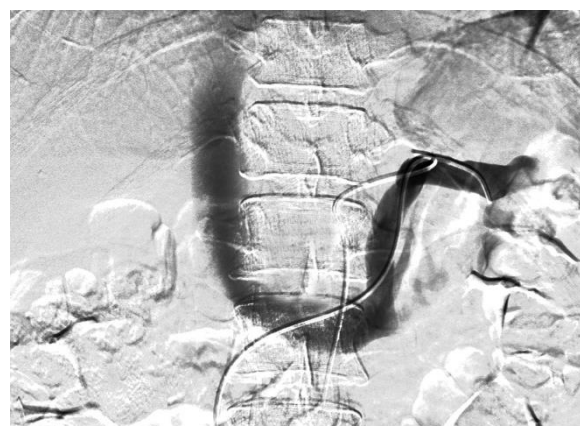
структур в области вмешательства у больных циррозом печени с синдромом портальной гипертензии подразумевает высокую вероятность возникновения послеоперационного панкреатита. В свою очередь, воспалительный процесс с железы распространяется и на парапанкреатическую и паравазальную клетчатку. Итогом такого воздействия является флебит, фибросклероз стенки портального сосуда и соответственно накладываемого анастомоза [7].

Послеоперационный период у 5 больных после наложения дистального спленоренального анастомоза осложнился очаговым панкреатитом. Комплекс лечебно-профилактических мероприятий позволил в большинстве случаев предотвратить развитие тяжелых форм послеоперационного панкреатита. У 4 из них развился локальный тромбоз камеры анастомоза. Умерли 3 больных, причиной послужило кровотечение из ВРВП. Одному пациенту выполнена ангиографическая реканализация шунта и последующее проведение тромболизиса с положительным эффектом (рис. 3).

Неудовлетворительные результаты дистального спленоренального анастомоза побудили нас к поиску мероприятий, улучшающих результаты лечения. Особое внимание уделяли технике операции. В условиях выраженного периспленита, наличия спленомегалии III-IV степени и анатомических особенностей, мобилизацию селезеночной вены начинали там, где она находилась ближе к поверхности и лучше пальпировалась. Мобилизацию вены выполняли на всем протяжении от места слияния с верхней брыжеечной веной до ворот селезенки. При этом сначала осуществляли препаровку нижней и передней поверхности вены, где меньшее количество притоков от поджелудочной железы, повреждение которых в условиях портальной гипертензии приводит к достаточно интенсивному кровотечению. Затем выделяли верхнюю и заднюю поверхности вены. Применение данной методики позволило избежать травматического повреждения поджелудочной железы, послеоперационного панкреатита и тромбоза шунта.



А.



Б.

Рис. 3. Восстановление проходимости ДСРА:

А. Возвратная шунтография (спленопортография). Б. Гемодинамика шунта восстановлена.



А.



Б.

Рис. 4 TIPS: А. Контрольная портография. Определяется частичный сброс портальной крови. Гепатопортальный кровоток в ветвях воротной вены сохранен. Б. МСКТ ангиография (2D-изображение).

При постановке TIPS расправление стента происходило постепенно в течение 1-3 дней. Для динамического контроля за функционированием внутрипеченочного шунта выполняли МСКТ с внутривенным контрастированием или портографию на 3 сутки. Далее контроль осуществлялся с помощью УЗ доплерографии (рис. 4).

У 2 пациентов после TIPS с использованием голометаллического стента выявлен пристеночный тромб шунта на фоне его стеноза. В одном случае удалось выполнить его дилатацию баллонным катетером, в другом случае потребовалось рестентирование по типу стент-в-стент. Голометаллические стенты использовали на начальных этапах освоения методики. В связи с частыми тромбозами непокрытых стентов (по данным литературы), в дальнейшей практике их не использовали. В 4 наблюдениях устанавливали стент-графт. Тромбозов шунтов не выявлено.

С целью контроля и точной визуализации «Н»-МКА всем пациентам во время операции устанавливалась рентгеноконтрастная маркерная метка (танталовое кольцо, металлическая клипса), что позволяло быстро ориентироваться в расположении ангиоструктур и значительно сокращало время лучевой нагрузки при выполнении шунтографии.

Таким образом, совершенствование методики выполнения ДСРА в виде прецизионного выделения селезеночной вены позволило исключить развитие послеоперационного панкреатита и тромбоза анастомоза. Выполнение TIPS с использованием голометаллического стента приводит к частому тромбозу шунта, в связи с чем предпочтительнее использование стент-графта.

Динамический контроль проходимости портокавальных шунтов позволил в ранние сроки визуализировать и принять адекватное решение по коррекции выявленных гемодинамических нарушений – необходимости выполнения реканализации, баллонной дилатации и стентирования ПКА.

В результате сравнительной характеристики разных групп пациентов в зависимости от проводимой антикоагулянтной терапии получены данные, свидетельствующие об отсутствии ранних тромбозов в I группе, где проводилась профилактика гепаринами различной молекулярной массы, начатая за 2 – 12 часов до операции. Во II группе тромбоз вен голени был диагностирован у 4 (0,6%) пациентов, тромбоз спленоренального анастомоза выявлен у 1 (0,1%) больного. У пациентов третьей группы, в которой фармакопрофилактика не проводилась, в 2 случаях диагностирован тромбоз мезентерик-кавального анастомоза, 3,1% случаев диагностирован тромбоз вен голени, в 2,8% случаев – тромбоз поверхностных

вен нижних конечностей. За время нахождения в хирургическом стационаре у этих больных случаев ТЭЛА не наблюдалось.

При анализе возможных причин возникновения тромбозов у 4 (5,3%) больных II группы и у 7 (9,2%) пациентов третьей группы установлено, что фармакопрофилактика низкомолекулярным гепарином этим больным проведена в отсроченном режиме, либо не проводилась в связи с угрозой интраоперационного кровотечения.

Таким образом, проведение профилактики начиная с 12 часов до операции и ее продолжение в послеоперационном периоде статистически значительно снижает частоту тромбозов на 8,6% ($\chi^2=5,8$; $p=0,016$) по сравнению с профилактикой, начатой через 6 часов после операции.

При начале проведения профилактики тромбозов через 24 часа после операции частота тромбозомболических осложнений была статистически значительно выше на 13,5% ($\chi^2=13,3$; $p=0,0003$) по сравнению с проведением профилактики начиная с 6 часов до операции и ее продолжением после.

При начале проведения профилактики через 6 часов после операции количество тромбозов было статистически незначимо ниже на 5% ($\chi^2=0,95$; $p=0,329$) по сравнению с профилактикой, начатой через 24 часа после операции.

В последующем стандартная послеоперационная профилактика в стационаре включала фармакологическую профилактику (обычно НМГ или варфарин).

Непрямые антикоагулянты назначали на 3 сутки после операции, подбирая дозу, обеспечивающую поддержание МНО в пределах 2,0-2,5. Подбор дозы непрямых антикоагулянтов осуществляли до достижения целевых значений МНО (1,8-2,0) по разработанному алгоритму (табл. 2). На 2 сутки от первого приема варфарина пациенты разделились на 3 группы: высокая чувствительность к ВФН, обычная и низкая. Дальнейший подбор дозы осуществлялся в зависимости от чувствительности к препарату.

Первый прием варфарина у 25 пациентов производился на фоне проведения профилактики НМГ, которые снижали на 5000 ЕД каждый день в течение 3 суток и отменяли после достижения терапевтического значения МНО 2,0-2,5. Разработанный алгоритм подбора дозировки ВФН в зависимости от индивидуальной чувствительности пациента к варфарину исключал послеоперационные осложнения в виде тромбозов или геморрагического синдрома. Всем пациентам эффективно подобрана антикоагулянтная терапия. Осложнений не выявлено. Такой вариант комплексной профилактики кажется разумным, однако нам не удалось обнаружить работ, изучавших совместное и/или последовательное применение

Таблица 2

Алгоритм подбора и коррекции дозы варфарина в зависимости от чувствительности к препарату

Сроки	МНО (в 9-11 час)	Дозы ВФН (17-19 час)	МНО (в 9-11 час)	Дозы ВФН (17-19 час)	МНО (в 9-11 час)	Дозы ВФН (17-19 час)
Первая доза		5,0 мг		5,0 мг		5,0 мг
День 1	Не определяли	5,0 мг	Не определяли	5,0 мг	Не определяли	5,0 мг
	Высокая чувствительность к ВФН		Обычная чувствительность к ВФН		Низкая чувствительность к ВФН	
День 2	2,0-2,3→	2,5 мг	1,5-2,0→	5,0-7,5 мг	≤1,5→	7,5 мг
	≥2,5	Отмена на 1 день – продолжать с 2,5 мг				
День 3-4	2,0-2,5→	1,25 мг	1,5-2,0→	7,5 мг	≤1,5→	10 мг
	≥3,0→	Отмена на 1 день – продолжать с 1,25 мг	2,0-2,5→	5,0 мг	1,5-2,0→	7,5 мг
День 5-8	2,0-2,5→	Сохранять дозу	1,5-2,0→	10 мг	≤1,5→	12,5 мг
	≥3,0→	Отмена на 1 день – продолжать с 1,25 мг	2,1-2,5→	Сохранять дозу	1,5-2,0→	10 мг
			3,0→	Уменьшить дозу на 30%	2,0-2,5→	Сохранять дозу
			≥3,5→	Отмена на 1 день – продолжать с дозы на 30% меньше	3,0→	Уменьшить дозу на 30%
					3,5→	Отмена на 1 день – продолжать с дозы на 30% меньше

таких комбинированных схем профилактики при портокавальных анастомозах на фоне цирроза печени и исходной гипокоагуляции.

Таким образом, совершенствование техники выполнения селективных и парциальных портокавальных шунтов позволяет избежать тромбоза анастомоза в раннем послеоперационном периоде. Назначение антикоагулянтов в предоперационном периоде и продолженное их введение после портокавального шунтирования значительно уменьшают риск тромботических осложнений у больных в раннем послеоперационном периоде. Динамический контроль проходимости ПКА позволяет в ранние сроки выявить признаки нарушения проходимости шунта и принять меры к его реканализации. Подбор дозы и контроль антикоагулянтной терапии требует ежедневной оценки изменений гемостазиологических показателей.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Борисов А.Е., Кузьмин-Крутецкий М.И., Кащенко, Васюкова Е.Л., Распережа Д.В. Кровотечения портокавального генеза. – СПб.: НИИ Химии СПбГУ ООП, 2001. – 128 с. [Borisov A.E., Kuz'min-Krutetskiy M.I., Kashchenko, Vasyukova E.L., Raspereza D.V. Hemorrhages of portal genesis. – SPb.: NII Khimii SPbGU OOP; 2001: 128 (in Russ.)].
2. Ерамишанцев А.К. Развитие проблемы хирургического лечения кровотечений из варикозно расширенных вен пищевода и желудка // Анналы хирургической гепатологии. – 2007. – Т. 12, № 2. – С. 8-15. [Eramishantsev A.K. Surgical Treatment of Bleeding Gastroesophageal Varices: Development of the Problem. Annaly khirurgicheskoy gepatologii. 2007; 12 (2): 8-15. (in Russ.)].
3. Ерамишанцев А.К., Лебезев В.М., Бохан Т.С., Мусин Р.А. Результаты парциальных портокавальных анастомозов у больных циррозом печени с пор-

- тальной гипертензией // Хирургия Узбекистана. – 1999. – № 4. – С. 46-51. [Eramishantsev A.K., Lebez-ev V.M., Bokhyan T.S., Musin R.A. Results of partial portocaval anastomoses in patients with cirrhosis of the liver with portal hypertension. Khirurgiya Uzbeki-stana. 1999; (4): 46-51. (in Russ.)].
4. Зубарев П.Н., Котив Б.Н., Хохлов А.В. Выбор спо-соба портокавального шунтирования // Анналы хирургической гепатологии. – 2000. – Т. 5, № 2. – С. 227-228. [Zubarev P.N., Kotiv B.N., Khokhlov A.V. Choosing the method of portocaval shunting. Annaly khirurgicheskoy gepatologii. 2000; 5 (2): 227-228. (in Russ.)].
 5. Котив Б.Н., Дзидзава И.И., Алентьев С.А. Порто-кавальное шунтирование в лечении больных цир-розом печени с синдромом портальной гипертен-зии // Анналы хирургической гепатологии. – 2008. – Т. 13, № 4. – С. 76-81. [Kotiv B.N., Dzi-dzava I.I., Alientiev S.A. The portocaval shunting at the treatment of the patients with liver cirrhosis and portal hypertension. Annaly khirurgicheskoy gepato-logii. 2008; 13 (4): 76-81. (in Russ.)].
 6. Comar K., Sanyol A. Portal hypertensive bleeding // Gastroenterol. Clin. North Am. – 2003. – Vol. 32, N 4. – P. 1079-1105.
 7. Ellwood D.R., Pomposelli J.J., Pomfret E.A., Lew-is W.D., Jenkins R.L. Distal splenorinal shunt: pref-erred treatment for recurrent variceal hemorrhage in the patient with well-compensated cirrhosis // Arch. Surg. – 2006. – Vol. 141, N 4. – P. 385-388. – DOI: 10.1001/archsurg.141.4.385
 8. Luqman Z., Khan M.R., Alam M., Atiq M., Sophie Z. An analysis of surgical shunts for the management of portal hypertension at Aga Khan University Hospi-tal // J. Ayub. Med. Coll. Abbottabad. – 2004. – Vol. 16, N 4. – P. 70-74.
 9. Orozco H., Mercado M.A., Chan C., Ramos-Gallard G., Gálvez-Treviño R., Salgado-Nesme N., Cisneros De-ajuria R., Anthón F.J. Current role of surgery for the treatment of portal hypertension // Ann. Hepatol. – 2002. – Vol. 1, N 4. – P. 175-178.

СУБКЛИНИЧЕСКОЕ ПОРАЖЕНИЕ МАГИСТРАЛЬНЫХ АРТЕРИЙ ПРИ РЕВМАТОИДНОМ АРТРИТЕ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ МЕТАБОЛИЗМА КОСТНОЙ ТКАНИ

© Князева Л.И.¹, Князева Л.А.¹, Григер З.³, Горайнов И.И.¹, Прибылов С.А.², Мещерина Н.С.¹, Степченко М.А.¹, Безгин А.В.¹, Харди́кова Е.М.¹, Понкратов В.И.¹, Бобынцев Я.И.¹

¹ Кафедра внутренних болезней № 1, ² кафедра внутренних болезней ФПО Курского государственного медицинского университета, Курск; ³ кафедра внутренних болезней, отделение клинической иммунологии Университета Дебрецена, Дебрецен, Венгрия
E-mail: kafedra_n1@bk.ru

Цель исследования – изучить вклад системы трансмембранных молекул RANKL/ОПГ в развитие патологической жесткости артериального русла при ревматоидном артрите (РА). Больные РА (n=181) были рандомизированы на 4 группы в зависимости от позитивности по РФ/АЦЦП (ревматоидный фактор/антитела к циклическому цитруллинированному пептиду) и длительности (менее или более двух лет) заболевания. Всем больным выполнены определение сывороточной концентрации остеопротегерина (ОПГ), лиганда рецептора активации ядерного фактора Каппа (sRANKL) и оценка показателей контурного анализа пульсовой волны. Наибольшее содержание ОПГ определено у больных 1-й группы, концентрация sRANKL с максимальной величиной соотношения RANKL/ОПГ преобладала у пациентов 4-й группы. При длительном течении РФ/АЦЦП-серопозитивного РА выявлены более существенные повышения артериальной ригидности (увеличение индексов аугментации (AIp), жесткости (SI), отражения (RI)). Результаты корреляционного анализа показали наличие достоверной взаимосвязи между системой трансмембранных молекул RANKL/ОПГ и показателями жесткости артериального русла при РА.

Ключевые слова: артериальная ригидность, контурный анализ пульсовой волны, маркеры костного метаболизма, остеопротегерин, ревматоидный артрит, sRANKL.

SUBCLINICAL DAMAGE OF LARGE ARTERIES IN RHEUMATOID ARTHRITIS AND IMMUNOLOGICAL MARKERS OF BONE METABOLISM

Knyazeva L.I.¹, Knyazeva L.A.¹, Griger Z.³, Goryainov I.I.¹, Pribylov S.A.², Meshcherina N.S.¹, Stepchenko M.A.¹, Bezgin A.V.¹, Khardikova E.M.¹, Ponkratov V.I.¹, Bobyntsev Ya.I.¹

¹ Department of Internal Diseases N 1, ² Department of Internal Diseases of Post-Graduate Faculty of Kursk State Medical University, Kursk;

³ Department of Internal Medicine, Division of Clinical Immunology of University of Debrecen, Debrecen, Hungary

The purpose of the study was to determine the contribution of RANKL/OPG transmembrane molecule system into the development of pathological arterial stiffness in rheumatoid arthritis (RA). RA patients (n=181) were randomized into 4 groups based on RF/ACCP (rheumatoid factor/antibodies to cyclic citrullinated peptide) positivity and disease duration (less than or more than 2 years). Serum osteoprotegerin (OPG) and soluble receptor activator of NF-kB ligand (sRANKL) concentrations, as well as pulse wave contour analysis were evaluated in all patients. The largest OPG level was detected in Group 1 patients; sRANKL concentration with maximal RANKL/OPG ratio was predominant in Group 4 patients. Prolonged course of RF/ACCP-seropositive RA was characterized by more significant arterial rigidity shifts (increases in augmentation (AIp), stiffness (SI), reflection (RI) indices). Correlation analysis revealed the presence of significant relations between the RANKL/OPG transmembrane molecule system and arterial rigidity parameters in RA.

Keywords: arterial stiffness, pulse wave contour analysis, bone metabolism markers, osteoprotegerin, rheumatoid arthritis, sRANKL.

Ревматоидный артрит (РА) является частым и одним из наиболее тяжелых заболеваний человека, что определяет большое медицинское и социально-экономическое значение этой патологии. По данным российского эпидемиологического исследования, РА страдают более 700 тысяч человек, что соответствует распространенности РА в большинстве стран. При отсутствии адекватной терапии РА вызывает стойкую потерю трудоспособности у половины пациентов в течение первых 3-5 лет от начала болезни и приводит к существенному сокращению продолжительности их жизни в первую очередь за счет высокого риска

развития коморбидных заболеваний, в том числе сердечно-сосудистых и вторичного остеопороза. Каждое из указанных состояний в отдельности значительно снижает качество жизни пациентов, а их частое сочетание многократно усиливает данный эффект, что оказывает негативное влияние на прогноз [4].

Следует отметить, что раннее развитие РА-ассоциированного атеросклероза достаточно часто возникает у лиц, не имеющих классических факторов сердечно-сосудистого риска (в 30-40% случаев) [5], и в значительной степени определяется активностью заболевания, проводимой тера-

пией, которые также вносят существенный вклад в развитие остеопороза у этой категории больных. У пациентов с остеопорозом имеется более высокий риск сердечно-сосудистых заболеваний, чем у лиц со здоровой костной тканью [31]. Исследования последних лет дают основание полагать о наличии корреляции между остеопорозом и атеросклерозом, как параллельно протекающих деструктивных процессах в двух тканях с развитием фатальных и нефатальных кардиоваскулярных событий [1] и повышением риска переломов костей. В пользу общности механизмов свидетельствует обнаружение в артериальной стенке ряда белков-регуляторов процессов костеобразования и костной резорбции. Кроме того, в атеросклеротической бляшке выявлена экспрессия медиаторов костеобразования, структурных белков костной ткани, лиганд-рецепторной системы RANK/RANKL/ОПГ [3]. Несколько проведенных исследований установили важную роль данной цитокиновой системы в атерогенезе [19] и остеопорозе [17]. Было показано, что активация RANKL и связывание с RANK потенцирует активность остеокластов и костную резорбцию с формированием кальцификации сосудов, являющейся одним из морфологических атеросклеротических изменений. Фактически кальцификация сосудов является высокоорганизованным процессом с привлечением клеток дифференцировки матрикса и вторичной оссификации с образованием депозитов гидроксиапатитов [3], что позволяет предположить наличие общих патофизиологических механизмов их формирования.

Кальцификация, или эктопическая минерализация, кровеносных сосудов позиционируется в настоящее время как активный процесс, регулируемый клетками, связанный с оссификацией, и рассматривается в качестве общего сердечно-сосудистого фактора риска, который в 3-4 раза увеличивает смертность и является предиктором коронарной болезни сердца [24]. Кальцификация сосудов снижает эластичность стенки артерий и повышает смертность при артериальной гипертензии (АГ), гипертрофии миокарда, инфаркте миокарда (ИМ), аортальном стенозе [28].

Показано, что кальцификация аорты коррелирует с переломами позвоночника и считается независимым предиктором кардиоваскулярной смерти [9]. Эктопическая минерализация артерий часто сопровождается уменьшением плотности костной ткани или нарушением костного обмена с развитием остеопороза. Снижение минеральной плотности костной ткани (МПКТ) также ассоциируется с увеличением СРПВпл и утолщением КИМ сонных артерий [20].

Открытие системы RANK/RANKL/ОПГ революционизировали существующие ранее пред-

ставления о патоморфозе остеопороза, остеокластогенеза, регуляции костной резорбции [1]. К настоящему времени известно, что лиганд-рецепторная система RANK/RANKL/ОПГ – ключевое звено гомеостаза костной ткани, непосредственно регулирующее дифференциацию остеокластов [6]. Также важно отметить появление данных о ее возможном участии в потенцировании атеросклероза, что основывается на свойствах цитокиновой системы рецептора активатора ядерного фактора Каппа-β (RANK), его лиганда RANKL и ОПГ вызывать активацию воспалительного ответа Т-лимфоцитов и дендритных клеток; стимулировать экспрессию хемотаксических протеинов моноцитами; индукцию металлопротеиназной активности гладкомышечных клеток сосудов; повышение протромботической активности [13]. Кроме того эндотелиальные клетки и гладкомышечные клетки сосудов продуцируют и экспрессируют все звенья оси RANK/RANKL/ОПГ [8]. При этом надо отметить существующую до настоящего времени дискуссионность механизмов участия системы RANK/RANKL/ОПГ в развитии атерогенеза и повышении риска сердечно-сосудистых осложнений при РА, что во многом определяется иницирующим периодом этого направления исследований, преобладанием в основном экспериментальных данных о возможной общности механизмов атерогенеза и остеопороза, при этом имеющиеся результаты получены в основном при обследовании больных с сахарным диабетом (СД), ОП, при новообразованиях костей [15, 21].

Приведенные данные определяют актуальность исследования возможной связующей роли системы RANK/RANKL/ОПГ в патоморфозе остеопороза и атеросклероза при РА, что важно не только с позиций уточнения патофизиологических механизмов этих процессов, но и представляют интерес в связи с возможностью разработки общих подходов к их терапии. Поэтому целью исследования явилось изучение вклада системы трансмембранных молекул RANKL/ОПГ в формирование и прогрессирование патологической жесткости артериального русла при РА.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проведено в соответствии с Хельсинкской декларацией (принятой в июне 1964 г. (Хельсинки, Финляндия) и пересмотренной в октябре 2000 г. (Эдинбург, Шотландия)) и одобрено Этическим комитетом КГМУ. От каждого пациента получено информированное согласие.

Характеристика групп на момент включения в исследование (Me [25Q; 75Q])

Показатели	1-я группа (n=39)	2-я группа (n=48)	3-я группа (n=44)	4-я группа (n=50)	p
Возраст, лет	39,4 [31,6; 49,1]	34,5 [28,1; 48,5]	38,6 [32,1; 47,8]	40,1 [36,8; 47,3]	0,052
Курение, абс. число	6	4	5	3	0,4
Отягощенный анамнез по АГ, ИБС, СД, абс. число	5	3	3	4	0,6
Общий холестерин, ммоль/л	4,2 [3,7; 5,1]	3,8 [3,6; 5,3]	4,8 [3,1; 5,3]	3,9 [3,6; 5,5]	0,17
ЛПВП, ммоль/л	1,62 [1,30; 1,72]	1,48 [1,23; 1,80]	1,51 [1,40; 1,69]	1,58 [1,20; 1,91]	0,25
ЛПНП, ммоль/л	2,4 [2,29; 3,14]	2,5 [2,1; 3,4]	2,6 [2,18; 2,96]	2,8 [2,1; 3,2]	0,15
Индекс атерогенности, усл. ед.	2,8 [1,6; 3,4]	2,6 [1,7; 3,3]	2,2 [1,3; 3,6]	2,5 [1,9; 3,1]	0,09
Длительность ревматоидного артрита, мес	16,8 [10,9; 22,3]	17,4 [12,6; 20,9]	13,8 [10,1; 18,3]	15,1 [9,3; 21,8]	0,16
ЧБС 28	13,8 [12,3; 17,1]	12,7 [10,1; 16,3]	13,1 [11,3; 15,9]	14,2 [11,9; 17,3]	0,32
ЧПС 28	13,1 [10,2; 15,9]	12,8 [9,8; 14,6]	14,2 [11,3; 15,3]	13,7 [10,1; 16,8]	0,8
Боль по шкале ВАШ, мм	59,2 [51,8; 68,1]	61,3 [48,0; 66,9]	55,7 [50,3; 67,8]	60,4 [51,0; 70,1]	0,22
Утренняя скованность, мин	91,6 [86,4; 142,3]	99,8 [76,81; 128,10]	96,4 [100,8; 132,6]	100,8 [89,8; 124,7]	0,69
DAS 28, баллы	4,4 [4,1; 5,2]	4,2 [3,8; 4,8]	4,3 [3,6; 4,8]	4,3 [3,7; 5,1]	0,84
СОЭ, мм/ч	41,3 [28,3; 48,4]	34,9 [31,6; 48,8]	36,3 [33,8; 51,4]	38,9 [29,3; 46,1]	0,39
СРБ, мг/мл	17,1 [15,3; 27,4]	16,9 [13,9; 28,1]	18,5 [16,7; 26,8]	20,3 [14,6; 25,3]	0,44
R-стадия по Штейнброккеру: I/II/III/IV, абс. число	1/10/9/0	0/7/10/0	1/8/9/0	1/10/11/0	0,56
Функциональный класс: I/II/III/IV, абс. число	4/15/1/0	2/14/1/0	5/11/2/0	5/16/1/0	0,4
МПКТ проксимального участка бедренной кости (BMD)	0,602 [0,557; 0,687]	0,567 [0,521; 0,717]	0,560 [0,542; 0,626]	0,552 [0,518; 0,687]	0,38
T-критерий проксимального участка бедренной кости	-2,17 [-1,53; -2,62]	-2,25 [-1,78; -2,71]	-2,31 [-1,83; -2,58]	-2,28 [-1,33; -2,74]	0,45

Примечание: ЛПВП и ЛПНП – липопротеины высокой и низкой плотности; ЧБС – число болезненных суставов; ЧПС – число припухших суставов; СОЭ – скорость оседания эритроцитов; СРБ – С-реактивный белок, АГ – артериальная гипертензия, ИБС – ишемическая болезнь сердца, СД – сахарный диабет, МПКТ – минеральная плотность костной ткани.

В исследовании принял участие 181 больной с достоверным по классификационным критериям ACR (1987) и/или ACR/EULAR (2010) диагнозом РА.

Критериями включения служили: возраст от 18 до 50 лет; длительность ревматоидного анамнеза не более 2 лет; активное течение РА в течение последних 3 мес.; индекс DAS 28 (интегральный показатель активности РА) на момент включения в исследование – 3,2 балла и выше; сохраненная способность к самообслуживанию; использование любых болезнь-модифицирующих антиревматических препаратов (БМАРП) в течение последних 3 мес. до начала исследования.

Критериями исключения из исследования являлись: низкая активность РА (индекс DAS 28 – менее 3,2 балла); наличие коморбидной кардиоваскулярной патологии (артериальная гипертензия, любые формы ишемической болезни сердца, хроническая сердечная недостаточность, сахарный диабет, заболевания почек (уровень креатинина – выше 133 мкмоль/л) и печени (уровень АСТ, АЛТ, билирубина, в 3 раза и более превышающие нормальные значения), ожирение (индекс массы тела – более 30 кг/м²); предшествующая терапия глюкокортикоидами (ГК).

Среди обследованных больных было 37 мужчин (20,4%) и 144 женщины (79,6%), т.е. преобладали женщины (1:4). 45,8% больных (n=83) имели ранний РА с длительностью анамнеза болезни менее 2 лет, у 54,2% больных (n=98) длительность РА превышала 2-летний период. У 94 (52%) больных имел место РФ/АЦЦП-серопозитивный вариант РА, у 87 (48%) пациентов – РФ/АЦЦП-серонегативный вариант заболевания.

Внесуставные проявления РА были определены у 134 (74,0%) больных, наиболее часто встречались: ревматоидные узелки – у 84 (46,4%) больных, амиотрофический синдром – у 114 (63%) больных, анемия – у 68 (37,5%) больных, периферическая нейропатия – у 17 (9,3%) больных, капилляриты – у 14 (7,7%) больных и эписклерит имел место у 6 (3,3%) больных. Большинство обследованных больных РА (83,4%) получали в качестве БМАРП метотрексат (15,0–25,0 мг/неделю). Среди пациентов, включенных в исследование, у 22 (12,1%) больных имел местоотягощенный по ССЗ семейный анамнез, при оценке по шкале SCORE 63% и 39% больных имели соответственно умеренный (n=114) или низкий (n=39) КВР. У обследованных пациентов с РА без клинических проявлений ССЗ показатели липидного спектра крови находились в пределах референсных значений, определяемых как нормальные или «целевые».

Все больные РА, включенные в исследование, с учетом длительности заболевания и иммунологического субтипа были разделены на 4 группы: больные с негативным по РФ/АЦЦП (ревматоидный фактор/антитела к циклическому цитруллинированному пептиду) вариантом РА, длительностью менее 2 лет (n=39), – 1-я группа; больные с негативным по РФ/АЦЦП вариантом РА, длительностью более 2 лет (n=48), – 2-я группа; больные с позитивным по РФ/АЦЦП вариантом РА, длительностью менее 2 лет (n=44), – 3-я группа; больные с позитивным по РФ/АЦЦП вариантом РА, длительностью более 2 лет (n=50), – 4-я группа. Характеристика групп представлена в таблице 1.

Группу контроля составили 46 клинически здоровых лиц в возрасте 38,6 [32,1; 47,8] лет (из них 39 женщин (84,7%) и 7 мужчин (15,3%)).

В ходе исследования у больных РА иммуноферментным методом оценивали уровень IgM РФ и АЦЦП («ORGenTec Diagnostika», Германия). Содержание трансмембранных белков: остеопонтегерина (ОПГ) и sRANKL в сыворотке крови оценивали методом иммуноферментного анализа («Bender Med Systems» и «Biomedica», Австрия).

Всем больным была выполнена двуэнергетическая рентгеновская абсорбциометрия (DEXA) на аппарате CHALLENGER Optima Series (производитель «DMS», Франция; Ver: 1.7.6) с оценкой минеральной плотности костной ткани (МПКТ) (BMD) и Т-критерия в проксимальном отделе бедра.

Исследование региональной артериальной жесткости включало оценку контурного анализа пульсовой волны на аппарате «АнгиоСкан-01» (ООО «АнгиоСкан-Электроникс», Россия) в соответствии с требованиями по подготовке испытуемого и процедуре проведения тестов [2]. При контурном анализе пульсовой волны оценивались следующие параметры: индекс жесткости (SI, stiffness index), индекс отражения (RI, reflection index), индекс аугментации (Alp, augmentation index), центральное систолическое давление – прогноз (Spa, Systolic Pressure Aortic – prognosis).

Статистическую обработку цифровых данных выполняли с применением стандартного пакета прикладных программ Microsoft Excel и Statistica 6.0. Характер распределения вариант определялся по критерию Колмогорова–Смирнова, равенство генеральных дисперсий контролировали с помощью F-критерия Фишера. Полученные результаты представлены в виде медианы (Me) с интерквартильным размахом (25Q; 75Q). Для установления значимости различий между группами применяли непараметрический дисперсионный анализ (ANOVA) по критериям Крускала–Уоллиса (для независимых групп) и Вилкоксона (для зави-

симых групп). Анализ взаимосвязи между изучаемыми параметрами осуществляли с помощью критерия ранговой корреляции Спирмена (r). Во всех процедурах статистического анализа за критический уровень значимости нулевой статистической гипотезы принимали $p=0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Проведено определение содержания sRANKL и ОПГ в сыворотке крови больных с различными клинико-иммунологическими вариантами РА, выявившее повышение их уровня в сравнении с контролем ($p=0,001$). В 1-й группе уровень ОПГ

был в среднем в 3,6 раза ($p=0,005$) выше контроля и в 2,1 раза ($p=0,01$), чем у больных 2-й группы (рис. 1).

У больных 2-й группы концентрация sRANKL более чем в 9 раз ($p=0,001$) превышала значение контроля и на 30,6% ($p=0,01$) – его величину у больных 1-й группы.

При этом концентрация ОПГ в сыворотке крови больных 3-й группы была выше более чем в 3 раза ($p=0,001$), чем в контрольной группе. По мере прогрессирования длительности РА отмечалось уменьшение содержания ОПГ, которое в 4-й группе было ниже на 42% ($p=0,03$), чем у больных 3-й группы (рис. 2).

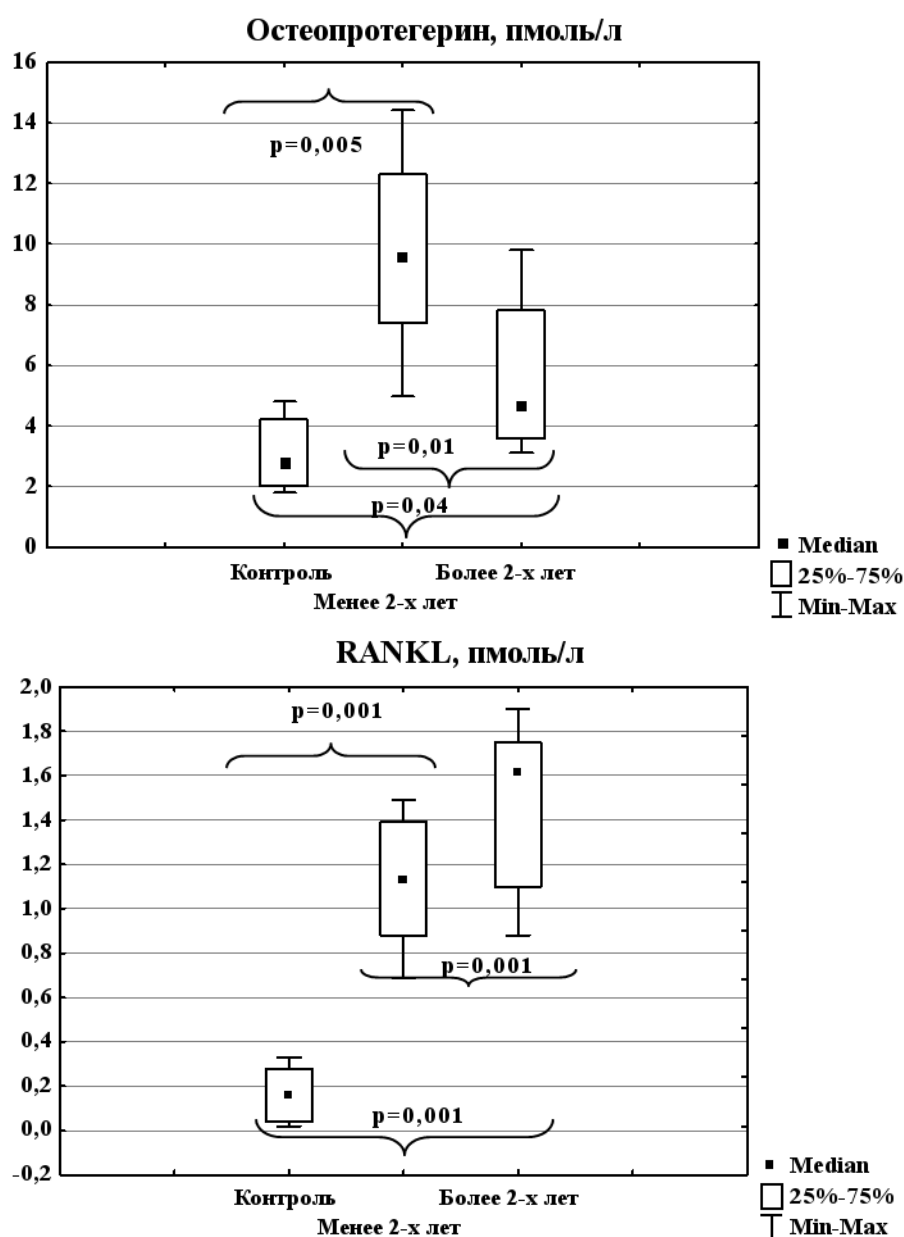


Рис. 1. Содержание остеопротегерина и sRANKL в сыворотке крови больных с РФ/АЦЦП-серонегативным РА (1-я и 2-я группы).

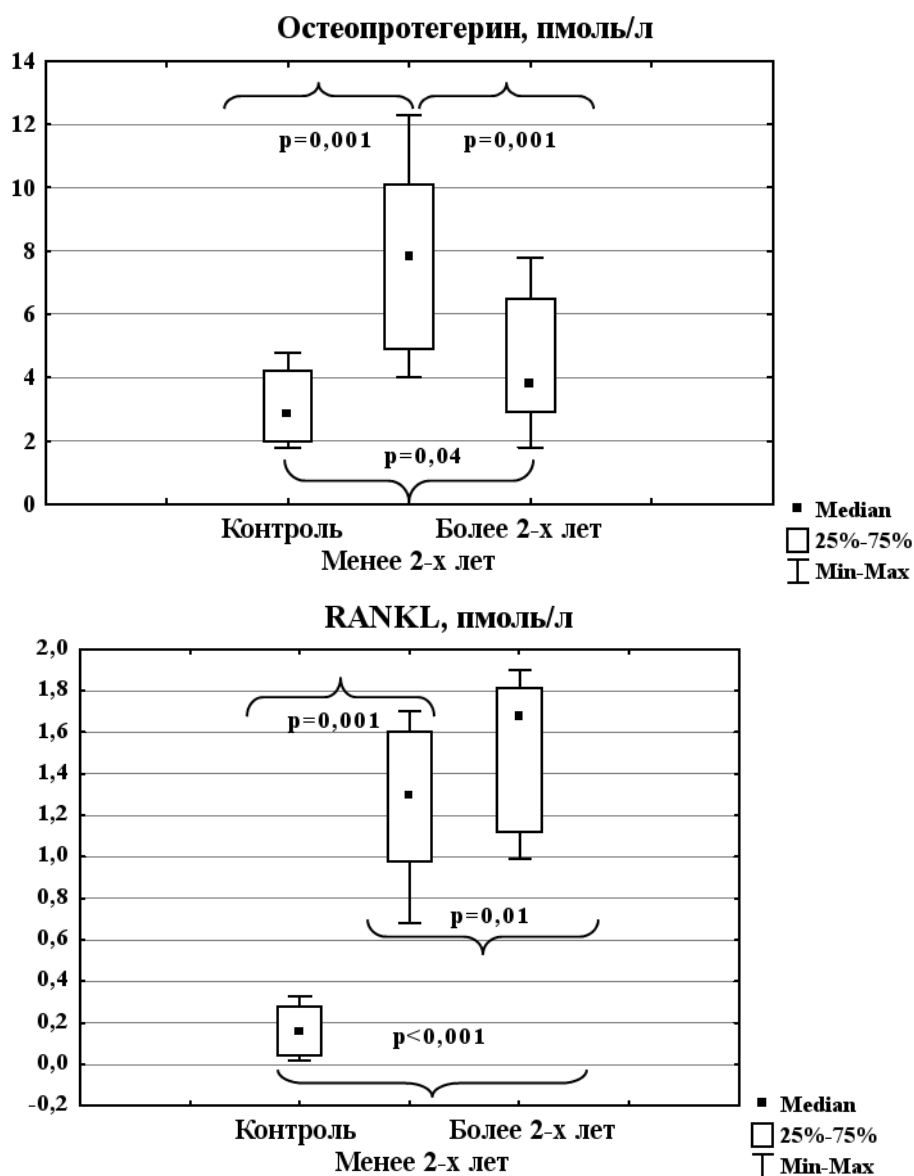


Рис. 2. Уровень остеопротегерина и sRANKL в сыворотке крови больных с РФ/АЦЦП-серопозитивным РА (3-я и 4-я группы).

Важно отметить, что в 4-й группе уровень sRANKL более чем в 10 раз ($p < 0,001$) превышал значение контроля и на 38,2% ($p = 0,01$) – показатель у больных 3-й группы и на 18,6% ($p = 0,01$) – его величину во 2-й группе больных РА. В то же время содержание ОПГ у обследованного контингента имело обратную тенденцию, в 1-й группе его уровень в среднем в 1,3 раза ($p = 0,026$) был выше, чем в 3-й группе.

С учетом полученных к настоящему времени данных о высокой предикторной роли соотношения sRANKL/ОПГ в развитии патологических процессов, проявляющихся нарушением ремоделирования костной ткани, таких как остеопороз, артрит и др. [11], была проведена его оценка в зависимости от клинико-иммунологических особенностей заболевания.

Анализ соотношения RANKL/ОПГ показал наибольшее его значение – $0,29 \pm 0,04$ ($p = 0,048$) в 4-й группе, которое примерно в 2 раза ($p = 0,03$) и в 1,4 раза ($p = 0,04$) было выше, чем у больных 3-й группы и 2-й группы соответственно.

Для выявления потенциальных детерминант ремоделирования костной ткани проведен корреляционный анализ, который установил наличие положительных связей между сывороточным уровнем sRANKL и длительностью РА ($r = 0,68$, $p < 0,001$ соответственно), уровнем РФ и АЦЦП ($r = 0,56$, $p = 0,048$; $r = 0,62$, $p = 0,01$ соответственно), также величиной Т-критерия проксимального участка бедренной кости и МПКТ проксимального участка бедренной кости (BMD) ($r = 0,63$, $p = 0,004$; $r = 0,55$, $p = 0,001$ соответственно). Обратная зависимость определена между содержанием ОПГ и концентрацией РФ и АЦЦП ($r = -0,49$,

$p=0,03$ и $r=-0,52$, $p=0,025$ соответственно), значениями Т-критерия проксимального участка бедренной кости ($r=0,62$, $p=0,01$).

Таким образом, наши исследования выявили изменения в системе трансмембранных молекул RANKL/ОПГ у всех обследованных больных РА, что во многом может быть связано с активностью паннуса, клетки которого (прежде всего синовиоциты В, т.е. фибробласты) обладают способностью к агрессивному росту и являются продуцентами целого ряда воспалительных медиаторов и факторов роста, поддерживающих и активирующих иммунное воспаление. В первую очередь это касается гиперпродукции провоспалительных цитокинов (ФНО- α , ИЛ-1 β , ИЛ-6), потенцирующих гиперэкспрессию RANKL, определяющую прогрессирование процессов эрозирования костной ткани и ОП. ОПГ, продуцируемый остеобластами, является естественным антагонистом RANKL, препятствующим его взаимодействию с RANK, в результате чего разрушение костей остеокластами тормозится. Поэтому соотношение в системе трансмембранных молекул RANKL/ОПГ рассматривается в качестве одного из основных механизмов развития и прогрессирования костно-деструктивных процессов в суставах, ремоделирования костной ткани при РА [25].

Установленное в нашей работе преимущественное увеличение содержания ОПГ в сыворотке крови можно рассматривать как компенсаторное, направленное на нивелирование активности RANKL, на ранних стадиях РА. У больных с длительным анамнезом заболевания выявлено преобладание гиперпродукции RANKL, в большей степени при серопозитивном варианте РА. Сдвиг соотношения RANKL/ОПГ в сторону RANKL сопровождается прогрессированием костной деструкции и отражает особенности патофизиологических механизмов течения РА. Считают также, что высокий уровень sRANKL приводит к повышению соотношения RANKL/ОПГ, направляя гладкомышечные клетки сосудов по пути остеобластической дифференциации [1]. Надо при этом отметить, что в исследовании Lieb W. et al. не было обнаружено достоверной связи между уровнем RANKL и КВЗ [18]. Известно, что данные цитокины экспрессируются в костном мозге и определяют дифференциацию предшественников остеокластов в остеокласты [15], кроме того, было показано, что ОПГ и RANKL также продуцируются атеросклеротической бляшкой. Кроме того, в наблюдательном исследовании указывается, что повышение уровня ОПГ ассоциируется с развитием и тяжестью течения коронарной и цереброваскулярной болезнью, периферического атеросклероза, у больных ОКС, наличием коронарных бляшек и бляшек в сонных артериях [10].

Повышение уровня ОПГ обсуждается как предиктор роста бляшки у женщин в общей популяции [30]. Авторы при этом полагают, что содержание ОПГ можно рассматривать в качестве нового маркера для скрининга КВР. Однако существует и другое мнение об участии ОПГ в атерогенезе, подчеркивается, что ОПГ не является маркером КВР, а его значимость определяется в качестве медиатора активности системы RANK/RANKL/ОПГ. В этой связи ОПГ предлагают сравнивать с СРБ, отражающим активность воспаления при атеросклерозе [29]. Вместе с тем в исследованиях Caidahl K. et al. показано, что RANK/RANKL играет важную роль в инициации кальцификации сосудов, а ОПГ ее ингибирует [7]. В то же время, по мнению Lieb W. et al. отсутствует связь между уровнем RANKL и КВЗ [18]. Более того, было показано, что генетически обусловленное снижение уровня ОПГ у мышей обладает антиатерогенным влиянием, что находится в противоречии с мнением других исследователей. Это дает основание полагать, что обсуждаемый маркер КВЗ (ОПГ) не является предиктором атеросклероза, но может быть стабильным маркером механизмов, вовлеченных в атерогенез.

Предварительный и достаточно противоречивый характер результатов исследований по изучению активности цитокиновой системы RANK/RANKL/ОПГ в качестве связующего звена, регулирующего ремоделирование костной ткани и кальцификацию сосудистой стенки – маркера повышения риска КВЗ, явился основанием для определения региональной жесткости сосудов эластического и мышечного типа у больных РА.

В ходе проведенного контурного анализа пульсовой волны у всех больных как с серопозитивным, так и с серонегативным по РФ/АЦЦП вариантом РА в сравнении с контролем наблюдалось статистически значимое повышение индекса A_{Ip} , который имел положительные значения и нарастал с длительностью заболевания (табл. 2). При этом следует отметить, что среднегрупповые значения A_{Ip} у больных 4-й группы были выше, чем во 2-й группе, в среднем в 1,6 раза ($p=0,036$).

Оценка индекса жесткости (SI) артериального русла также выявила его статистически значимое увеличение у всех больных РА по сравнению с контролем. Изучение индекса SI у больных с различной длительностью РФ/АЦЦП-серонегативного РА не установило статистически значимых различий в сравниваемых группах. Что же касается оценки индекса SI при серопозитивном по РФ/АЦЦП варианте РА, то у больных в 4-й группы данный показатель в среднем был на 11,2% ($p=0,022$) выше, чем во 2-й группе.

Параметры контурного анализа пульсовой волны у больных РА (Ме [25Q; 75Q])

Показатель	Контроль (n=46)	Больные РА (n=181)				Значение p
		1-я группа (n=39)	2-я группа (n=48)	3-я группа (n=44)	4-я группа (n=50)	
		1	2	3	4	
AIp, %	-12,1 [6,8;-18,6]	9,8 [15,7;-2,15]	14,45 [6,1;17,5]	15,6 [22,1;-2,4]	19,4 [15,8;38,1]	$p_{1-2}=0,018$ $p_{1-3}=0,003$ $p_{2-3}=0,036$ $p_{1-4}=0,002$ $p_{1-5}=0,001$ $p_{4-5}=0,032$
SI, м/с	6,7 [5,9;8,2]	8,1 [7,4;9,1]	8,5 [8,1;9,4]	8,5 [7,8;9,6]	9,1 [8,1;9,6]	$p_{1-2}=0,007$ $p_{1-3}=0,001$ $p_{2-3}=0,068$ $p_{1-4}=0,007$ $p_{1-5}=0,001$ $p_{4-5}=0,022$
RI, %	25,6 [20,8;36,9]	29,9 [21,8;35,1]	45,7 [39,5;54,3]	33,5 [27,7;43,5]	62,0 [43,9;74,3]	$p_{1-2}=0,068$ $p_{1-3}=0,01$ $p_{2-3}=0,04$ $p_{1-4}=0,048$ $p_{1-5}=0,002$ $p_{4-5}=0,001$
SPa, мм рт. ст.	118 [105;123]	125 [121;130]	122 [118;130]	125 [121;130]	126 [118;130]	NS

Было также определено, что в 1-й и 2-й группах индекс SI в среднем был ниже на 12,2% ($p=0,048$), чем в 3-й группе, и на 14,6% ($p=0,016$) в сравнении с его значением у больных 4-й группы.

При этом необходимо подчеркнуть, что у обследованных нами больных РА увеличение индекса SI не зависело от показателя SPa, отражающего уровень артериального давления в проксимальном отделе аорты и брахиоцефальных сосудах. Величина SPa у обследованных нами больных РА не имела статистически значимых межгрупповых отличий.

Анализ индекса отражения (RI) показал его увеличение у больных с 2-й группы в среднем в 1,7 раза ($p=0,01$) и в 1,5 раза ($p=0,04$) по сравнению с контролем и показателем 1-й группы соответственно. В 3-й группе индекс RI в среднем был в 1,3 раза ($p=0,048$) выше контроля, однако в 1,8 раза ($p=0,001$) ниже данного показателя у пациентов 4-й группы.

Следует отметить, что в отличие от индекса жесткости, характеризующего структурно-функциональное состояние крупных резистивных сосудов, таких, как аорта и ее ветви, индекс RI отражает тонус мелких мышечных артерий и определяет наличие спазма, являющегося важным компонентом патогенеза ССЗ [2].

Таким образом, результаты исследованных нами параметров структурно-функционального состояния артериального русла демонстрируют повышение жесткости сосудистой стенки у больных РА, проявляющееся увеличением индексов аугментации (AIp) и жесткости (SI), уже на ранних этапах развития заболевания (длительность менее 2 лет). Вместе с тем выявлено, что артериальная ригидность и тонус мелких мышечных артерий в большей степени увеличены у больных серопозитивным по РФ/АЦЦП варианте РА с более длительным анамнезом болезни (более 2 лет).

В нашей работе установлено наличие прямых корреляционных связей между индексами AIp, SI и длительностью РА ($r=0,53$, $p=0,01$ и $r=0,49$, $p=0,04$ соответственно), также индексами AIp, SI, RI и уровнем РФ ($r=0,56$, $p=0,01$; $r=0,68$, $p=0,04$ и $r=0,42$, $p=0,035$ соответственно), концентрацией АЦЦП ($r=0,48$, $p=0,03$; $r=0,62$, $p=0,018$; $r=0,48$, $p=0,044$ соответственно). Кроме того определены корреляционные зависимости между индексами AIp, SI, RI и величиной Т-критерия проксимального участка бедренной кости ($r=0,52$, $p=0,01$; $r=0,58$, $p=0,001$ и $r=0,48$, $p=0,01$ соответственно), МПКТ проксимального участка бедренной кости (BMD) ($r=0,58$, $p=0,001$; $r=0,62$, $p=0,01$ и $r=0,44$, $p=0,01$ соответственно), что отражает значимость тяжести заболевания и процессов ремоделирова-

ния костной ткани в качестве механизмов повышения жесткости сосудистой стенки при РА.

Принимая во внимание, что в настоящее время компоненты цитокиновой системы RANK/RANKL/ОПГ обсуждаются в качестве общего механизма костного и сосудистого ремоделирования [26], для установления взаимосвязи между данными показателями и структурно-функциональными параметрами сосудистой стенки у больных РА проведен корреляционный анализ с расчетом коэффициентов частной корреляции под контролем таких факторов, как длительность заболевания и серопозитивность по РФ/АЦЦП. Установлено наличие прямых связей между sRANKL и индексами AIp, SI и RI ($r=0,54$, $p<0,01$, $r=0,58$, $p<0,001$ и $r=0,39$, $p<0,01$ соответственно) при внесении «поправки» на длительность заболевания и серопозитивность по РФ/АЦЦП. Также выявлены связи между сывороточным уровнем ОПГ и индексами AIp, SI, RI максимально значимые коэффициенты корреляции определены только при внесении «поправки» на длительность РА, составившие: $r= -0,46$, $p<0,05$, $r= -0,63$, $p<0,001$ и $r= -0,34$, $p<0,05$, соответственно.

С учетом обсуждаемой индикаторной роли соотношения RANKL/ОПГ в процессах кальцификации сосудистой стенки [10] проведена оценка его взаимосвязи с параметрами контурного анализа пульсовой волны. Наиболее сильная взаимосвязь выявлена после внесения «поправки» на длительность заболевания и серопозитивность по РФ/АЦЦП, коэффициенты корреляции между соотношением RANKL/ОПГ и индексами AIp, SI, RI составили $r=0,52$, $p<0,01$, $r=0,64$, $p<0,001$ и $r=0,46$, $p<0,01$ соответственно.

Известно, что ОПГ экспрессируется остеобластами, эндотелиоцитами, гладкомышечными клетками меди артерий и вен, клетками сердца, почек, печени и является специфическим рецептором-«ловушкой» для рецепторного лиганда ядерного фактора транскрипции каппа-бета (RANKL) [16], ингибирует его эффекты, предотвращает развитие остеокластов и резорбции костной ткани [22]. Синтез и высвобождение RANKL, также как и ОПГ, осуществляется клетками эндотелия под влиянием воспалительных цитокинов (ИЛ-1 α , ИЛ-6, ИЛ-11, ИЛ-17, ФНО- α и др.), под воздействием которых уровень sRANKL в сосудистом русле повышается, экспрессия ОПГ, напротив, под их влиянием существенно снижается [32]. В свою очередь, наличие высокого системного уровня RANKL препятствует связи со своим рецептором RANK, что инициирует остеобластическую деформацию гладкомышечных клеток сосудов с акселерированной минерализацией матрикса и формированием в дальнейшем

кальцификации меди артерий [21]. При этом специфический рецептор-«ловушка» для RANKL, ОПГ подавляет остеобластическую дифференциацию гладкомышечных клеток. ОПГ функционально – рецептор-«ловушка», блокирующий связь между RANK и его лигандом RANKL, что приводит к угнетению его активности и предотвращению потери костной массы. В эксперименте были показаны свойства ОПГ уменьшать развитие кальцификации меди крупных сосудов [29].

В дополнение надо отметить, что ОПГ оказывает модулирующее влияние на активность RANKL, который, в свою очередь, определяет вариабельность действия ОПГ и его деградацию [32]. Дисбаланс в соотношении RANKL/ОПГ вызывает развитие потери костной массы, ремоделирование костей, также эта система цитокинов вовлечена в процессы регуляции иммунной системы, формирование ремоделирования сосудов [1].

Следует подчеркнуть, что сосудистая кальцификация развивается при атеросклерозе и различных КВЗ. Депозиты кальция могут определяться без утолщения комплекса интима-медиа на ранней стадии заболевания и только на поздней стадии последняя содержит циркулярные отложения минералов. Атеросклеротическая кальцификация интимы включает образование бляшки в стенке крупных сосудов и лежит в основе развития КВЗ [12], также является наиболее частой формой кальцифицирующей васкулопатии, развивающейся наиболее рано, не позднее второй декады жизни, сразу после образования липидного пятна [33], что определяет ее значимость в качестве мишени для разработки методов терапевтической коррекции. Предыдущие исследования показали наличие сложных ключевых механизмов развития сосудистой кальцификации, как составляющей механизмов ремоделирования артериального русла, прогрессирования атеросклероза [1]. Поэтому в настоящее время одним из наиболее перспективных направлений в изучении биологии сосудов является система RANK/RANKL/ОПГ, играющая центральную роль в развитии остеопороза и предположительно сосудистой жесткости [23]. Полагают, что RANKL и его антагонист ОПГ представляют важную систему цитокинов в биологии сосудов, поскольку защита от минерализации сосудистой стенки может быть достигнута путем модуляции экспрессии ОПГ и RANKL и снижением активности остеокластов [1]. Полученные факты позволяют предполагать наличие центральных патофизиологических механизмов, лежащих в основе развития параллельно протекающих процессов вторичного остеопороза с потерей костной массы и отложением в сосудах веществ костной ткани при РА. Таким образом,

ОПГ и RANKL оказывают различное влияние на клетки сосудов и костной ткани. ОПГ обладает протективным действием на стенки сосудов, заключающимся в регулировании процессов апоптоза, иммунного ответа [14]. RANKL при этом обладает резорбтивным эффектом на костную ткань и вызывает кальцификацию в гладкомышечных клетках артерий, потенцируя ремоделирование артериального русла с увеличением риска кардиоваскулярных осложнений [27].

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют в пользу существующего предположения о патогенетической общности изменений в системе трансмембранных молекул RANKL/ОПГ в развитии резорбции костной ткани, прогрессировании патологической жесткости артериального русла при РА, что способствует инициации обсуждения и разработки дифференцированных терапевтических подходов к коррекции выявленных нарушений.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Долженко А., Рихтер Т., Сагаловски С. Кальцификация сосудов, атеросклероз и потеря костной массы (остеопороз): новые патофизиологические механизмы и перспективы развития медикаментозной терапии // Альманах клинической медицины. – 2016. – Т. 44, № 4. – С. 513-534. – DOI: 10.18786/2072-0505-2016-44-4-513-534. [Dolzhenko A., Richter T., Sagalovsky S. Vascular calcification, atherosclerosis and bone loss (osteoporosis): new pathophysiological mechanisms and future perspectives for pharmacological therapy. Al'manakh klinicheskoy meditsiny. 2016; 44 (4): 513-534 (in Russ.)].
2. Парфёнов А.С. Экспресс-диагностика сердечно-сосудистых заболеваний // Мир измерений. – 2008. – № 6. – С. 74-82. [Parfyonov A.S. Express-diagnostics of cardiovascular diseases. Mir izmereniy. 2008; (6): 74-82 (in Russ.)].
3. Саранчина Ю.В., Килина О.Ю., Дутова С.В., Польша Н.Г., Ханарин Н.В., Кулакова Т.С. Методы изучения клеточного и молекулярного состава атеросклеротических бляшек: обзор литературы // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2017. – Т. 16, № 5. – С. 95-101. – DOI:10.15829/1728-8800-2017-5-95-101. [Saranchina Yu.V., Kilina O.Yu., Dutova S.V., Polshcha N.G., Khanarin N.V., Kulakova T.S. Methods for cellular and molecular compound of atherosclerotic plaques assessment: literary review. Kardiovaskulyarnaya terapiya i profilaktika. 2017; 16 (5): 95-101 (in Russ.)].
4. Скрипникова И.А., Алиханова Н.А., Абилова Э.С. Общие патогенетические механизмы атеросклероза и остеопороза: эластичность артериальной стенки и минеральная плотность кости в зависимости от некоторых параметров репликативного клеточного старения // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. – 2014. – Т. 13, № 5. – С. 83-93. – DOI: 10.15829/1728-8800-2014-5-83-93. [Skripnikova I.A., Alikhanova N.A., Abirova E.S. Common pathogenetic mechanisms of atherosclerosis and osteoporosis: elasticity of arterial wall and mineral density of the bone according to some parameters of replication cell ageing. Kardiovaskulyarnaya terapiya i profilaktika. 2014; 13 (5): 83-93 (in Russ.)].
5. Alemao E., Cawston H., Bourhis F. Cardiovascular risk factor management in patients with RA compared to matched non-RA patients // Rheumatology. – 2016. – Vol. 55, N 5. – P. 809-816.
6. Boyce B.F., Xing L. Functions of RANKL/RANK/OPG in bone modeling and remodeling // Arch. Biochem. Biophys. – 2008. – Vol. 473, N 2. – P. 139-146.
7. Caidahl K., Ueland T., Aukrust P. Osteoprotegerin: a biomarker with many faces // Atheroscler Thromb Vasc Biol. – 2010. – Vol. 30, N 9. – C. 1684-1686. – DOI: 10.1161/ATVBAHA.110.208843.
8. Collin-Osdoby P. Regulation of Vascular Calcification by Osteoclast Regulatory Factors RANKL and Osteoprotegerin // Circ. Res. – 2004. – Vol. 95, N 11. – P. 1046-1057. – DOI: 10.1161/01.res.0000149165.99974.12.
9. Crepaldi G., Maggi S. Epidemiologic link between osteoporosis and cardiovascular disease // J. Endocrinol. Invest. – 2009. – Vol. 32, N 4 (Suppl). – P. 2-5.
10. Demer L.L., Tintut J. Vascular calcification: pathobiology of a multifaceted disease // Circulation. – 2008. – Vol. 117, N 22. – P. 2938-2948. – DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.107.743161.
11. Hofbauer L.C., Kuhne C.A., Viereck V. The OPG/RANKL/RANK system in metabolic bone diseases // J Musculoskelet Neuronal Interact. – 2004. – Vol. 4, N 3. – P. 268-275.
12. Kanwar S.S., Stone G.W., Singh M. Acute coronary syndromes without coronary plaque rupture // Nat. Rev. Cardiol. – 2016. – Vol. 13, N 5. – P. 257-265. – DOI: 10.1038/nrcardio.2016.19.
13. Kapelouzou A., Tsourelis L., Kaklamanis L., Kostakis A., Cokkinos D.V. Serum and tissue biomarkers in aortic stenosis // Global. Cardiol. Sci. Pract. – 2015. – N 4. – P. 49. DOI: 10.5339/gcsp.2015.49. eCollection 2015.
14. Kiechl S., Schett G., Wenning G. Osteoprotegerin is a risk factor for progressive atherosclerosis and cardiovascular disease // Circulation. – 2004. – Vol. 109. – P. 2175-2180. – DOI: 10.1161/01.CIR.0000127957.43874.BB.
15. Kushlinskii N.E., Gershtein E.S., Timofeev Y.S. Osteoprotegerin (OPG) – receptor activator of NF-κB (RANK) – RANK ligand (RANKL) signaling system components and pro-inflammatory cytokines in blood serum of patients with primary bone neoplasms. Proceedings of 3rd International Conference on Predictive, Preventive and Personalized Medicine & Molecular Diagnostics, Sept. 01–03, 2015, Valencia, Spain // J. Pharmacogenomics Pharmacoproteomics. – 2015. – N 2. – P. 71.
16. Labovsky V., Vallone V.B., Martinez L.M., Otaegui J., Chasseing N.A. Expression of osteoprotegerin, receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand, tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand,

- stromal cell-derived factor-1 and their receptors in epithelial metastatic breast cancer cell lines // *Cancer Cell Internat.* – 2012. – Vol. 12, N 1. – P. 29. – DOI: 10.1186/1475-2867-12-29.
17. *Langdahl B.L.* New treatment of osteoporosis // *Osteoporos Sarcopenia.* – 2015. – Vol. 1, N 1. – P. 4-21. – DOI: 10.1016/J.AFOS.2015.07.007.
18. *Lieb W., Gona P., Larson M.G., Massaro J.M., Lipinska I., Keaney J.F., Rong J., Corey D., Hoffmann U., Fox C.S., Vasan R.S., Benjamin E.J., O'Donnell C.J., Kathiresan S.* Biomarkers of the osteoprotegerin pathway: clinical correlates, subclinical disease, incident cardiovascular disease, and mortality // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2010. – Vol. 30, N 9. – P. 1849-1854. – DOI: 10.1161/ATVBAHA.109.199661.
19. *Lutgens S.P., Cleutjens K.B., Daemen M.J., Heene-man S.* Cathepsin cysteine proteases in cardiovascular disease // *FASEB J.* – 2007. – Vol. 21, N 12. – P. 3029-3041. – DOI: 10.1096/fj.06-7924com.
20. *Mikumo M., Okano H., Yoshikata R., Ishitani K., Ohta H.* Association between lumbar bone mineral density and vascular stiffness as assessed by pulse wave velocity in postmenopausal women // *J. Bone Miner. Metab.* – 2009. – N 27. – P. 89-94. – DOI: 10.1007/s00774-008-0014.
21. *Ndip A., Williams A., Jude E.B., Serracino-Inglott F., Richardson S., Smyth J.V., Boulton A.J.M., Alexander M.Y.* The RANKL/RANK/OPG signaling pathway mediates medial arterial calcification in diabetic Charcot neuroarthropathy // *Diabetes.* – 2011. – Vol. 60, N 8. – P. 2187-2196. – DOI: 10.2337/db10-1220.
22. *Nelson C.A., Warren J.T., Wang M. W-H., Teitelbaum S.L., Fremont D.H.* RANKL employs distinct binding modes to engage RANK and the osteoprotegerin decoy receptor // *Structure.* – 2012. – Vol. 20, N 11. – P. 1971-1982. – DOI: 10.1016/j.str.2012.08.030.
23. *Papadopoulou A.E., Klonaris C.N., Theocharis S.E.* Role of OPG/RANKL/RANK axis on the vasculature // *Histol. Histopathol.* – 2008. – Vol. 23, N 4. – P. 497-506.
24. *Periard D., Folly A., Meyer M.A.* Aortic calcification and risk of osteoporotic fractures // *Rev. Med. Suisse.* – 2010. – Vol. 271, N 6. – P. 2200-2203.
25. *Pettit A.R., Walsh N.C., Manning C., Goldring S.R., Gravallesse E.M.* RANKL protein is expressed at the pannus-bone interface at sites of articular bone erosion in rheumatoid arthritis // *Rheumatology (Oxford).* – 2006. – N 45. – P. 1068-1076.
26. *Sattler A.M., Schoppet M., Schaefer J.R., Hofbauer L.C.* Novel aspects on RANK ligand and osteoprotegerin in osteoporosis and vascular disease // *Calcif. Tissue Int.* – 2004. – N 74. – P. 103-106.
27. *Schoppet M., Preissner K.T., Hofbauer L.C.* RANK ligand and osteoprotegerin: paracrine regulators of bone metabolism and vascular function // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2002. – Vol. 22, N 4. – P. 549-553.
28. *Tabas I., Garcia-Cardena G., Owens G.K.* Recent insights into the cellular biology of atherosclerosis // *J. Cell. Biol.* – 2015. – Vol. 209, N 1. – P. 13-22. – DOI: 10.1083/jcb.201412052.
29. *Van Compenhout A., Golledge J.* Osteoprotegerin, vascular calcification and atherosclerosis // *Atherosclerosis.* – 2009. – Vol. 204, N 2. – P. 321-329. – DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2008.09.033.
30. *Vik A., Mathiesen E.B., Brox J., Wilsgaard T., Njølstad I., Jørgensen L., Hansen J-B.* Serum osteoprotegerin is a predictor for incident cardiovascular disease, and mortality in a general population: the Tromsø Study // *J. Thromb. Haemostatic.* – 2011. – Vol. 9, N 4. – P. 638-644. – DOI: 10.1111/j.1538-7836.2011.04222.x.
31. *Wattanakit K., Folsom A.R., Chambless L.E., Nieto F.J.* Risk factors for cardiovascular event recurrence in the atherosclerosis risk in communities (ARIC) study // *Am. Heart J.* – 2005. – Vol. 149, N 4. – P. 606-612.
32. *Wright H.L., McCarthy H.S., Middleton J., Marshall M.I.* RANK, RANKL and osteoprotegerin in bone biology and disease // *Curr. Rev. Musculoskelet. Med.* – 2009. – Vol. 2, N 1. – P. 56-64. – DOI: 10.1007/s12178-009-9046-7.
33. *Zhu D., Mackenzie N.C., Farguharson C., MacRoe V.E.* Mechanisms and clinical consequences of vascular calcification // *Front. Endocrinol. (Lausanne).* – 2012. – Vol. 3, N 1. – P. 95-110. – DOI: 10.3389/fendo.2012.00095.

ОСОБЕННОСТИ БЕЛКОВО-ЛИПИДНОГО СПЕКТРА МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ОСТРОМ ДЕСТРУКТИВНОМ ПАНКРЕАТИТЕ В УСЛОВИЯХ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

© Долгарева С.А.¹, Бушмина О.Н.¹, Харченко А.В.², Конопля Н.А.³, Сорокин А.В.¹

¹ Кафедра биологической химии, ² кафедра патологической анатомии,

³ кафедра оториноларингологии Курского государственного медицинского университета, Курск

E-mail: bushminaon@kursksmu.net

В эксперименте изучено содержание и соотношение белков и липидов мембраны эритроцитов на модели острого деструктивного панкреатита на фоне 5-, 30- и 60-дневной интоксикации этанолом. В условиях панкреатита, в большей степени на фоне алкоголизации, пропорционально длительности интоксикации этанолом, выявлены изменения содержания белков, ответственных за структурообразование и стабилизацию мембраны (α - и β -спектрин, дематин, анкирин, белок полосы 4.1, паллидин), формообразование и гибкость (актин, тропомиозин), внутриклеточный метаболизм (анионтранспортный белок, глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа, глутатион-S-трансфераза, белок полосы 4.5) эритроцитов. Установленные нарушения содержания и соотношения липидных фракций, играющих основную роль в упорядочивании белковых макромолекул и метаболизме эритроцитов, наряду с изменениями архитектоники белков, нарушают внутриклеточный метаболизм и функциональные свойства эритроцитов.

Ключевые слова: острый панкреатит, этанол, белки и липиды мембраны эритроцитов.

THE PECULIARITIES OF PROTEIN-LIPID SPECTRUM OF ERYTHROCYTE MEMBRANES IN EXPERIMENTAL ACUTE DESTRUCTIVE PANCREATITIS UNDER THE CONDITIONS OF ALCOHOLIC INTOXICATION

Dolgareva S.A.¹, Bushmina O.N.¹, Kharchenko A.V.², Konoplya N.A.³, Sorokin A.V.¹

¹ Department of Biochemistry, ² Department of Pathological Anatomy, ³ Department of Otorhinolaryngology of Kursk State Medical University, Kursk

The experiment studied the content and ratio of proteins and lipids in erythrocyte membrane on the model of acute destructive pancreatitis associated with 5-, 30- and 60-day alcohol intoxication. Under the conditions of pancreatitis, largely against the background of alcohol-associated pancreatitis, the changes in the content of proteins responsible for structurization and stabilization of erythrocyte membrane (α - and β -spectrin, dematin, ankyrin, band 4.1 protein, pallidin), shaping and flexibility (actin, tropomyosin), and intracellular erythrocyte metabolism (anion-transport protein, glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, glutathione-S-transferase, band 4.5 protein) were revealed. The detected disturbances of the content and ratio of the lipid fractions playing the principle role in sequencing proteinaceous macromolecules and erythrocyte metabolism along with the changes in ordonnance of proteins break the intracellular metabolism and functional properties of erythrocytes.

Keywords: acute pancreatitis, ethanol, proteins and lipids of erythrocyte membrane.

Острый панкреатит является одним из наиболее тяжелых хирургических заболеваний с разнообразным спектром осложнений, высокой летальностью и окончательно не решенным диагностическим и лечебным алгоритмом. Кроме того, отмечена отрицательная тенденция в структуре панкреатита – увеличение числа его деструктивных форм [4, 8, 16].

Хроническая алкогольная интоксикация (ХАИ) и связанные с ней заболевания также являются одной из важных медико-социальных проблем на сегодняшнее время. Головной мозг, поджелудочная железа, печень, мышцы наиболее чувствительны к действию алкоголя. Значительно страдают при острых и хронических отравлениях этанолом сердечно-сосудистая и иммунная системы, последнее вызывает развитие вторичного иммунодефицитного состояния и инфекционные осложнения [1, 2, 13, 18].

Как в экспериментальных, так и в клинических исследованиях показана тесная связь между этанольной интоксикацией и развитием острого панкреатита. Возникающие при длительном приеме алкоголя вторичный иммунный дефицит, снижение защитных иммунных механизмов, присоединение на этом фоне соматической патологии являются ведущими в механизмах формирования терапевтической резистентности при алкоголизме и срыва ремиссий в процессе терапии сформировавшейся зависимости [5, 6, 7, 11, 15, 16].

В последние 15-20 лет исследованиями различных авторов установлена несомненная роль эритроцитов в регуляции различных звеньев гомеостаза не только в условиях нормы, но в первую очередь в условиях патологии, в том числе и при заболеваниях гепатопанкреатобилиарной системы [17]. В то же время практически отсутствуют данные об изменениях структурных ком-

понентов мембраны эритроцитов при воздействии этанола и остром панкреатите на фоне алкогольной интоксикации

Целью исследования стало изучение содержания белков и липидов мембраны эритроцитов при остром деструктивном панкреатите на фоне алкогольной интоксикации.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проведены на 87 здоровых половозрелых крысах-самцах Вистар массой 150-200 г. Все исследования проводили в одно и то же время суток с 8 до 12 ч. Содержание и забой животных проводили согласно правилам лабораторной практики РФ (приказ МЗ РФ № 267 от 19.06.2003). Кратковременную алкогольную интоксикацию моделировали принудительным внутрижелудочным введением 20% раствора этанола в дозе 3 мл/кг через 24 часа в течение 5 дней. При ХАИ этанол в такой же дозе вводили через 24 часа в течение 30 или 60 дней (ХАИ-30, ХАИ-60). Экспериментальный ОДП вызывали сразу с кратковременным получением этанола или на 25 и 55 сутки после его длительного введения перевязкой протока левой и правой долей поджелудочной железы, с последующей трехкратной через 60 мин стимуляцией прозеринном в дозе 0,2 мг/кг. Экспериментальных животных делили на 7 групп по 12-13 особей в каждой: 1-я группа (контрольная) – здоровые крысы; 2-я получала этанол в течение 5 дней; 3-я группа – ОДП и 5-кратное введение этанола; 4-я группа ХАИ-30; 5-я группа – ХАИ-30 и ОДП; 6-я группа ХАИ-60; 7-я группа – ХАИ-60 и ОДП. Забой крыс осуществляли через 24 часа после последнего введения этанола.

Эритроциты получали из 10 мл гепаринизированной крови, для чего ее отстаивали дважды в 10 мМ Na-фосфатном буфере (рН=7,4), содержащем 0,9% хлорида натрия и 3% декстрана Т-500, в течение 30 минут при температуре 37°C. После этого кровь центрифугировали, после отделения надосадочной жидкости эритроцитарную массу подвергали дополнительной очистке на хроматографической колонке через HBS-целлюлозу. Мембраны эритроцитов выделяли методом G.T. Dodge [23], липиды мембран определяли методом тонкослойной хроматографии [14]. Электрофорез белков проводили в присутствии додецилсульфата натрия в вертикальных пластинах полиакриламидного геля по методу U.K. Laemmli [25], белки окрашивали кумаси голубым R-250.

При статистической обработке данных использовали пакет компьютерных программ Microsoft Excel и Statistica 6.0. Для оценки принадлежности количественных признаков к виду рас-

пределения использовали тест Шапиро-Уилка. Оценку статистической значимости различий количественных величин осуществляли с использованием критериев Манна-Уитни и Вилкоксона (при сравнении зависимых групп) Среднее значение ненормально распределенных количественных параметров представлены медианой (Me) с межквартильным интервалом (P₂₅; P₇₅). Статистически значимыми считали различия с $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Моделирование ОДП приводило к снижению в мембране эритроцитов экспериментальных животных содержания α -спектрина, анкирина, актина, глицеральальдегид-3-фосфатдегидрогеназы (Г-3-ФД) и глутатион-S-трансферазы (Г-S-T) при нормальном уровне остальных исследованных белков. Развитие ОДП на фоне 5-дневного введения этанола дополнительно снижает представительность анионтранспортного белка (АТБ). При ОДП на фоне ХАИ-30, в отличие от кратковременного введения этанола, снижается содержание β -спектрина, в еще большей степени, Г-S-T, повышается уровень белков полосы 4.1 и 4.5, паллидина, дематина и тропомиозина. Наиболее выраженные изменения белкового спектра мембраны эритроцитов установлены при ОДП на фоне ХАИ-60: по сравнению с ХАИ-30, в еще большей степени, снижена представительность α -спектрина, анкирина, актина, Г-S-T и повышено содержание белка полосы 4.1 и тропомиозина (табл. 1).

Развитие ОДП приводит к снижению уровня в мембране эритроцитов фосфатидилхолина (ФХ), фосфатидилэтаноламина (ФЭ), фосфатидилинозитола (ФИ), сфингомиелина (СМ), повышению содержания лизофосфатидилхолина (ЛФХ), холестерина (Х), триацилглицеролов (ТАГ), суммы моно- и диацилглицеролов (МАГ, ДАГ) и неэстерифицированных жирных кислот (НЭЖК), при нормальном содержании фосфатидилсерина (ФС), глицерофосфолипидов (ГФЛ – сумма ЛФХ, ФХ, ФЭ, ФС и ФИ), фосфолипидов (ФЛ – сумма ГФЛ и СМ) и эфиров холестерина (ЭХ). Моделирование ОДП на фоне 5-дневного введения этанола дополнительно снижает уровень ГФЛ, ФЛ, в еще большей степени ФХ, ФИ, СМ, повышает представительность ЛФХ, Х и НЭЖК. В отличие от кратковременной интоксикации этанолом, развитие ОДП при ХАИ-30 снижает содержание ФС, ниже значений контроля уровень ТАГ и ДАГ+МАГ, повышает ЭХ, в еще большей степени повышает представительность ЛФХ, Х, НЭЖК и снижает СМ. По аналогии с нарушениями спектра белков мембраны эритроцитов наиболее выраженные изменения установлены при ОДП на

фоне ХАИ-60 в отношении содержания липидов: по сравнению с ХАИ-30, в еще большей степени, снижен уровень ФХ, ФИ, ГФЛ, СМ, ФЛ и повышено содержание ЛФХ, Х и НЭЖК (табл. 2).

Таким образом, в условиях ОДП, в большей степени на фоне алкоголизации, пропорционально длительности интоксикации этанолом, выявлены изменения со стороны периферических белков, ответственных за структурообразование и стабилизацию мембраны эритроцитов (α - и β -спектрин, дематин – основные белки цитоскелета, анкирин, белок полосы 4.1, паллидин), формообразование и гибкость мембраны (актин, тропомиозин), интегральных белков, ответственных за внутриклеточный метаболизм (АТБ, Г-3-ФД, Г-S-T, белок полосы 4.5). Установленные нарушения содержания и соотношения липидного спектра, в первую очередь, снижение содержания мембранных ФЛ и СМ, составляющих основу двойного липидного каркаса клеточной мембраны и играющих основную роль в упорядочивании

белковых макромолекул и нормальном метаболизме эритроцитов [24], наряду с изменениями архитектоники белков, несомненно изменяют внутриклеточный метаболизм и функциональные свойства эритроцитов периферической крови.

Возможной причиной нарушений белково-липидной мембраны эритроцитов при ОДП и ХАИ является интенсификация свободнорадикальных процессов, результатом чего является возрастание их чувствительности к перекисным процессам [9]. Усиление процессов ПОЛ в клеточных мембранах приводит к уплотнению либо деструкции липидного бислоя, увеличению его вязкости, уменьшению площади белок-липидных контактов, нарушению функциональной активности белков, в том числе ферментов, изменению мембранной проницаемости и поверхностного заряда, нарушению функционального состояния мембранно-рецепторного комплекса [3, 19, 22, 24].

Таблица 1

Содержание белков в мембране эритроцитов при ОДП на фоне интоксикации этанолом (Ме (k25%; k75%))

Показатели	1	2	3	4	5
	Контроль	ОДП	Этанол – 5 дней и ОДП	Этанол – 30 дней и ОДП	Этанол – 60 дней и ОДП
α -спектрин	108,3 [103,1; 112,3]	91,2 ^{*1} [89,3; 94,4]	92,1 ^{*1} [90,3; 95,5]	90,4 ^{*1} [87,7; 92,5]	82,1 ^{*1-4} [79,3; 85,6]
β -спектрин	103,1 [97,8; 106,4]	101,2 [98,8; 103,5]	100,7 [98,8; 103,6]	88,2 ^{*1-3} [85,6; 90,1]	86,3 ^{*1-3} [83,2; 90,0]
Анкирин	89,0 [85,2; 94,1]	81,2 ^{*1} [78,5; 85,7]	80,2 ^{*1} [79,5; 83,0]	81,2 ^{*1} [78,8; 83,0]	75,2 ^{*1-4} [72,1; 78,4]
АТБ	171,6 [170,2; 173,3]	173,3 [170,3; 176,9]	162,0 ^{*1,2} [160,9; 165,4]	161,8 ^{*1,2} [158,6; 163,4]	160,2 ^{*1,2} [157,7; 163,1]
4.1	70,4 [68,0; 72,8]	69,1 [66,6; 72,2]	66,3 [64,4; 70,0]	81,2 ^{*1-3} [77,9; 83,7]	88,3 ^{*1-4} [85,5; 91,6]
Паллидин	92,1 [89,9; 95,0]	89,2 [85,5; 92,3]	89,7 [86,1; 91,8]	102,4 ^{*1-3} [99,3; 105,0]	100,1 ^{*1-3} [97,4; 103,1]
4.5	79,8 [77,1; 81,8]	75,0 [72,1; 77,9]	76,2 [74,4; 79,8]	85,4 ^{*1-3} [82,6; 87,1]	84,5 ^{*1-3} [81,2; 87,5]
Дематин	91,2 [88,5; 94,0]	91,1 [89,8; 94,0]	92,5 [90,8; 95,6]	102,3 ^{*1-3} [99,3; 104,8]	104,4 ^{*1-3} [101,4; 107,8]
Актин	88,1 [86,4; 90,3]	75,1 ^{*1} [72,8; 78,4]	74,1 ^{*1} [72,2; 77,4]	75,4 ^{*1} [72,3; 77,8]	69,2 ^{*1-4} [66,5; 72,3]
Г-3-ФД	54,3 [52,5; 57,8]	45,2 ^{*1} [42,2; 48,3]	47,4 ^{*1} [45,0; 50,3]	45,3 ^{*1} [42,3; 47,9]	44,0 ^{*1} [41,8; 47,1]
Тропомиозин	63,7 [61,8; 66,3]	60,7 [57,7; 63,5]	60,4 [58,7; 63,2]	72,3 ^{*1} [68,8; 75,0]	85,0 ^{*1-4} [82,6; 88,0]
Г-S-T	61,2 [58,8; 64,1]	52,1 ^{*1} [49,6; 55,2]	55,5 ^{*1} [52,4; 58,5]	50,2 ^{*1-3} [47,9; 53,3]	42,4 ^{*1-4} [39,8; 45,2]

Примечание: В этой и последующей таблице звездочкой отмечены достоверные отличия медиан ($p < 0,05$), в скобках указаны проценты 25% и 75%; цифры рядом со звездочкой – по отношению к показателям какой группы даны отличия; единицы измерения показателей в таблицах 1 и 2 – мг%

Таблица 2

Содержание липидов в мембране эритроцитов при ОДП на фоне интоксикации этанолом (Ме (k25%; k75%))

Показатели	1	2	3	4	5
	Контроль	ОДП	Этанол – 5 дней и ОДП	Этанол – 30 дней и ОДП	Этанол – 60 дней и ОДП
ФХ	24,0 [23,0; 26,3]	22,8 ^{*1} [20,8; 25,7]	21,4 ^{*1,2} [19,6; 23,2]	21,5 ^{*1,2} [20,1; 23,2]	20,1 ^{*1-4} [18,2; 21,6]
ЛФХ	3,9 [3,7; 4,2]	4,2 ^{*1} [3,8; 4,6]	4,9 ^{*1,2} [3,0; 6,8]	5,5 ^{*1-3} [4,8; 6,5]	6,2 ^{*1-4} [5,8; 6,7]
ФЭ	24,6 [22,3; 27,1]	23,0 ^{*1} [20,6; 24,8]	23,1 ^{*1} [19,8; 25,1]	21,8 ^{*1-3} [20,2; 22,8]	21,6 ^{*1-3} [19,5; 23,6]
ФС	19,7 [19,4; 20,0]	18,7 [16,9; 20,4]	18,6 [18,1; 19,8]	18,1 ^{*1} [16,6; 18,8]	18,3 ^{*1} [16,9; 19,5]
ФИ	4,6 [4,2; 5,1]	4,4 ^{*1} [4,1; 4,7]	4,1 ^{*1,2} [3,8; 4,5]	4,0 ^{*1,2} [3,7; 4,4]	3,3 ^{*1-4} [2,9; 3,7]
ГФЛ	76,6 [73,2; 79,8]	73,1 [70,2; 75,5]	72,1 ^{*1} [69,8; 75,0]	74,5 [70,2; 76,0]	69,5 ^{*1-4} [67,6; 71,4]
СМ	12,2 [10,3; 14,8]	11,2 ^{*1} [10,0; 12,9]	10,4 ^{*1,2} [9,6; 11,4]	8,7 ^{*1-3} [7,2; 10,2]	7,3 ^{*1-4} [5,8; 8,8]
ФЛ	88,6 [82,1; 90,4]	84,3 [80,9; 86,5]	82,5 ^{*1} [78,7; 85,3]	83,2 ^{*1} [79,6; 86,8]	76,8 ^{*1-4} [73,9; 78,6]
Х	44,8 [41,6; 46,1]	48,0 ^{*1} [45,4; 49,8]	50,3 ^{*1,2} [38,8; 52,7]	55,1 ^{*1-3} [52,6; 57,7]	61,8 ^{*1-4} [58,6; 64,4]
ЭХ	40,0 [37,4; 41,7]	39,7 [37,4; 42,0]	40,1 [37,2; 42,5]	44,6 ^{*1-3} [42,3; 46,7]	44,1 ^{*1-3} [42,2; 46,3]
ТАГ	14,5 [12,5; 15,9]	15,9 ^{*1} [13,8; 16,7]	16,3 ^{*1} [14,7; 17,2]	12,6 ^{*1-3} [11,2; 14,1]	12,3 ^{*1-3} [10,7; 13,9]
ДАГ+МАГ	9,6 [9,2; 10,1]	10,6 ^{*1} [9,7; 11,5]	10,6 ^{*1} [7,2; 11,1]	8,2 ^{*1-3} [6,8; 9,6]	8,3 ^{*1-3} [8,0; 8,6]
НЭЖК	2,9 [2,7; 3,2]	3,1 ^{*1} [2,8; 3,4]	3,4 ^{*1,2} [3,3; 3,7]	3,9 ^{*1-3} [3,6; 4,3]	4,2 ^{*1-4} [3,8; 4,6]

Кроме этого, при остром панкреатите различной этиологии значительно изменяются структурно-функциональные свойства эритроцитов с изменением, в том числе, и их сорбционной способности [12, 18]. Сочетание интоксикации этанолом и ОДП усугубляет развитие метаболической иммуносупрессии [6, 11] и, что установлено в данной работе, существенно нарушает содержание и соотношение белков и липидов мембраны эритроцитов периферической крови, что в целом может привести к значительно осложненному течению острого панкреатита, развитию осложнений и увеличению смертности.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Алябьева Ф.Б., Крахмаль Н.В., Арбыкин Ю.А., Серебров Т.В., Поверин С.В., Вогнерубов Р.Н. Морфофункциональные изменения внутренних органов и некоторых биохимических показателей в динамике острой алкогольной интоксикации // Сибирский медицинский журнал (Томск). – 2012. – Т. 27, № 3. – С. 127-130. [Alyabyev F.V., Krakhmal N.V., Arbykin, Yu.A., Serebrov T.V., Pov-

erinov S.N., Vognerubov R.N. The morphofunctional changes in internal organs and biochemical indicators during acute alcohol intoxication. Sibirskiy meditsinskiy zhurnal (Tomsk). 2012; 27 (3): 127-130 (in Russ.).]

2. Алябьев Ф.В., Серебров Т.В., Кан Т.А., Любина Т.А., Чесалов Н.П., Белоусова О.А., Прибыткова Л.Н., Никулина О.А. Динамика ультраструктурных изменений печени при тяжелой алкогольной интоксикации // Врач-аспирант. – 2017. – Т. 85, № 6. – С. 64-68. [Alyabyev F.V., Serebrov T.V., Kan T.A., Lubina T.A., Chesalov N.P., Belousova O.A., Pribytkova L.N., Nikulina O.A. Dynamics of ultrastructural changes of liver due to severe alcohol intoxication. Vrach-aspirant. 2017; 85 (6): 64-68 (in Russ.).]
3. Боровская М.К., Кузнецова Э.Э., Горихова В.Г., Корякина Л.Б., Курильская Т.Е., Пивоваров Ю.И. Структурно-функциональная характеристика мембраны эритроцита и ее изменение при патологиях разного генеза // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 2010. – Т. 73, № 3. – С. 334-354. [Borovskaya M.K., Kuznetsov E.E., Gorokhova V.G., Koriakina L.B., Kuril'skaya T.E., Pivovarov Ju.I. Structural and functional characteristics of membrane's erythrocyte and its change at pathologies of various genesis. Byulleten' Vostochno-Sibirskogo nauchnogo tsentra Sibirskogo

- otdeleniya Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk. 2010; 73 (3): 334-354 (in Russ.)).
4. Брагов М.Ю., Жук И.Г., Кумова И.В. Острый деструктивный панкреатит: современное состояние проблемы (обзор литературы) // Журнал ГрГМУ. 2007. – Т. 20, № 4. – С. 15-19. [Bragov M.Yu., Zhuk I.G., Kumova I.V. Acute destructive pancreatitis: current state of the problem. Zhurnal Grodnenskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta. 2007; 20 (4): 15-19 (in Russ.)].
5. Бушмина О.Н., Долгарева С.А., Локтионов А.Л., Конопля А.И. Метаболические нарушения в условиях экспериментального острого деструктивного панкреатита и воздействия этанола // Системный анализ и управление в биомедицинских системах. – 2015. – Т. 14, № 3. – С. 396-404. [Bushmina O.N., Dolgareva S.A., Loktionov A.L., Konoplya A.I. Metabolic disturbances in the conditions of the experimental acute destructive pancreatitis and influence of ethanol. Sistemnyy analiz i upravleniye v biomeditsinskikh sistemakh. 2015; 14 (3): 396-404 (in Russ.)].
6. Винник Ю.С., Дунаевская С.С., Антюфриева Д.А. Риск развития осложнений при остром алкоголь-ассоциированном панкреатите // Новости хирургии. – 2012. – Т. 20, № 4. – С. 38-41. [Vinnik Yu.S., Dunaevskaya S.S., Antufrieva D.A. Risk of complications development at alcohol-related acute pancreatitis. Novosti Khirurgii. 2012; 20 (4): 38-41 (in Russ.)].
7. Газатов Н.Д., Юрова К.А., Гаврилов Д.В., Литвинова Л.С. Оценка кислородзависимой цитотоксичности фагоцитирующих клеток у больных алкогольным фиброзом печени // Цитокины и воспаление. – 2017. – Т. 16, № 3. – С. 33-35. [Gazatova N.D., Yurova K.A., Gavrilov D.V., Litvinova L.S. Assessment of oxygen-dependent cytotoxicity of phagocytic cells from patients with alcoholic fibrosis of the liver. Tsitokiny i vospaleniye. 2017; 16 (3): 33-35 (in Russ.)].
8. Дарвин В.В., Онищенко С.В., Краснов Е.А., Васильев В.В., Лысак М.М., Климова Н.В. Острый деструктивный панкреатит: современное хирургическое лечение // Анналы хирургической гепатологии. – 2014. – Т. 19, № 4. – С. 76-82. [Darvin V.V., Onischenko S.V., Krasnov E.A., Vasiliev V.V., Lysak M.M., Klimova N.V. Acute necrotizing pancreatitis: modern surgical treatment. Annaly khirurgicheskoy gepatologii. 2014; 19 (4): 76-82 (in Russ.)].
9. Ильиных Т.Ю., Галян С.Л., Кадочников Д.Ю., Баранов В.Н. Влияние комбинированной анестезии на развитие окислительного стресса эритроцитов в зависимости от режима перфузии при операциях аортокоронарного шунтирования // Вестн. Рос. воен.-медицин. акад. – 2014. – Т. 47, № 3. – С. 45-48. [Ilyinykh T.Yu., Galyan S.L., Kadochnikov D.Yu., Baranov V.N. Influence of combined anesthesia on the development of oxidative stress in erythrocytes depending on mode of perfusion bypass surgery. Vestnik Rossiyskoy voyenno-meditsinskoy akademii. 2014; 47 (3): 45-48 (in Russ.)].
10. Коненков В.И., Рачковская Л.Н., Летагин А.Ю., Суслов Н.И., Шурлыгина А.В., Робинсон М.В., Королев М.А., Котлярова А.А., Попова Т.В., Рачковский Э.Э., Поветьева Т.Н., Шилова Н.В., Нестерова Ю.В., Афанасьева О.Г., Кульпин П.В. Влияние комплекса лития цитрата, полиметилсилоксана и оксида алюминия на условно-рефлекторное поведение intactных мышей при кофеиновой и алкогольной интоксикации // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2017. – Т. 103, № 10. – С. 1125-1134. [Konenkov V.I., Rachkovskaya L.N., Letagin A.Yu., Suslov N.I., Shurlugina A.V., Robinson M.V., Korolev M.A., Kotlyarova A.A., Popova T.V., Rachkovsky E.E., Povet'eva T.N., Shilova N.V., Nesterova Yu.V., Afanas'eva O.G., Kul'pin P.V. The influence of the complex of lithium citrate, polymethylsiloxane and aluminum oxide on conditional reflector behavior of intact mice and mice with caffeine and alcohol intoxication. Rossiyskiy fiziologicheskiy zhurnal im. I.M. Sechenova. 2017; 103 (10): 1125-1134 (in Russ.)].
11. Конопля А.И., Бушмина О.Н., Локтионова И.Л., Чуева Т.В. Иммуномодуляторы, антиоксиданты, гепатопротекторы при экспериментальном деструктивном остром панкреатите в условиях хронической алкогольной интоксикации // Научные ведомости Белгородского государственного университета. Медицина. Фармация. – 2015. – Т. 31, № 16 (213). – С. 141-148. [Konoplya A.I., Bushmina O.N., Loktionova A.V., Chueva T.V. Immunomodulators, antioxidants, membrane protectors in correction immunometabolic disturbances at the experimental destructive acute pancreatitis in conditions chronic drunkenness. Nauchnyye vedomosti Belgorodskogo gosudarstvennogo universiteta. Meditsina. Farmatsiya. 2015; 31 (16 (213)): 141-148 (in Russ.)].
12. Конопля А.И., Лазаренко В.А., Локтионов А.Л. Взаимосвязь иммунометаболических и эритроцитарных нарушений с этиологией острого панкреатита. – Курск : Изд-во ГОУ ВПО КГМУ Минздрава России, 2013. – 162 с. [Konoplya A.I., Lazarenko V.A., Loktionov A.L. Interrelation of immunometabolic and erythrocyte disorders with etiology of acute pancreatitis. Kursk : Izd-vo GOU VPO KGMU Minzdra-va Rossii; 2013: 162 (in Russ.)].
13. Конопля А.И., Локтионов А.Л., Дудка В.В., Долгарева С.А., Сорокин А.В., Бушмина О.Н. Хроническая интоксикация этанолом: метаболические изменения, коррекция нарушений // Токсикологический вестник. – 2015. – № 5. – С. 25-30. [Konoplya A.I., Loktionov A.L., Dudka V.V., Dolgareva S.A., Sorokin A.V., Bushmina O.N. Chronic intoxication with ethanol: metabolic changes, correction of disturbances. Toksikologicheskiy vestnik. 2015; (5): 25-30. (in Russ.)].
14. Крылов В.И., Виноградов А.Ф., Ефремова С.И. Метод тонкослойной хроматографии липидов мембран эритроцитов // Лаб. дело. – 1984. – № 4. – С. 205-206. [Krylov V.I., Vinogradov A.F., Efremova S.I. Thin-layer chromatography of erythrocyte membranes lipids. Laboratornoye delo. 1984; (4): 205-206 (in Russ.)].
15. Летуновский А.В. Метаболические изменения в печени при экспериментальном алкогольном панкреатите и их коррекция // Кубан. науч. медицин. вестн. – 2011. – Т. 6, № 129. – С. 90-94.

- [Letounovski A.V. Metabolic changes in liver at experimental alcoholic pancreatitis and their correction. Kubanskiy nauchnyy meditsinskiy vestnik. 2011; 6 (129): 90-94 (in Russ.)].
16. Локтионов А.Л., Конопля А.И., Евсегнеева И.В. Острый панкреатит как клинико-иммунологическая проблема (обзор литературы) // Физиология и патология иммунной системы. Иммунофармакогенетика. – 2013. – Т. 17, № 11. – С. 3-17. [Loktionov A.L., Konoplya A.I., Evsegneyeva I.V. Acute pancreatitis as a clinical and immunological problem (literature review). Fiziologiya i patologiya immunnnoy sistemy. Immunofarmakogenetika. 2013; 17 (11): 3-17 (in Russ.)].
 17. Пахомова Р.А., Винник Ю.С., Кочетова Л.В., Нагорнов Ю.С. Морфофункциональное состояние эритроцитов при доброкачественной механической желтухе // Вестник хирургии имени И.И. Грекова. – 2017. – Т. 176, № 4. – С. 22-26. – DOI:10.24884/0042-4625-2017-176-4-22-26 [Pakhomova R.A., Vinnik Y.S., Kochetova L.V., Nagornov Y.S. Morphofunctional state of erythrocytes in benign obstructive jaundice. Vestnik khirurgii imeni I.I. Grekova. 2017; 176 (4): 22-26 (in Russ.)].
 18. Породенко В.А., Травенко Е.В., Быстрова Е.И., Корхмазов В.Т., Ильина А.В. Гистоморфологические исследования в диагностике алкогольных интоксикаций // Кубанский научный медицинский вестник. – 2012. – № 5. – С. 137-140. [Porodenko V.A., Travenko E.N., Bystrova E.I., Korhmazov V.T., Ilyin A.V. Histomorphological studies in the diagnosis alcohol intoxication. Kubanskiy nauchnyy meditsinskiy vestnik. 2012; (5): 137-140 (in Russ.)].
 19. Прокопьева В.Д., Ярыгина Е.Г., Коротенко Н.М., Бойко А.С., Бохан Н.А., Иванова С.А. Показатели антиоксидантной системы и дофамина плазмы крови в динамике микроволновой резонансной терапии у больных алкоголизмом // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2017. – Т. 117, № 9. – С. 67-70. [Prokopyeva V.D., Yarygina E.G., Krotenko N.M., Boiko A.S., Bokhan N.A., Ivanova S.A. Indices of the antioxidant system and dopamine in blood plasma in the dynamics of microwave resonance therapy in patients with alcoholism. Zhurnal nevrologii i psikiatrii im. S.S. Korsakova. 2017; 117 (9): 67-70. (in Russ.)].
 20. Сазонтова Т.Г., Стряпко Н.В., Архипенко Ю.В. Коррекция нарушений, вызванных длительной алкоголизацией, с помощью гипоксии-гипероксии // Бюл. экспер. биол. и медицины. – 2016. – Т. 162, № 11. – С. 573-577. [Sazontova T.G., Stryapko N.V., Arkhipenko Yu.V. Correction of disorders caused by prolonged alcoholization, with the help of hypoxia-hyperoxia. Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny. 2016; 162 (11): 573-577 (in Russ.)].
 21. Сиволан Ю.П. Связанные с употреблением алкоголя расстройства: новые подходы к диагностике и лечению // Журн. неврологии и психиатрии – 2015. – № 9. – С. 23-27. [Sivolap Y.P. Alcohol use disorders: current approaches to diagnosis and treatment. Zhurnal nevrologii i psikiatrii. 2015; (9): 23-27 (in Russ.)].
 22. Шишкина Л.Н., Шевченко О.Г. Липиды эритроцитов крови и их функциональная активность // Успехи современ. биол. – 2010. – Т. 130, № 6. – С. 587-602. [Shishkina L.N., Shevchenko O.G. Lipids of blood erythrocytes and their functional activity. Uspekhi sovremennoy biologii. 2010; 130 (6): 587-602 (in Russ.)].
 23. Dodge G.T., Mitchell C., Hanahan D.J. The preparation and chemical characteristics of hemoglobin free ghosts of human erythrocytes // Arch. Biochem. Biophys. – 1963. – Vol. 100. – P. 119-30.
 24. Lang F., Qadri S.M. Mechanism and significance eryptosis, the suicidal death of erythrocytes. // Blood Purify. – 2012. – Vol. 33, N 1-3. – P. 125-130. – DOI: 10.1159/000334163.
 25. Laemli U.K. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4 // Nature. – 1970. – Vol. 227, N 5259. – P. 680-685.

АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА РАСТИТЕЛЬНЫХ ЭКСТРАКТОВ И ИХ КОМБИНАЦИЙ С АНТИБИОТИКАМИ В ОТНОШЕНИИ ЭКСТРЕМАЛЬНО-АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

© Тапальский Д.В.¹, Тапальский Ф.Д.²

¹ Гомельский государственный медицинский университет, Гомель, Беларусь

² Витебский государственный медицинский университет, Витебск, Беларусь

E-mail: tapalskiy@gsmu.by

Определены минимальные подавляющие концентрации (МПК) водных настоев 17 официальных лекарственных растений в отношении антибиотикочувствительных экстремально-антибиотикорезистентных изолятов *Pseudomonas aeruginosa* и *Acinetobacter baumannii*. Обнаружена выраженная антибактериальная активность (МПК < 1 мг/мл) водных экстрактов брусники (*Vaccinium vitis-idaea*), эвкалипта (*Eucalyptus viminalis*), дуба (*Quercus robur*), толокнянки (*Arctostaphylos uva-ursi*). При сочетанном воздействии на микробную клетку водные растительные экстракты не оказывали значимого влияния на антибактериальную активность аминогликозидов, карбапенемов и фторхинолонов. Выявлен универсальный дозозависимый антагонистический эффект растительных экстрактов на микробиологическую эффективность колистина в отношении *A. baumannii* и *P. aeruginosa*. Выявлен синергидный антибактериальный эффект (ΣФПК 0,25-0,50) комбинации водного экстракта эвкалипта и цефтазидима в отношении 29,2% экстремально-антибиотикорезистентных штаммов *A. baumannii*, продуцирующих ОХА-карбапенемазы.

Ключевые слова: *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, лекарственные растения, антибиотики, антибактериальная активность, синергизм.

ANTIBACTERIAL EFFECTS OF HERBAL EXTRACTS AND THEIR COMBINATIONS WITH ANTIBIOTICS IN RELATION TO EXTENSIVELY ANTIBIOTIC-RESISTANT MICROORGANISMS

Tapalski D.V.¹, Tapalski F.D.²

¹ Gomel State Medical University, Gomel, Belarus; ² Vitebsk State Medical University, Vitebsk, Belarus

Minimal inhibitory concentrations (MICs) of 17 officinal aqueous medicinal herbal extracts in regard to antibiotic-sensitive and extensively antibiotic-resistant *P. aeruginosa* and *A. baumannii* isolates were determined. The expressed antibacterial activity (MIC < 1 mg/mL) was found for aqueous cowberry (*Vaccinium vitis-idaea*), eucalyptus (*Eucalyptus viminalis*), oak (*Quercus robur*), and bearberry (*Arctostaphylos uva-ursi*) extracts. Aqueous herbal extracts did not influence significantly the antibacterial activity of aminoglycosides, carbapenems and fluoroquinolones during their combined action on a microbial cell. A universal dose-dependent antagonistic effect of herbal extracts on the colistin microbiological efficacy in relation to *A. baumannii* and *P. aeruginosa* was revealed. A synergistic antibacterial effect (ΣFIC 0.25-0.50) of the combination of aqueous eucalyptus extract with the ceftazidime against 29.2% of OXA-carbapenemase producing *A. baumannii* strains was detected.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, medicinal herbs, antibiotics, antibacterial activity, synergism.

P. aeruginosa и *A. baumannii* относятся к наиболее частым возбудителям инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи. Важной особенностью этих микроорганизмов является способность к быстрому формированию устойчивости к большинству антимикробных препаратов (АМП) [1, 3] с формированием состояния экстремальной антибиотикорезистентности (XDR – extensively drug resistance, нечувствительность по крайней мере к одному АМП во всех категориях АМП, за исключением 1-2 категорий) и панрезистентности (PDR – pandrug resistance, нечувствительность ко всем АМП во всех категориях) [11]. Важной причиной развития XDR является продукция карбапенемаз (карбапенемазы ОХА-23, ОХА-40, ОХА-56 у *A. baumannii*, металло-β-лактамазы VIM и IMP у *P. aeruginosa*). Продукция карбапенемаз как правило, ассоциирована с

устойчивостью к большинству не β-лактамных АМП, за исключением полимиксинов [2].

Ведется поиск и изучение свойств антибактериальных веществ растительного происхождения, активных в отношении антибиотикорезистентных бактерий, особенно в странах с развитой традиционной медициной [4]. Разработана методология скрининга растительного лекарственного сырья на присутствие микробиологически активных соединений [6]. Изучается возможность использования фитотерапии для лечения инфекций, вызванных XDR-патогенами [7, 16]. Показана бактерицидная активность ряда растительных экстрактов в отношении штаммов *P. aeruginosa* и *A. baumannii* с множественной устойчивостью к АМП [5, 9, 12]. Одним из перспективных направлений является изучение фармакодинамических взаимодействий вторичных метаболитов расте-

ний с антибактериальной активностью и АМП. Описан ряд сочетаний растительных экстрактов и АМП, оказывающих синергидный (взаимно усиливающий) эффект при совместном воздействии на бактериальную клетку [5, 14].

Цель работы – оценить антибактериальную активность официальных лекарственных растений в отношении XDR грамотрицательных бактерий и выявить комбинации АМП и растительных экстрактов, обладающих синергидной активностью.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследование включено 17 наименований официальных лекарственных растений в виде сухого измельченного растительного сырья, приобретенных в аптечной сети (таблица 1).

Для приготовления настоев к 10 г растительного сырья добавляли 100 мл дистиллированной воды, флаконы кипятили на водяной бане в течение 10 мин и охлаждали 45 мин при комнатной температуре. Настои фильтровали через марлевый и бумажный фильтры, затем проводили стерилизующую фильтрацию с помощью фильтров Filtropur S 0,45 (Sarstedt, Германия). До выполнения микробиологических исследований настои хранили при 6°C не более 24 ч. Для определения суммарной концентрации растворенных веществ в полученных настоях проводили выпаривание 10 мл настоя в течение 12 ч при 44°C с последующим взвешиванием полученного сухого водного экстракта на аналитических весах.

В исследование включены контрольные

штаммы микроорганизмов *Escherichia coli* ATCC 25922 и *P. aeruginosa* ATCC 27853, а также 2 антибиотикочувствительных и 32 XDR изолята *P. aeruginosa* и *A. baumannii*.

Определение минимальных подавляющих концентраций (МПК) и минимальных бактерицидных концентраций (МБК) водных растительных экстрактов проводили методом последовательных микроразведений в бульоне Мюллера-Хинтона. Готовили 11-серийных двукратные разведения в лунках 96-луночных планшетов и вносили стандартизованные по оптической плотности суспензии тестируемых бактериальных культур (конечная концентрация 10^6 клеток/мл). Планшеты закрывали крышками, помещали в герметичные полиэтиленовые пакеты и инкубировали 18 ч – 35°C с постоянным орбитальным встряхиванием 90 об/мин (шейкер-инкубатор ES-20, Biosan, Латвия).

Учет МПК выполняли визуально по отсутствию видимого роста микроорганизмов. Для определения МБК делали высев 10 мкл из каждой лунки на сектор плотной питательной среды (ГРМ-агар), чашки инкубировали в течение 16-18 ч при 35°C и оценивали рост на плотной среде. Минимальную концентрацию водного экстракта, подавляющую бактериальный рост на 99,9% (отсутствие роста или рост не более 1 колонии микроорганизмов в секторе), указывали как МБК.

Для растительных экстрактов с выраженной антибактериальной активностью (МПК ≤ 1 мг/мл [17]) оценивали эффективность сочетанного воздействия в комбинациях с АМП на XDR штаммы

Таблица 1
Образцы растительного сырья, включенные в исследование

№ п/п	Видовое название	Часть растения	Производитель
1	Багульник болотный (<i>Ledum palustre</i>)	побеги	ООО «Падис'с», Беларусь
2	Береза белая (<i>Betula alba</i>)	почки	ООО «НПК Биотест», Беларусь
3	Брусника обыкновенная (<i>Vaccinium vitis-idaea</i>)	листья	ЗАО «БелАсептика», Беларусь
4	Дуб обыкновенный (<i>Quercus robur</i>)	кора	ООО «НПК Биотест», Беларусь
5	Душица обыкновенная (<i>Origanum vulgare</i>)	травы	ООО «Калина», Беларусь
6	Зверобой продырявленный (<i>Hypericum perforatum</i>)	травы	ООО «НПК Биотест», Беларусь
7	Календула лекарственная (<i>Calendula officinalis</i>)	цветки	ООО «Калина», Беларусь
8	Можжевельник обыкновенный (<i>Juniperus communis</i>)	плоды	ООО «НПК Биотест», Беларусь
9	Мята перечная (<i>Mentha piperita</i>)	листья	ООО «НПК Биотест», Беларусь
10	Подорожник большой (<i>Plantago major</i>)	листья	ООО «НПК Биотест», Беларусь
11	Ромашка аптечная (<i>Chamomilla recutita</i>)	цветки	ООО «НПК Биотест», Беларусь
12	Толокнянка обыкновенная (<i>Arctostaphylos uva-ursi</i>)	листья	ООО «НПК Биотест», Беларусь
13	Тысячелистник обыкновенный (<i>Achillea millefolium</i>)	травы	ООО «Падис'с», Беларусь
14	Хвощ полевой (<i>Equisetum arvense</i>)	травы	ООО «НПК Биотест», Беларусь
15	Чабрец (тимьян ползучий) (<i>Thymus serpyllum</i>)	травы	ООО «НПК Биотест», Беларусь
16	Шалфей лекарственный (<i>Salvia officinalis</i>)	листья	ООО «НПК Биотест», Беларусь
17	Эвкалипт прутовидный (<i>Eucalyptus viminalis</i>)	листья	ООО «Алтайфарм», Россия

A. baumannii и *P. aeruginosa*. В расплавленный и остуженный до 45°C агар Мюллера-Хинтона вносили растительные экстракты для обеспечения концентрации 1/4 от МПК и 1/8 от МПК. Полученные среды разливали в полистироловые чашки Петри. В качестве контроля использовали чашки с МХА без добавления растительных экстрактов. Опытные и контрольные чашки инокулировали бактериальными суспензиями (0,5 МакФарланд) и автоматическим диспенсером наносили по 8 дисков с АМП (BD Sensi-Disc Susceptibility Test Discs, Becton Dickinson, США): амикацин 30 мкг, тобрамицин 30 мкг, имипенем 10 мкг, меропенем 10 мкг, цефтазидим 30 мкг, ципрофлоксацин 5 мкг, тигециклин 15 мкг, колистин 10 мкг.

После инкубации 18 ч при 35°C измеряли диаметры зон подавления роста вокруг дисков, сравнивали диаметры на опытных и контрольных чашках. При уменьшении диаметра зоны подавления роста вокруг диска с АМП в присутствии растительного экстракта на 3 мм и более по сравнению с контролем эффект взаимодействия считали антагонистическим, при увеличении на 3 мм и более – синергидным.

Для более точной количественной оценки выявленной синергидной активности проведено определение фракционных подавляющих концентраций (ФПК) АМП в присутствии растительного экстракта методом «шахматной доски» [18] в диапазоне концентраций от 1/16*МПК до 4*МПК. Заданные концентрации АМП и растительного экстракта готовились в бульоне Мюллера-Хинтона и в объеме 100 мкл вносились в 64 ячейки (8x8) стерильного полистиролового 96-луночного планшета (общий объем среды в каждой ячейке – 200 мкл), после чего планшет инокулировали суспензией исследуемой культуры (конечная концентрация микробных клеток $\approx 5 \cdot 10^5$ клеток/мл) и инкубировали в течение 18 часов при 35°C в шейкере-инкубаторе с непрерывным низкоамплитудным встряхиванием. Учет результатов проводили по сравнению с контролем (рост в ячейке со средой, не содержащей АМП). Рассчитывали ФПК для АМП и растительного экстракта в комбинации:

$$\text{ФПК}_A = \text{МПК}_{AЭ} / \text{МПК}_A$$

$$\text{ФПК}_Э = \text{МПК}_{ЭА} / \text{МПК}_Э$$

где $\text{МПК}_{AЭ}$ – МПК АМП в присутствии растительного экстракта, МПК_A – МПК АМП без добавления растительного экстракта, $\text{МПК}_{ЭА}$ – МПК растительного экстракта в присутствии АМП, $\text{МПК}_Э$ – МПК растительного экстракта без добавления АМП.

Индекс ФПК рассчитывался как сумму ФПК:

$$\Sigma \text{ФПК} = \text{ФПК}_A + \text{ФПК}_Э$$

При $\Sigma \text{ФПК} \leq 0,5$ эффект комбинации оценивался как синергидный, при $0,5 < \Sigma \text{ФПК} \leq 1$ – как

аддитивный, при $1 < \Sigma \text{ФПК} \leq 4$ – как нейтральный.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Выраженная антибактериальная активность ($\text{МПК} \leq 1$ мг/мл) в отношении как XDR, так и антибиотикочувствительных изолятов *P. aeruginosa* и *A. baumannii* выявлена для водного экстракта брусники обыкновенной (МПК 0,35-0,78 мг/мл). Экстракты эвкалипта прутовидного и дуба обыкновенного проявляли выраженную антибактериальную активность в отношении клинических XDR изолятов *P. aeruginosa* (МПК 0,63-0,75 мг/мл). Водный экстракт толокнянки обыкновенной подавлял рост всех включенных в исследование изолятов *A. baumannii* (МПК 0,38-0,78 мг/мл). Экстракты брусники обыкновенной, эвкалипта прутовидного, дуба обыкновенного, толокнянки обыкновенной также оказывали выраженное антибактериальное действие на контрольную культуру *E. coli* ATCC 25922 (МПК 0,38-0,75 мг/мл). Для остальных экстрактов отмечена меньшая выраженность антибактериальных свойств ($\text{МПК} > 1$ мг/мл). Минимальные бактерицидные концентрации для большинства растительных экстрактов были равны МПК или отличались от нее не более чем на одно разведение.

Исследование сочетанного воздействия в комбинациях с АМП выполнено для 4 растительных экстрактов с выявленной высокой антибактериальной активностью (экстракты брусники обыкновенной, эвкалипта прутовидного, дуба обыкновенного, толокнянки обыкновенной). Данные экстракты в концентрациях 1/4 и 1/8 от МПК не оказывали значимого влияния на активность аминогликозидов (амикацин, тобрамицин), карбапенемов (имипенем, меропенем) и фторхинолонов (ципрофлоксацин). Все водные экстракты оказывали универсальный антагонистический эффект на антибактериальную активность колистина в отношении всех штаммов *P. aeruginosa* и *A. baumannii*, что может объясняться ограничениями диско-диффузионного метода. Большая молекулярная масса полимиксинов (969 для колистина) затрудняет диффузию АМП в питательной среде. Компоненты растительных экстрактов могут оказывать модифицирующее воздействие на структуру входящего в состав среды агар-агара и замедлять диффузию колистина.

В отношении XDR штаммов *A. baumannii* БА-026 и *A. baumannii* БА-032 выявлен синергидный эффект комбинации цефтазидима и водных растительных экстрактов, наиболее выраженный для водного экстракта эвкалипта прутовидного (таблица 2).

Таблица 2

Эффекты сочетанного воздействия экстракта эвкалипта прутовидного и цефтазидима на микроорганизмы

	Диаметр зоны подавления роста, мм			Эффект взаимодействия
	1/4 МПК	1/8 МПК	контроль	
<i>A. baumannii</i> БА-026	16	13	9	С
<i>A. baumannii</i> БА-032	17	15	10	С
<i>P. aeruginosa</i> БП-056	23	25	25	Н
<i>P. aeruginosa</i> БП-074	25	30	27	Н
<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	30	30	30	Н

Примечание: Н – нейтральный эффект, С – синергидный эффект.

Таблица 3

Эффекты сочетанного воздействия экстракта эвкалипта прутовидного и цефтазидима на XDR клинические изоляты *A. baumannii*

№ п/п	Микро-организм	Лаб. №	Карба-пенемаза	Цефтазидим, диаметр зон подавления роста (мм)		Характер взаимодействия	ΣФПК
				эвкалипт, 1/8 МПК	контроль		
1	<i>A. baumannii</i>	БА-005	ОХА-40	8	6	Н	
2	<i>A. baumannii</i>	БА-006	ОХА-40	26	22	Н	
3	<i>A. baumannii</i>	БА-007	ОХА-40	14	11	С	0,50
4	<i>A. baumannii</i>	БА-011	ОХА-40	6	6	Н	
5	<i>A. baumannii</i>	БА-012	ОХА-40	6	6	Н	
6	<i>A. baumannii</i>	БА-026	ОХА-40	12	6	С	0,25
7	<i>A. baumannii</i>	БА-029	ОХА-40	6	6	Н	
8	<i>A. baumannii</i>	БА-032	ОХА-40	14	7	С	0,38
9	<i>A. baumannii</i>	А-010	ОХА-40	14	10	С	0,5
10	<i>A. baumannii</i>	А-019	ОХА-40	6	6	Н	
11	<i>A. baumannii</i>	А-034	ОХА-23 + ОХА-40	10	9	Н	
12	<i>A. baumannii</i>	А-036	ОХА-23 + ОХА-40	12	8	С	0,5
13	<i>A. baumannii</i>	А-041	ОХА-23	15	12	С	0,75
14	<i>A. baumannii</i>	А-042	ОХА-40	6	6	Н	
15	<i>A. baumannii</i>	А-047	ОХА-23	6	6	Н	
16	<i>A. baumannii</i>	А-049	ОХА-40	6	6	Н	
17	<i>A. baumannii</i>	А-050	ОХА-40	6	6	Н	
18	<i>A. baumannii</i>	А-053	ОХА-40	6	6	Н	
19	<i>A. baumannii</i>	А-054	ОХА-40	12	9	С	0,75
20	<i>A. baumannii</i>	А-057	ОХА-40	6	6	Н	
21	<i>A. baumannii</i>	А-059	ОХА-40	13	8	С	0,50
22	<i>A. baumannii</i>	А-065	ОХА-40	14	7	С	0,38
23	<i>A. baumannii</i>	А-075	ОХА-40	6	6	Н	
24	<i>A. baumannii</i>	А-076	ОХА-40	6	6	Н	

Примечание: Н – нейтральный эффект, С – синергидный эффект.

Для более детальной оценки эффективности синергидного взаимодействия водного настоя эвкалипта и цефтазидима из рабочей коллекции отобрано 24 штамма *A. baumannii*, устойчивых к большинству β-лактамов АПМ, включая карбапенемы. Все отобранные штаммы являлись

продуцентами ОХА-карбапенемаз (таблица 3). Синергидный эффект был выявлен для 9 из 24 штаммов (37,5%), при этом для 7 из них (29,2%) он подтвержден методом «шахматной доски» (ΣФПК 0,25-0,50).

Выявлен синергидный антибактериальный эффект (Σ ФПК 0,25-0,50) комбинации водного экстракта из эвкалипта прутовидного и цефтазида в отношении 29,2% XDR штаммов *A. baumannii*, продуцирующих ОХА-карбапенемазы. Отсутствие аналогичного влияния на активность карбапенемов позволяет предположить, что механизм обнаруженного эффекта не связан с блокированием ферментативной активности карбапенемаз, а вызван, скорее, восстановлением проницаемости клеточной стенки для АМП или блокированием эффлюксных систем в результате воздействия отдельных компонентов растительного экстракта.

В доступной литературе имеются многочисленные указания на выраженную антибактериальную активность экстрактов и эфирных масел, получаемых из листьев эвкалиптов различных видов [15]. В работе F.M. Reda выявлен синергидный антибактериальный эффект метанолового экстракта из листьев *E. camaldulensis* в сочетании с гентамицином или цефтриаксоном в отношении штаммов *S. aureus* и *P. aeruginosa*, антибактериальная активность в отношении *A. baumannii* авторами не исследовалась [14]. Заслуживает внимания выраженная бактерицидная активность дербенника иволистного (*Lythrum salicaria*) в отношении *A. baumannii* и *P. aeruginosa*, выявленная в работе E. Guclu [8]. Предложено использование экстрактов из *L. salicaria* для местной антисептической терапии при инфекциях кожи и мягких тканей, инфекций ожоговых ран, диабетической стопы, вызванных MDR и XDR грамотрицательными возбудителями. Известно, что *L. salicaria* широко используется в традиционной медицине еще с античных времен, в том числе перорально в виде настоев и отваров, например для лечения диареи, а также местно для лечения трофических язв и инфекционных поражений кожи [10].

В работе Y. Miyasaki скрининг антибактериальной активности 60 различных растений, выполненный методом микроразведений в бульоне, позволил выявить несколько экстрактов, высокоактивных в отношении MDR штаммов *A. baumannii*, в том числе экстракты харитаки (*Terminalia chebula*), шиповника морщинистого (*Rosa rugosa*) и шлемника байкальского (*Scutellaria baicalensis*) [12]. В дальнейшем при хроматографическом разделении веществ, входящих в состав растительных экстрактов, и определении антибактериальной активности каждой из фракций был выделен и идентифицирован норвогонин, МПК и МБК которого для клинически значимых XDR штаммов *A. baumannii* составили соответственно 0,128 мг/мл и 0,256 мг/мл. Норвогонин выделен из экстракта шлемника бай-

кальского – растения, используемого в традиционной медицине, в том числе в качестве местного антисептика [13]. Однако при изучении сочетанного воздействия норвогонина совместно с синтетическими АМП различных классов не обнаружено ни одной комбинации с синергидной антибактериальной активностью на антибиотикорезистентные штаммы *A. baumannii*.

Определенные в настоящем исследовании МПК водных экстрактов из нескольких растений Беларуси сопоставимы с МПК норвогонина для *A. baumannii* (0,128 мг/мл) [13], хотя и превышают ее в 3-6 раз. Так, МПК экстракта брусники обыкновенной и толокнянки обыкновенной составили для карбапенемаза-продуцирующих штаммов *A. baumannii* 0,35-0,78 мг/мл. Поскольку полученные экстракты представляют собой совокупность различных веществ, выделение из их состава вторичных метаболитов, обуславливающих антибактериальную активность, позволит получить антисептические препараты с более низкими значениями МПК для *A. baumannii* и других XDR грамотрицательных микроорганизмов.

Таким образом, МПК водных растительных экстрактов значительно (в десятки и сотни раз) превышают МПК АМП для антибиотикочувствительных штаммов. Однако в случае инфекций, вызванных XDR микроорганизмами с высокими значениями МПК АМП, можно рассматривать возможность проведения фитотерапии в качестве дополнения к проводимой системной антибиотикотерапии. При сочетанном воздействии на микробную клетку водные растительные экстракты не оказывают значимого влияния на антибактериальную активность аминогликозидов, карбапенемов и фторхинолонов. Только для комбинации водного экстракта эвкалипта прутовидного и цефтазида выявлен синергидный антибактериальный эффект в отношении некоторых XDR штаммов *A. baumannii*, продуцирующих ОХА-карбапенемазы.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Сухорукова М.В., Эйдельштейн М.В., Склеенова Е.Ю., Иванчик Н.В., Шек Е.А., Дехнич А.В., Козлов Р.С., исследовательская группа «МАРАФОН». Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов *Acinetobacter* spp. в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «МАРАФОН» 2013-2014 // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2017. – Т. 19, № 1. – С. 42-48. [Sukhorukova M.V., Edelstein M.V., Skleenova E.Yu., Ivanchik N.V., Shek E.A., Dekhnich A.V., Kozlov R.S., «MARATHON» study group. Antimicrobial resistance of nosocomial *Acinetobacter* spp. isolates in Russia: results of multicenter epidemiological study «MAR-

- ATHON» 2013-2014. Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya. 2017; 19 (1): 42-48. (in Russ.)).
2. Тапальский Д.В., Осипов В.А., Жаворонок С.В. Карбапенемазы грамотрицательных бактерий: распространение и методы детекции // Медицинский журнал. – 2012. – № 2. – С. 10-15. [Tapalski D.V., Osipov V.A., Zhavoronok S.V. Carbapenemases of gram-negative pathogens: spread and methods of detection. Meditsinskiy zhurnal. 2012; (2): 10-15. (in Russ.)].
3. Эйдельштейн М.В., Сухорукова М.В., Скленова Е.Ю., Иванчик Н.В., Микотина А.В., Шек Е.А., Дехнич А.В., Азизов И.С., Козлов Р.С. Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов *Pseudomonas aeruginosa* в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «МАРАФОН» 2013-2014 // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2017. – Т. 19, № 1. – С. 37-41. [Edelstein M.V., Sukhorukova M.V., Skleenova E.Yu., Ivanchik N.V., Mikotina A.V., Shek E.A., Dekhnich A.V., Azizov I.S., Kozlov R.S. «MARATHON» study group. Antimicrobial resistance of nosocomial *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Russia: results of multicenter epidemiological study «MARATHON» 2013-2014. Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya. 2017; 19 (1): 37-41 (in Russ.)].
4. Abdallah E.M. Plants: an alternative source for antimicrobials // Journal of Applied Pharmaceutical Science. – 2011. – Vol. 1, N 6. – P. 16-20.
5. Adwan G., Abu-Shanab B., Adwan K. Antibacterial activities of some plant extracts alone and in combination with different antimicrobials against multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains // Asian Pacific Journal of Tropical Medicine. – 2010. – Vol. 3, N 4. – P. 266-269. – DOI: 10.1016/S1995-7645(10)60064-8.
6. Das K., Tiwari R.K.S., Shrivastava D.K. Techniques for evaluation of medicinal plant products as antimicrobial agent: current methods and future trends // Journal of Medicinal Plants Research. – 2010. – Vol. 4, N 2 – P. 104-111. – DOI: 10.5897/JMPR09.03.
7. Djeussi D.E., Noumedem J.A., Seukep J.A., Fankam A.G., Voukeng I.K., Tankeo S.B., Nkuete A.H., Kuete V. Antibacterial activities of selected edible plants extracts against multidrug-resistant Gram-negative bacteria // BMC Complementary and Alternative Medicine. – 2013. – Vol. 13. – P. 164. – DOI: 10.1186/1472-6882-13-164.
8. Guclu E., Genc H., Zengin M., Karabay O. Antibacterial activity of *Lythrum salicaria* against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* // Annual Research and Review in Biology – 2014. – Vol. 4, N 7. – P. 1099-1105. – DOI: 10.9734/ARRB/2014/7357.
9. Heidary M., Hashemi A., Goudarzi H., Khoshnood S., Roshani M., Azimi H., Goudarzi M. The antibacterial activity of Iranian plants extracts against metallo beta-lactamase producing *Pseudomonas aeruginosa* strains // Journal of Paramedical Sciences. – 2016. – Vol 7, N 1. – P. 13-19. – DOI: 10.22037/jps.v7i1.11203.
10. Humadi S.S., Istudor V. *Lythrum salicaria* (purple loosestrife). Medicinal use, extraction and identification of its total phenolic compounds // FARMACIA. – 2009. – Vol. 57, N 2. – P. 192-200.
11. Magiorakos A.P., Srinivasan A., Carey R.B., Carmeli Y., Falagas M.E., Giske C.G., Harbarth S., Hindler J.F., Kahlmeter G., Olsson-Liljequist B., Pateron D.L., Rice L.B., Stelling J., Struelens M.J., Vatoopoulos A., Weber J.T., Monnet D.L. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance // Clinical Microbiology and Infection. – 2012. – Vol. 18, N 3. – P. 268-281. – DOI: 10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x.
12. Miyasaki Y., Nichols W.S., Morgan M.A., Kwan J.A., Van Benschoten M.M., Kittell P.E., Hardy W.D. Screening of herbal extracts against multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* // Phytotherapy Research. – 2010. – Vol. 24, N 8. – P. 1202-1206. – DOI: 10.1002/ptr.3113.
13. Miyasaki Y., Rabenstein J.D., Rhea J., Crouch M.-L., Mocek U.M., Kittell P.E., Morgan M.A., Nichols W.S., Van Benschoten M. M., Hardy W.D., Liu G.Y. Isolation and characterization of antimicrobial compounds in plant extracts against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* // PLoS One. – 2013. – Vol. 8, N 4. – Art. e61594. – DOI: 10.1371/journal.pone.0061594.
14. Reda F.M., El-Zawahry Y.A., Omar A.R. Synergistic effect of combined antibiotic and methanol extract of *Eucalyptus camaldulensis* leaf against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* // International Journal of Applied Sciences and Biotechnology. – 2017. – Vol 5, N 4. – P. 486-497. – DOI: 10.3126/ijasbt.v5i4.18620.
15. Sebei K., Sakouhi F., Herchi W., Khouja M.L., Boukhchina S. Chemical composition and antibacterial activities of seven *Eucalyptus* species essential oils leaves // Biological Research. – 2015. – Vol. 48, N 1. – P. 7. – DOI: 10.1186/0717-6287-48-7.
16. Srivastava J., Chandra H., Nautiya A.R., Kalra S.J.S. Antimicrobial resistance and plant-derived antimicrobials as an alternative drug line to control infections // 3 Biotech. – 2014. – Vol. 4, N 5 – P. 451-460. – DOI: 10.1007/s13205-013-0180-y.
17. Tegos G., Stermitz F.R., Lomovskaya O., Lewis K. Multidrug pump inhibitors uncover remarkable activity of plant antimicrobials // Antimicrobial Agents and Chemotherapy. – 2002. – Vol. 46, N 10. – P. 3133-3141. – DOI: 10.1128/AAC.46.10.3133-3141.2002.
18. White R.L., Burgess D.S., Manduru M., Bosso J.A. Comparison of three different in vitro methods of detecting synergy: time-kill, checkerboard, and E test // Antimicrobial Agents and Chemotherapy. – 1996. – Vol. 40, N 8. – P. 1914-1918.

ОСОБЕННОСТИ ТКАНЕВОЙ РЕАКЦИИ БРЮШНОЙ СТЕНКИ НА ИМПЛАНТАЦИЮ ЛЕГКОГО УСИЛЕННОГО ЭНДОПРОТЕЗА ДЛЯ ГЕРНИОПЛАСТИКИ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВАРИАНТА ЕГО РАСПОЛОЖЕНИЯ

© Суковатых Б.С.¹, Блинков Ю.Ю.¹, Нетьага А.А.², Затолокина М.А.³, Полевой Ю.Ю.¹, Жуковский В.А.⁴

¹ Кафедра общей хирургии, ² кафедра оперативной хирургии и топографической анатомии, ³ кафедра гистологии, эмбриологии, цитологии Курского государственного медицинского университета, Курск;

⁴ Общество с ограниченной ответственностью «Линтекс», Санкт-Петербург

E-mail: SukovatykhBS@kursksmu.net

Представлены результаты экспериментального исследования на кроликах породы шиншилла легкого усиленного эндопротеза при над- и подапоневротической имплантации в ткани брюшной стенки. Проведено морфологическое исследование образцов брюшной стенки с имплантированным материалом. Исследовали площадь клеточного инфильтрата, располагающегося непосредственно вокруг нитей эндопротеза в клеточном слое капсулы, и площадь вновь сформированной соединительнотканной капсулы, вычисляли клеточный индекс, представляющий собой отношение клеток гистиоцитарного ряда к клеткам воспалительного инфильтрата. В результате проведенного исследования установлено, что на ранних сроках более быстрое купирование воспалительных изменений и образование соединительнотканной капсулы отмечается вокруг эндопротеза при подапоневротической имплантации, а на поздних сроках течение репаративной реакции не зависит от варианта расположения протеза.

Ключевые слова: грыжа живота, легкий усиленный эндопротез, герниопластика, площадь клеточного инфильтрата, площадь соединительнотканной капсулы, клеточный индекс, полипропиленовый эндопротез.

PECULIARITIES OF ABDOMINAL WALL TISSUE RESPONSE ON IMPLANTATION OF THE LIGHT STRENGTHENED ENDOPROSTHESIS FOR HERNIOPLASTY IN RELATION TO ITS ARRANGEMENT OPTION

Sukovatykh B.S.¹, Blinkov Yu.Yu.¹, Netyaga A.A.², Zatolokina M.A.³, Polevoy Yu.Yu.¹, Zhukovskiy V.A.⁴

¹Department of General Surgery, ²Department of Operative Surgery and Topographic Anatomy,

³Department of Histology, Embryology, Cytology of Kursk State Medical University, Kursk

Limited Liability Company "Lintex", St. Petersburg

The article presents the results of experimental study of the light strengthened endoprosthesis on rabbits of chinchilla specie at onlay and sublay implantation in the abdominal wall tissues. There was done morphological study of abdominal tissue samples with implanted material. The area of cellular infiltrate located around the threads of endoprosthesis in cellular layer of the capsule, and area of newly formed connective tissue capsule were investigated. Cellular index was calculated as the ratio of the histiocytic cells to the inflammatory infiltrate cells. In the result of the study authors prove that at early periods the more rapid stopping of inflammatory changes and formation of the connective tissue capsule take place around endoprosthesis at sublay implanting, while at later periods reparative response does not depend on arrangement option of prosthesis.

Keywords: abdominal hernia, light strengthened endoprosthesis, hernioplasty, area of cellular infiltrate, area of connective tissue capsule, cellular index, polypropylene endoprosthesis.

Наибольшее распространение для герниопластики в абдоминальной хирургии получил стандартный полипропиленовый протез с диаметром нити 120 микрон. Данный протез имеет большую материалоемкость и жесткость, что вызывает ограничение подвижности брюшной стенки, хронический болевой синдром в области операционного рубца, ощущение у больных чувства «инородного тела» [1, 5]. Для устранения описанных недостатков в клинической практике начали применяться легкие сетки с диаметром нити 90 микрон и суперлегкие с диаметром нити 70 микрон [2, 9]. Недостатком этих сеток является низкая прочность изделия, которая при их имплантации в дефект апоневроза, превышающий 10 см² у больных с большими и гигантскими грыжами,

может приводить к рецидиву заболевания [10, 11].

Для повышения прочности легких сеток в их структуру стали в заданном направлении вводить нити большего диаметра до 120 микрон. Фирмой «Линтекс» начал выпускаться отечественный легкий усиленный эндопротез «Флексилен», сочетающий высокую прочность с малой материалоемкостью. Однако биологические свойства этого протеза для герниопластики остаются малоизученными. Так, остаются не выявленными особенности тканевой реакции брюшной стенки при над (onlay) и под- (sublay) апоневротической имплантации легкого усиленного протеза. Как в России, так и за рубежом считается, что подапоневротическое расположение протеза с патогенетической точки зрения развития грыжи более оправдано,

чем надапоневротическое [3, 8]. Однако подапоневротическая пластика более сложна в техническом исполнении, чем надапоневротическая, вследствие затруднения разделения слоев брюшной стенки в области грыжевых ворот из-за развития склеротических изменений при длительном существовании грыжи. Это требует больше времени для выполнения оперативного вмешательства, высокой квалификации хирурга. Кроме этого, при наличии воспалительного процесса в брюшной полости возможно инфицирование протеза [6]. Основными недостатками надапоневротической пластики являются отслойка подкожной клетчатки и кожи от апоневроза, что нарушает их кровоснабжение, венозный и лимфатический отток, способствует формированию сером и гнойных раневых осложнений [7].

Цель исследования: изучить особенности тканевой реакции брюшной стенки на имплантацию легкого усиленного полипропиленового протеза при над- и подапоневротическом расположении и на этой основе сформировать показания к вариантам его размещения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Экспериментальные исследования были проведены на 60 кроликах породы шиншилла. В экспериментах были использованы кролики одного пола (женского) в возрасте 1-1,5 года, весом 2500-3500 г. Для исследования отбирались животные без внешних признаков заболевания, прошедшие карантин в условиях вивария. Все животные содержались в одинаковых условиях на стандартном пищевом режиме.

Для реализации цели исследования был использован новый легкий усиленный сетчатый полипропиленовый эндопротез «Флексилен», состоящий из горизонтально расположенных широких основных полос с диаметром нити 90 микрон и более узких усиленных полос с диаметром нити 120 микрон, ритмично чередующихся друг с другом.

Животные были разделены на 2 серии экспериментов по 30 особей в каждой. В 1-й серии имплантировали эндопротез в положении onlay, во 2-й – в положении sublay. Оперативные вмешательства выполнялись на кафедре оперативной хирургии и топографической анатомии Курского государственного медицинского университета. В обеих сериях эксперимента оперативные вмешательства были проведены в асептических условиях под общим наркозом с использованием комбинации препаратов «Золетил 50» и «Ксила» («Рометар» (Rometar)). Первым этапом анестезиологического пособия являлось внутримышечное

введение 2% препарата «Ксила» в дозе 0,2 мл/кг массы животного в мышцы бедра. Следующим этапом, после предварительной подготовки места инъекции (удаление шерсти, обработка антисептиком), в ушную вену вводился препарат «Золетил 50» в дозе 5 мг/кг массы животного. Миорелаксация и анальгезия наступала через несколько секунд и продолжалась в течение 20-25 минут.

Оперативные вмешательства по методике onlay выполнялись следующим образом. По средней линии живота в продольном направлении рассекали кожу, подкожную клетчатку длиной 4-5 см. Белую линию живота и переднюю стенку влагалища (aponевроза) прямых мышц освобождали от клетчатки путем ее отсепаровки в стороны от срединного разреза, на расстояние 2,5-3 см. В созданное пространство помещали эндопротез размерами 3х3 см. Эндопротез размещали таким образом, чтобы его усиленные зоны располагались в поперечном к оси тела направлении, моделируя правила выполнения герниопластики этим материалом у пациентов с вентральными грыжами.

При подапоневротическом варианте расположения протеза по методике sublay по средней линии живота в продольном направлении рассекали кожу, подкожную клетчатку, апоневроз прямых мышц. Тупо и остро освобождали париетальную брюшину путем ее отсепаровки от задней стенки влагалища прямых мышц. В образовавшееся предбрюшинное пространство имплантировали полипропиленовый сетчатый эндопротез размерами 3х3 см. Как при над-, так и при подапоневротическом вариантах протезы фиксировали полипропиленовой нитью. Раны послойно ушивали, дренирование не производили.

Из эксперимента всех животных выводили путем передозировки средств для наркоза в соответствии с Конвенцией по защите животных, используемых в эксперименте и других научных целях, принятой Советом Европы в 1986 году на сроках 7, 30, 60, 90 и 180 суток.

После выведения животных из эксперимента в указанные сроки патоморфологические изменения тканей брюшной стенки оценивались макроскопически. Далее для гистологического исследования иссекали полнослойный лоскут передней брюшной стенки, включая исследуемый материал. Срезы, толщиной 7-8 мкм окрашивали гематоксилин-эозином и по Ван-Гизон.

Микроскопирование и микрофотосъемка осуществлялись с помощью оптической системы, состоящей из светового лабораторного микроскопа Levenhuk D320L. При гистологическом исследовании оценивали характер и выраженность патоморфологических изменений тканей, окружающих эндопротезы. При морфометрическом исследовании с помощью программы Levenhuk

TopView v.3.6.688 на малом увеличении (x100) исследовали площадь клеточного инфильтрата, располагающегося непосредственно вокруг нитей протеза, и площадь вновь сформированной соединительнотканной капсулы в квадратных микрометрах (мкм^2). На снимках, сделанных при большом увеличении (x400), исследовали количественный состав клеточных элементов (лимфоцитов, макрофагов, моноцитов, нейтрофилов, эозинофилов, фибробластов и фиброцитов), которые дифференцировали на основе кариологических признаков. Процентное соотношение указанных представителей клеточной популяции рассчитывали после подсчета 100 клеток в нескольких непересекающихся полях зрения на расстоянии 1-го поля зрения от нитей эндопротеза.

Для объективизации формирования заключения о характере течения раневого процесса вычисляли клеточный индекс по следующей формуле:

$$M + \Phi\text{б} + \Phi\text{ц}$$

$$\text{Клеточный индекс (КИ)} = \frac{\text{-----}}{N + L + \text{Э} + M\text{н}},$$

где М – макрофаги, Фб – фибробласты, Фц – фиброциты, Н – нейтрофилы, Л – лимфоциты, Э – эозинофилы, Мн – моноциты.

При значении клеточного индекса <1 делали вывод о преобладании воспалительных изменений, характерных для I фазы течения раневого процесса, при значении >1 делали вывод о преобладании репаративных тенденций, характерных для II фазы [4].

Полученные в результате представленных выше методик цифровые данные обрабатывались

статистически с целью изучения значимости расхождений средних величин в сравниваемых группах. После определения типа распределения данных был выбран метод оценки достоверности отличий по критерию Вилкоксона-Манна-Уитни. Для подтверждения статистической гипотезы был выбран уровень значимости $p \leq 0,05$, допустимый для экспериментальных медико-биологических исследований.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты морфометрического исследования клеточного состава и клеточного индекса на разные сроки эксперимента представлены в таблице 1.

Как при наднапневротическом, так и при поднапневротическом вариантах расположения протезов первая фаза раневого процесса была выражена в течение первых 7 суток от момента имплантации. Репаративные процессы при расположении протеза sublay преобладали над таковыми при расположении протеза onlay на 7-е сутки в 1,27 раза, на 30-е сутки в 1,14 раза и на 60-е сутки в 1,11 раза. На 90-е и 180-е сутки эксперимента различий показателей клеточного состава не было.

Количественная оценка клеточного состава свидетельствует о более раннем купировании воспалительных изменений и более высокой интенсивности репаративных процессов при поднапневротическом расположении протеза на ранних (до 60 суток) сроках эксперимента.

Таблица 1

Динамика морфометрических показателей в исследуемых сериях, $M \pm m$

Показатели	Серия эксперимента	Сроки имплантации				
		7 сут, (n=12)	30 сут, (n=12)	60 сут, (n=12)	90 сут, (n=12)	180 сут, (n=12)
Нейтрофилы, %	1-я onlay	2,0 $\pm$ 0,45*	0,33 $\pm$ 0,21	-	-	-
	2-я sublay	0,83 $\pm$ 0,40	-	-	-	-
Лимфоциты, %	1-я onlay	29,33 $\pm$ 0,88	28,33 $\pm$ 0,42	25,50 $\pm$ 0,76	20,00 $\pm$ 0,73	16,83 $\pm$ 0,48
	2-я sublay	29,67 $\pm$ 0,61	26,33 $\pm$ 0,80	23,83 $\pm$ 0,48	20,33 $\pm$ 0,76	16,50 $\pm$ 0,43
Эозинофилы, %	1-я onlay	12,67 $\pm$ 1,15	3,50 $\pm$ 0,62	2,50 $\pm$ 0,43	0,50 $\pm$ 0,22	-
	2-я sublay	7,83 $\pm$ 0,70*	3,17 $\pm$ 0,31	1,33 $\pm$ 0,21	0,50 $\pm$ 0,22	-
Моноциты, %	1-я onlay	13,17 $\pm$ 0,48	11,0 $\pm$ 0,37	7,50 $\pm$ 0,43	7,67 $\pm$ 0,33	6,67 $\pm$ 0,42
	2-я sublay	12,50 $\pm$ 0,72	10,33 $\pm$ 0,76	8,00 $\pm$ 0,26	7,00 $\pm$ 0,26	7,00 $\pm$ 0,37
Макрофаги, %	1-я onlay	11,83 $\pm$ 0,48	12,50 $\pm$ 0,56	9,50 $\pm$ 0,34	9,17 $\pm$ 0,60	8,50 $\pm$ 0,43
	2-я sublay	13,67 $\pm$ 0,61	12,00 $\pm$ 0,93	10,50 $\pm$ 0,43	10,00 $\pm$ 0,52	8,17 $\pm$ 0,48
Фибробласты, %	1-я onlay	29,17 $\pm$ 1,01	33,83 $\pm$ 0,91	35,67 $\pm$ 0,76	34,33 $\pm$ 0,76	33,50 $\pm$ 0,43
	2-я sublay	32,50 $\pm$ 0,56*	35,00 $\pm$ 0,58	35,33 $\pm$ 0,42	33,83 $\pm$ 0,48	33,17 $\pm$ 0,54
Фиброциты, %	1-я onlay	1,83 $\pm$ 0,70	10,50 $\pm$ 1,18	19,33 $\pm$ 0,67	28,33 $\pm$ 0,56	34,50 $\pm$ 0,67
	2-я sublay	3,00 $\pm$ 0,37	13,17 $\pm$ 1,33	21,00 $\pm$ 0,45	28,00 $\pm$ 0,58	35,17 $\pm$ 0,70
Клеточный индекс	1-я onlay	0,76 $\pm$ 0,05	1,32 $\pm$ 0,02	1,82 $\pm$ 0,05	2,56 $\pm$ 0,06	3,27 $\pm$ 0,10
	2-я sublay	0,97 $\pm$ 0,03*	1,51 $\pm$ 0,03*	2,02 $\pm$ 0,03*	2,59 $\pm$ 0,07	3,26 $\pm$ 0,08

Примечание: * – различия показателей клеточного состава и клеточного индекса достоверны ($p \leq 0,05$) между 1-й и 2-й сериями.

Таблица 2

Динамика площадей инфильтратов и капсул (мкм^2), ($M \pm m$)

Срок наблюдения	1-я серия onlay (n=30)	2-я серия sublay (n=30)	p
Площадь инфильтрата			
7-е сутки	22421 $\pm$ 2315	10459 $\pm$ 972	$\leq 0,05$
30-е сутки	5158 $\pm$ 327	3499 $\pm$ 214	$\leq 0,05$
Площадь капсулы			
30-е сутки	427537 $\pm$ 14985	350533 $\pm$ 20179	$\leq 0,05$
60-е сутки	554093 $\pm$ 12469	448015 $\pm$ 12502	$\leq 0,05$
90-е сутки	578775 $\pm$ 17354	497183 $\pm$ 16451	$\leq 0,05$
180-е сутки	569977 $\pm$ 25348	500445 $\pm$ 9076	$\leq 0,05$

На поздних сроках (90-е и 180-е сутки) происходит выравнивание показателей клеточного состава капсул при обоих вариантах расположения протеза.

Это свидетельствует о том, что при любом расположении протеза с течением времени он в одинаковой степени становится биосовместимым с тканями реципиента.

Результаты морфометрического исследования площадей инфильтратов и капсул представлены в таблице 2.

С 7-х по 30-е сутки происходило уменьшение площадей инфильтратов в 4,3 в положении onlay, а в положении sublay в 3,0 раза. На 7-е сутки в первой серии площадь инфильтрата была в 2,1 раза, а на 30-е сутки в 1,47 раза больше, чем во второй серии. Вместе с этим начиная с 30-х суток и до окончания эксперимента отмечалось увеличение площадей капсул в 1,33 раза в первой и в 1,43 раза во второй сериях. На 30-е и 60-е сутки данные показатели в первой серии были в 1,2 раза, на 90-е сутки в 1,16 и 180-е сутки в 1,4 раза больше, чем во второй серии.

Исследование площадей инфильтратов показало, что при надапоневротическом варианте расположения протеза данный показатель достоверно больше. Это может быть связано с техническими особенностями этого варианта, а именно с необходимостью пересечения большого количества кровеносных и лимфатических сосудов при отслойке кожи и подкожной клетчатки от апоневроза и, как следствие, с выходом клеточных элементов в ткани. В дальнейшем, начиная с 30-х суток, при надапоневротической имплантации отмечается достоверно выше площадь капсулы. С нашей точки зрения, это может быть обусловлено изначально большей площадью инфильтрации тканей.

При гистологическом изучении микропрепаратов установлено, что на 7-е сутки в положении onlay эндопротез окружен широкими полями незрелой соединительной ткани. Около нитей эндопротеза встречаются участки выраженной клеточной инфильтрации. Клетки воспалительного

инфильтрата встречаются среди элементов молодой соединительной ткани на значительном расстоянии от эндопротеза. Среди клеток инфильтратов преобладают лимфоциты, макрофаги, эозинофилы и моноциты. Нейтрофильные лейкоциты единичные. В небольшом количестве встречаются молодые фибробласты. Вокруг нитей эндопротеза в положении sublay так же отмечается воспалительная инфильтрация. Клеточный состав инфильтратов аналогичен серии с имплантацией эндопротеза onlay. Однако в данном случае выявляется значительно большее количество фибробластов. Кроме этого, в некоторых наблюдениях встречаются участки с тонкой молодой соединительнотканной капсулой, незрелые слабоокисильные волокна которой в наружном слое приобретают упорядоченное и параллельное расположение друг другу.

На 30-е сутки вокруг нитей эндопротеза в положении onlay определяется волокнистая соединительнотканная капсула, состоящая из плотных коллагеновых волокон, отграничивающих эндопротез от окружающих тканей. Волокна капсулы без видимых границ переходят в окружающие ткани (рис. 1). Среди клеток наружного слоя капсулы присутствуют преимущественно фиброциты и фибробласты. Во внутренних отделах капсулы сохраняется круглоклеточная инфильтрация (рис. 2). В поле зрения преобладают клетки гранулоцитарного ряда. Однако здесь, в участках вновь образованной соединительной ткани, присутствует значительное количество фибробластов. В непосредственной близости к нитям эндопротеза определяются единичные гигантские клетки инородных тел. Вокруг нитей эндопротеза в положении sublay сформирована тонковолокнистая соединительнотканная капсула, покрывающая со всех сторон нити эндопротеза и отграничивающая его от окружающей рыхлой предбрюшинной клетчатки. Визуально толщина капсулы практически во всех наблюдениях значительно меньше, чем в серии с имплантацией эндопротеза в положении onlay. Во внутреннем слое капсулы сохраняются участки клеточной инфильтрации,

где наряду с клетками воспалительного инфильтрата отмечается значительное количество свободных клеток стромы (фиibroбластов и фиброци-

тов). Около нитей эндопротеза определяются единичные гигантские клетки инородных тел (рис. 3).

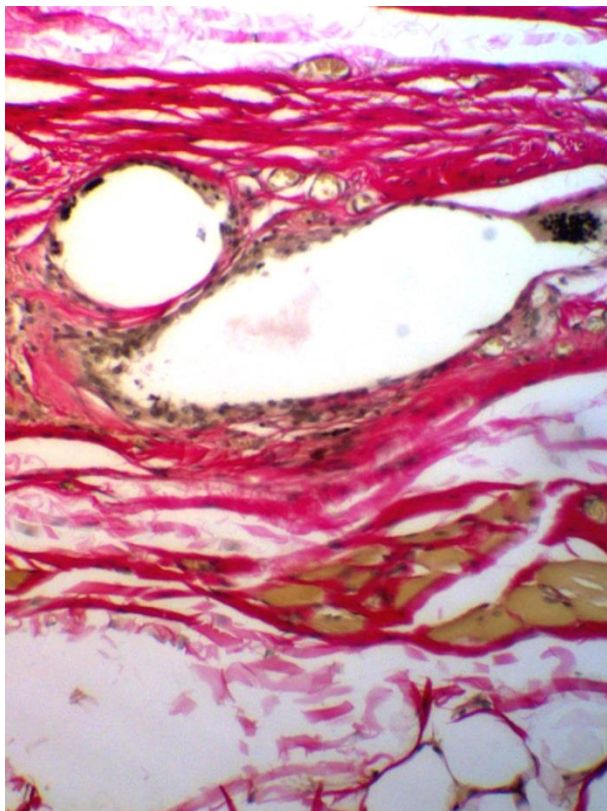


Рис. 1. Патоморфологические изменения в тканях брюшной стенки на 30-е сутки эксперимента (onlay): волокнистая соединительнотканная капсула вокруг эндопротеза. Окр.: Ван Гизон, ув. x100.

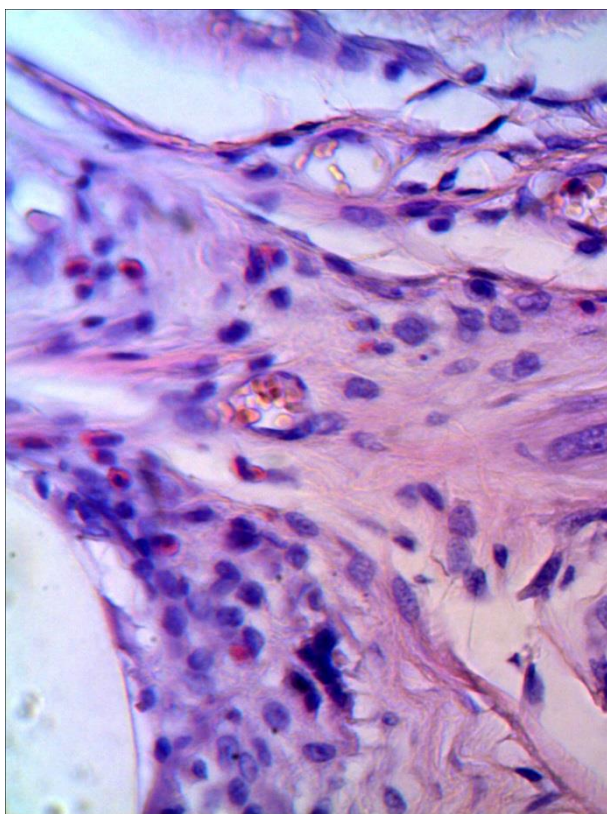


Рис. 2. Патоморфологические изменения в тканях брюшной стенки на 30-е сутки эксперимента (onlay): круглоклеточная инфильтрация внутреннего отдела капсулы. Окр.: Г-Э, ув. x400.



Рис. 3. Патоморфологические изменения в тканях брюшной стенки на 30-е сутки эксперимента (sublay): тонковолокнистая соединительнотканная капсула, покрывающая со всех сторон нити эндопротеза. Окр.: Ван Гизон, ув. x100.

На 60-е сутки вокруг нитей эндопротеза в положении onlay располагается оформленная волокнистая соединительнотканная капсула. Наружный слой капсулы состоит из толстых коллагеновых волокон, среди клеток наружного слоя преобладают зрелые фиброциты. Внутренний слой капсулы помимо тонких коллагеновых волокон, окружающих нити сетки, содержит участки молодой соединительной ткани с явлениями инфильтрации лимфоцитами, макрофагами и моноцитами. Здесь же определяется большое количество фибробластов, имеются единичные гигантские клетки инородных тел. Вокруг нитей эндопротеза в положении sublay сформирована соединительнотканная капсула, состоящая из тонких коллагеновых волокон. Вокруг сетки сохраняется умеренная инфильтрация лимфоцитами и макрофагами. Здесь же определяется большое количество фибробластов и фиброцитов. Имеются единичные гигантские клетки.

На 90-е сутки вокруг нитей эндопротеза в положении onlay определяется выраженная волокнистая соединительнотканная капсула, плотно окружающая сетку и без видимых границ переходящая в окружающую грубую волокнистую соединительную ткань. Внутри около нитей сетки сохраняется умеренная инфильтрация лимфоцитами, макрофагами и моноцитами. Здесь же име-

ются единичные гигантские клетки инородных тел. На 90-е сутки эндопротез в положении sublay окружен оформленной соединительной тканью. Как и на предыдущих сроках, волокна капсулы тонкие. Около нитей встречаются участки незрелой соединительной ткани со слабовыраженной инфильтрацией лимфоцитами и макрофагами. Здесь среди других клеток определяется большое количество фибробластов и фиброцитов. Имеются единичные гигантские клетки инородных тел.

На 180-е сутки вокруг нитей эндопротеза в положении onlay определяется грубая оформленная соединительная ткань, представленная волокнами, расположенными концентрически вокруг нитей эндопротеза и клеточными элементами, преимущественно фиброцитами. Непосредственно возле нитей сохраняется умеренная инфильтрация макрофагами и лимфоцитами (рис. 4). Вокруг нитей эндопротеза в положении sublay на этом сроке гистологическая картина аналогичная (рис. 5). Так же как и в положении onlay, непосредственно возле нитей сохраняются участки молодой соединительной ткани с явлениями слабой инфильтрации макрофагами и лимфоцитами. В промежутках между нитями эндопротеза новообразованная соединительная ткань не определяется, воспалительные явления отсутствуют.

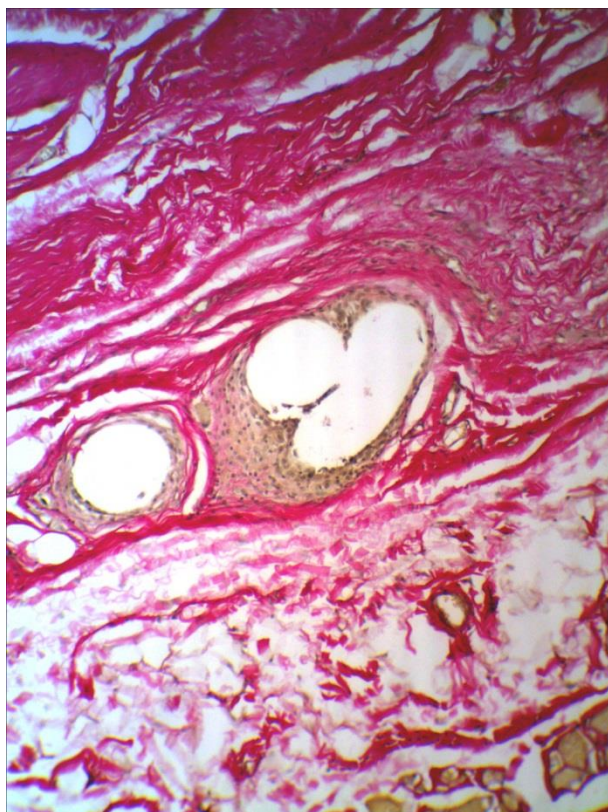


Рис. 4. Патоморфологические изменения в тканях брюшной стенки на 180-е сутки эксперимента (onlay): грубая оформленная соединительная ткань вокруг нитей эндопротезов. Окр.: Ван Гизон, ув. x100.

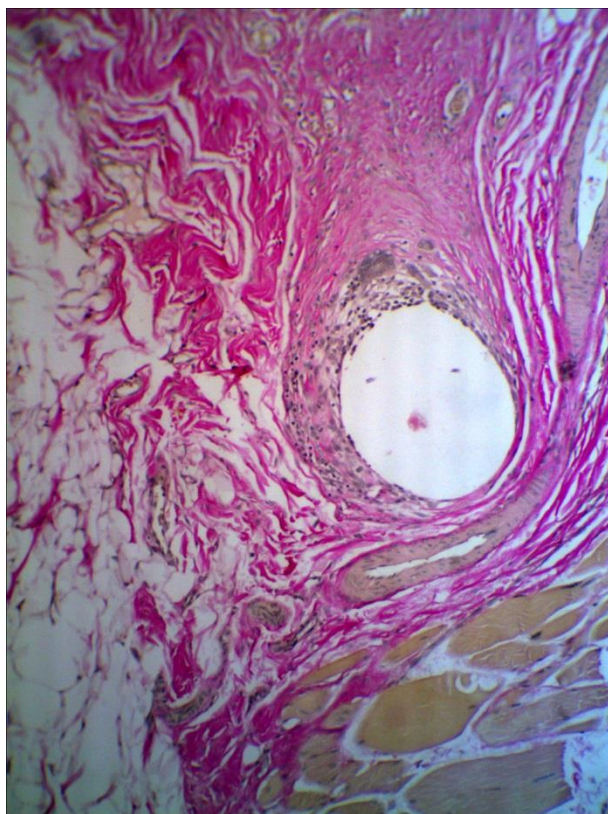


Рис. 5. Патоморфологические изменения в тканях брюшной стенки на 180-е сутки эксперимента (sublay): то же. Окр.: Ван Гизон, ув. x100.

Гистологические исследования подтвердили результаты морфологических исследований соединительнотканых капсул, сформированных вокруг имплантированных протезов. Соединительнотканная капсула на ранних сроках эксперимента (до 60-х суток) при надапоневротической имплантации протеза сопровождается более выраженной круглоклеточной воспалительной инфильтрацией, которая, как известно, являясь признаком хронических воспалительных процессов в тканях, приводит к развитию фиброзных и склеротических изменений. Однако на поздних сроках эксперимента (180-е сутки) различий в гистологической картине соединительнотканых капсул вокруг протеза при различных вариантах его расположения нет. Это может быть результатом завершения ремоделирования соединительной ткани и окончательной интеграции эндопротезов в брюшную стенку.

Таким образом, имплантация легкого усиленного эндопротеза в положении onlay, в сравнении с его с положением sublay, сопровождается более выраженной воспалительной инфильтрацией на ранних (до 60-х суток) сроках эксперимента. На поздних сроках (180-е сутки) репаративная реакция тканей на имплантацию обоих материалов не зависит от варианта расположения протеза. Следовательно, выбор способа размещения протезов должен определяться индивидуально у каждого больного на основании оценки тяжести его состояния, выраженности склеротических изменений тканей в области грыжевых ворот, квалификации хирурга, наличия или отсутствия воспалительного процесса в брюшной полости. В экстренной хирургии при лечении больных с ущемленными вентральными грыжами целесообразно размещать протез надапоневротически, как более простой способ в техническом исполнении. Во время плановых абдоминальных операций при отсутствии выраженных склеротических изменений тканей брюшной стенки, препятствующих их разделению, высокой квалификации оперирующего хирурга следует применять подапоневротический вариант расположения протеза.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. *Алекберзаде А.В., Липницкий Е.М., Сундуков И.В.* Открытая аллопластика послеоперационных вентральных грыж // Хирургия. Журнал им. Н.И. Пирогова. – 2011. – № 4. – С. 13-16. [Alekberzade A.V., Lipnitskiy E.M., Sundukov I.V. Open alloplasty of postoperative ventral hernias. *Khirurgiya. Zhurnal im. N.I. Pirogova*. 2011; (4): 13-16. (in Russ.)].
2. *Ануров М.В., Титкова С.М., Эттингер А.П.* Сравнение результатов пластики грыжевого дефекта стандартными и легкими сетчатыми эндопротезами с одинаковым трикотажным переплетением // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2010. – Т. 150, № 10. – С. 433-439. [Anurov M.V., Titkova S.M., Ettinger A.P. Comparison of the results of hernia defect plasty with standard and light mesh endoprotheses with the same knitted weave. *Byulleten' eksperimental'noy biologii i meditsiny*. 2010; 150 (10): 433-439 (in Russ.)].
3. *Мошкова Т.А., Васильев С.В., Олейник В.В., Морозов А.В.* Оценка способов размещения полипропиленовых сеток при аллопластике вентральных грыж // Вестник хирургии им. И.И. Грекова. – 2007. – Т. 166, № 2. – С. 78-81. [Moshkova T.A., Vasiliev S.V., Olejnik V.V., Morozov A.V. Assessment of methods of placement of polypropylene meshes in alloplasty of ventral hernias. *Vestnik khirurgii im. I.I. Grekova*. 2007; 166 (2): 78-81 (in Russ.)].
4. *Нетьяга А.А., Парфенов А.О., Нутфуллина Г.М., Жуковский В.А.* Легкие или композитные эндопротезы для герниопластики: выбор материала на основании экспериментального изучения их биосовместимых свойств // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – № 5. – С. 370. – Режим доступа: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=10712>, свободный (05.08.2017) [Netyaga A.A., Parfenov A.O., Nutfullina G.M., Zhukovsky V.A. Comparative experimental study of the biomechanical properties of the standard, light and composite meshes for abdominal wall after implantation. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2013; (5): 370. Access mode: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=10712>, free (05/08/2017) (in Russ.)].
5. *Тимошин А.Д., Шестаков А.Л., Загоруйко О.И., Инаков А.Г.* Оценка функции мышц передней брюшной стенки после герниопластики // Бюллетень сибирской медицины. – 2007. – Т. 6, № 3. – С. 62-64. [Timoshin A.D., Shestakov A.L., Zagorulko O.I., Inakov A.G. Abdominal wall muscles function estimation after hernioplasty. *Byulleten' sibirskoy meditsiny*. 2007; 6 (3): 62-64. (in Russ.)].
6. *Титов В.В., Калачев И.И., Тимошин А.Д.* Сравнительная оценка под- и надапоневротической пластики передней брюшной стенки у больных с послеоперационными вентральными грыжами // Анналы хирургии. – 2008. – № 4. – С. 56-59. [Titov V.V., Kalachev I.I., Timoshin A.D. Comparative analysis of abdominal subaponeurotic and supraaponeurotic plasty in patients with postoperative ventral hernias. *Annaly khirurgii*. 2008; (4): 56-59. (in Russ.)].
7. *Цверов И.А., Базаев А.В.* Оценка основных способов аллопластики с целью оптимизации лечения больных с послеоперационными вентральными грыжами // Современные технологии в медицине. – 2011. – № 2. – С. 73-76. [Tsverov I.A., Bazaev A.V. The assessment of main alloplasty techniques in order to optimize the treatment of patients with postoperative ventral hernias. *Sovremennye tekhnologii v meditsine*. 2011; (2): 73-76. (in Russ.)].
8. *Klinge U., Klosterhalfen B.* Modified classification of surgical meshes for hernia repair based on the anal-

- yses of 1,000 explanted meshes // *Hernia*. – 2012. – Vol. 16, N 3. – P. 251-258.
9. *Lintin L.A., Kingsnorth A.N.* Mechanical failure of a lightweight polypropylene mesh // *Hernia*. – 2014. – Vol. 18, N 1. – P. 131-133.
10. *Petro C.C., Nahabet E.H., Criss C.N., Orenstein S.B., Von Recum H.A., Novitsky Y.W., Rosen M.J.* Central failures of lightweight monofilament polyester mesh causing hernia recurrence: a cautionary note // *Hernia*. – 2015. – Vol. 19, N 1. – P. 155-159.
11. *Zuvela M., Galun D., Djuric-Stefanovic A., Palibrk I., Petrovic M., Milicevic M.* Central rupture and bulging of low-weight polypropylene mesh following recurrent incisional sublay hernioplasty // *Hernia*. – 2014. – Vol. 18, N 1. – P. 135-140.

ОСОБЕННОСТИ ИЗМЕНЕНИЯ ФОРМЫ И РАЗМЕРОВ ГОЛОВКИ НИЖНЕЙ ЧЕЛЮСТИ ПРИ АНОМАЛЬНЫХ ПРИКУСАХ И ПОТЕРЕ ЗУБОВ

© Гайворонская М.Г.^{1,2}, Гайворонский И.В.^{1,3}, Шашков В.А.³, Семенова А.А.³

¹ Кафедра морфологии Санкт-Петербургского государственного университета, Санкт-Петербург;

² кафедра челюстно-лицевой хирургии и хирургической стоматологии,

³ кафедра нормальной анатомии Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург

E-mail: solnushko12@mail.ru

Исследование выполнено на черепах взрослых людей, систематизированных по виду прикуса и степени сохранности нижнего зубного ряда. Установлено, что различия в строении головки нижней челюсти между черепами с переходными формами нормального прикуса и ортогнатическим прикусом отсутствуют, однако при различных видах аномального прикуса имеются статистически достоверные различия по основным морфометрическим параметрам мышечного отростка. Установлено, что при полной потере зубов существенно изменяется сагиттальный диаметр головки нижней челюсти. Поэтому при полном отсутствии зубов в большинстве случаев (в 61,3%) головка нижней челюсти приобретает конусовидную форму. Особенности строения головки нижней челюсти при изученных состояниях зубочелюстной системы могут вызывать изменения в работе височно-нижнечелюстного сустава, и, соответственно, приводить к его дисфункциональным нарушениям.

Ключевые слова: головка нижней челюсти, височно-нижнечелюстной сустав, дисфункция, потеря зубов, ортогнатический прикус, аномалии прикуса.

SPECIAL FEATURES OF SHAPE AND SIZE CHANGES OF MANDIBULAR HEAD IN ABNORMAL BITES AND TEETH LOSS

Gayvoronskaya M.G.^{1,2}, Gayvoronskiy I.V.^{1,3}, Shashkov V.A.³, Semenova A.A.³

¹ Department of Morphology of St. Petersburg State University, St. Petersburg;

² Department of Maxillofacial Surgery and Surgical Dentistry, ³ Department of Normal Anatomy of S.M. Kirov Military Medical Academy, St. Petersburg

The study was performed on adult skulls systematized by the occlusion type and the degree of lower dentition preservation. It has been established that there are no differences in the structure of the lower jaw head between skulls with transitional forms of normal occlusion and orthognathic occlusion, but for different types of anomalous occlusion there are statistically significant differences in the main morphometric parameters of the condylar process. It has been established that complete teeth loss significantly changes the sagittal diameter of the mandible head. Therefore, the absence of teeth makes the lower jaw head conical-shaped in most cases (in 61.3%). The features of the mandibular head structure in the dentoalveolar conditions studied can cause changes in the temporomandibular joint, and, accordingly, lead to its dysfunctional disorders.

Keywords: head of mandible, temporomandibular joint, dysfunction, loss of teeth, orthognathic bite, bite anomalies.

В настоящее время распространенность аномалий и деформаций челюстно-лицевой области у взрослого населения составляет 33,7-61,9%. По некоторым данным, различные виды аномального прикуса встречаются у 82% обследованных [5]. Наряду с этим распространенность структурных и функциональных поражений височно-нижнечелюстных суставов колеблется от 12 до 75% [2, 9, 11].

Некоторые авторы отмечают, что в основе дисфункции височно-нижнечелюстных суставов лежит нарушение смыкания зубных рядов в положении центральной окклюзии. В результате этого постепенно нарушаются работа жевательных мышц и их синхронная функция, изменяется характер движений нижней челюсти во всех направлениях [1, 4, 9].

По данным М. Mesnard et al. [10], наиболее частой причиной развития артрозов височно-

нижнечелюстного сустава являются дефекты зубных рядов в области больших коренных зубов на нижней челюсти.

Головка нижней челюсти наряду с нижнечелюстной ямкой и суставным бугорком является составным костным элементом височно-нижнечелюстного сустава. По сравнению с другими его элементами головка нижней челюсти представлена в основном губчатой костью и является высокоорганизованным центром роста нижней челюсти, а также регулирует сопряженность механизмов ее роста в различных направлениях [3]. В связи с тем, что особенности строения и формы головки нижней челюсти оказывают непосредственное влияние на функционирование височно-нижнечелюстного сустава, их изменение при различных заболеваниях зубочелюстной системы может быть рассмотрено как предрасполагающий фактор развития его дисфункциональных нарушений.

Таким образом, целью нашего исследования стало изучение особенностей морфометрических характеристик и формы головки нижней челюсти у взрослого человека в зависимости от прикуса и степени сохранности нижнего зубного ряда.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование выполнено на черепах взрослых людей с нижней челюстью из краниологической коллекции музея кафедры нормальной анатомии Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова. Все черепа были систематизированы нами по следующим критериям: 1) по виду прикуса (9 групп по 30 черепов); 2) по степени сохранности нижнего зубного ряда (3 группы по 60 черепов).

Для разделения черепов на группы по виду прикуса использовалась классификация зубочелюстных аномалий В.Н. Трезубова с соавт. [7]. Согласно ей, все виды прикуса делят на две группы – нормальные или функциональные и аномальные или нефункциональные.

К аномальным видам прикуса относят: дистальный прикус, мезиальный прикус, глубокий прикус, открытый прикус (или вертикальная дезокклюзия) и перекрестный прикус. Отдельно рассматриваются переходные виды нормального прикуса: ортогнатический с глубоким резцовым перекрытием, ортогнатический с ретрузией передних зубов, прямой прикус, ортогнатический с протрузией передних зубов.

По степени сохранности нижнего зубного ряда все черепа были разделены на три группы: 1 – группа с интактным прикусом (ИП); 2 – группа с частичным отсутствием зубов (ЧОЗ); 3 – группа с полным отсутствием зубов (ПОЗ).

Дополнительно все черепа были систематизированы по полу.

Для изучения морфометрических параметров головки нижней челюсти измерялись ее сагиттальный (D_s – расстояние между наиболее выступающими точками передней и задней ее поверх-

ностей) и поперечный (D_t – расстояние между наиболее выступающими медиальной и латеральной точками головки) диаметры. Форма головки нижней челюсти оценивалась по классификации Ю.А. Гладилина (1969), согласно которой выделяют конусовидную, овальную и бобовидную ее формы.

Статистическая обработка полученных данных осуществлялась с использованием пакета прикладных программ Statistica 7.0. Для каждого признака определялись: среднее арифметическое значение и ошибка среднего арифметического. Для выявления значимости различия между средними величинами с контрлатеральных сторон определялся t-критерий значимости Стьюдента. Для исследования значимости различия между средними величинами с помощью сравнения (анализа) дисперсий был использован дисперсионный анализ (ANOVA).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Сравнительная оценка морфометрических параметров и формы головки нижней челюсти в группах, систематизированных по характеру смыкания зубов в положении центральной окклюзии проводилась отдельно для черепов с нормальным и переходными формами прикуса и для черепов с аномальными формами прикуса (таблица 1).

При анализе данных, представленных в таблице 1, становится очевидным, что явные различия в строении головки нижней челюсти между черепами с переходными формами нормального прикуса отсутствуют.

Вероятно, данное обстоятельство связано с тем, что характер смыкания «ключей окклюзии» (первых моляров) одинаков для всех изученных форм. Данные виды прикуса отличаются лишь характером смыкания передней группы зубов.

Таблица 1

Сравнительная оценка морфометрических параметров головки нижней челюсти в группах черепов с ортогнатическим и переходными формами прикуса

Изученные параметры	Пол	Статистические показатели $\bar{X} \pm m_x$, мм			
		Ортогнатический прикус	Прямой прикус	Ортогнатический прикус с протрузией передних зубов	Ортогнатический прикус с ретрузией передних зубов
Сагиттальный диаметр головки нижней челюсти (D_s)	Муж.	10,7±0,4	10,5±0,4	10,8±0,5	10,3±0,3
	Жен.	9,3±0,4	9,1±0,5	9,7±0,3	8,9±0,4
Поперечный диаметр головки нижней челюсти (D_t)	Муж.	20,3±0,4	19,4±0,6	19,8±0,5	21,0±0,3
	Жен.	20,1±0,6	20,0±0,4	19,7±0,5	21,9±0,5

Таблица 2

Сравнительная оценка морфометрических параметров головки нижней челюсти между группами черепов с ортогнатическим и аномальными формами прикуса

Изученные параметры	Пол	Статистические показатели $X \pm m_x$, мм					
		Ортогнатический прикус	Глубокий прикус	Открытый прикус	Мезиальный прикус	Дистальный прикус	Перекрестный прикус
Сагиттальный диаметр головки нижней челюсти (D_s)	Муж.	12,7 $\pm$ 0,4	8,4 $\pm$ 0,6 ¹	9,3 $\pm$ 0,5	9,5 $\pm$ 0,6	8,3 $\pm$ 0,5 ¹	10,0 $\pm$ 2,3
	Жен.	10,5 $\pm$ 0,4	7,3 $\pm$ 0,5 ¹	9,3 $\pm$ 0,5	9,1 $\pm$ 0,6	7,2 $\pm$ 0,5 ¹	8,9 $\pm$ 2,4
Поперечный диаметр головки нижней челюсти (D_t)	Муж.	20,3 $\pm$ 0,4	19,5 $\pm$ 0,4	19,7 $\pm$ 0,5	19,2 $\pm$ 0,6	19,4 $\pm$ 0,3	19,9 $\pm$ 2,8
	Жен.	19,9 $\pm$ 0,4	20,1 $\pm$ 0,5	20,2 $\pm$ 0,5	19,7 $\pm$ 0,6	19,6 $\pm$ 0,4	19,9 $\pm$ 2,4

Примечание: ¹ – наличие статистически достоверных различий с группой с ортогнатическим прикусом ($p < 0,05$).

Таблица 3

Сравнительная характеристика морфометрических показателей головки нижней челюсти в группах черепов, выделенных по степени сохранности нижнего зубного ряда

Исследуемый параметр	Пол	Статистические показатели $X \pm m_x$, мм		
		ИП	ЧОЗ	ПОЗ
Сагиттальный диаметр головки нижней челюсти (D_s)	Муж.	12,3 $\pm$ 0,3	8,4 $\pm$ 0,3 ²	8,1 $\pm$ 0,4 ¹
	Жен.	11,6 $\pm$ 0,3	8,1 $\pm$ 0,4 ²	7,4 $\pm$ 0,6 ¹
Поперечный диаметр головки нижней челюсти (D_t)	Муж.	19,5 $\pm$ 0,3	18,3 $\pm$ 0,4	17,8 $\pm$ 0,6 ¹
	Жен.	19,8 $\pm$ 0,3	18,1 $\pm$ 0,4	17,3 $\pm$ 0,6 ¹

Примечание: ¹ – статистически значимые различия между группами ИП и ПОЗ ($p < 0,05$); ² – статистически значимые различия между группами ИП и ЧОЗ ($p < 0,05$); ИП – группа с интактным прикусом; ЧОЗ – группа с частичным отсутствием зубов; ПОЗ – группа с полным отсутствием зубов.

При проведении сравнительной характеристики морфометрических параметров головки нижней челюсти при различных видах аномального прикуса установлено, что и у мужчин, и у женщин имеются небольшие статистически достоверные различия (таблица 2).

Так, при глубоком прикусе сагиттальный диаметр головки нижней челюсти (D_s) у мужчин в среднем на 4,3 мм, у женщин – на 3,2 мм меньше по сравнению с ортогнатическим. При дистальном прикусе разница данных показателей составила 4,4 и 3,3 мм соответственно.

При открытом и мезиальном прикусам статистически достоверных различий выявлено не было. Многообразие форм перекрестного прикуса является основной причиной того, что в выделенных группах не обнаружено статистически значимых различий по параметрам, характеризующим головку нижней челюсти. Так, согласно классификации И.И. Ужуменкене [8] выделяют буккальный, лингвальный и буккально-лингвальный перекрестный прикус. При этом отдельно выделяют буккальный прикус без смещения нижней челюсти и с различными видами ее смещения; буккально-лингвальный прикус может быть зубо-альвеолярным, гнатическим и суставным. Перечисленные разновидности перекрестного прикуса могут быть односторонними, дву-

сторонними, симметричными, асимметричными, а также сочетанными.

Статистически достоверные различия по форме головки нижней челюсти в группах черепов, выделенных по виду прикуса, обнаружены не были. Так, во всех группах преобладала овальная ее форма. Вероятно, это связано с тем, что для правильного сопоставления верхней и нижней челюстей в положении центральной окклюзии целесообразно было использовать черепа с полным набором зубов.

Таким образом, четко определенной зависимости между видом прикуса и особенностями строения головки нижней челюсти выявить не удалось, что в целом совпадает с данными, полученными Н.А. Рабухиной с соавт. [6], которые отмечают, что не всегда существует полное соответствие между формой суставных поверхностей височно-нижнечелюстных суставов и видом прикуса.

При разделении черепов по степени сохранности нижнего зубного ряда установлено, что при потере зубов поперечный диаметр головки нижней челюсти подвержен меньшим изменениям, чем ее сагиттальный диаметр (табл. 3).

Так, уменьшение значения поперечного диаметра головки нижней челюсти при полной потере зубов составляет в среднем 4,2 мм и у мужчин,

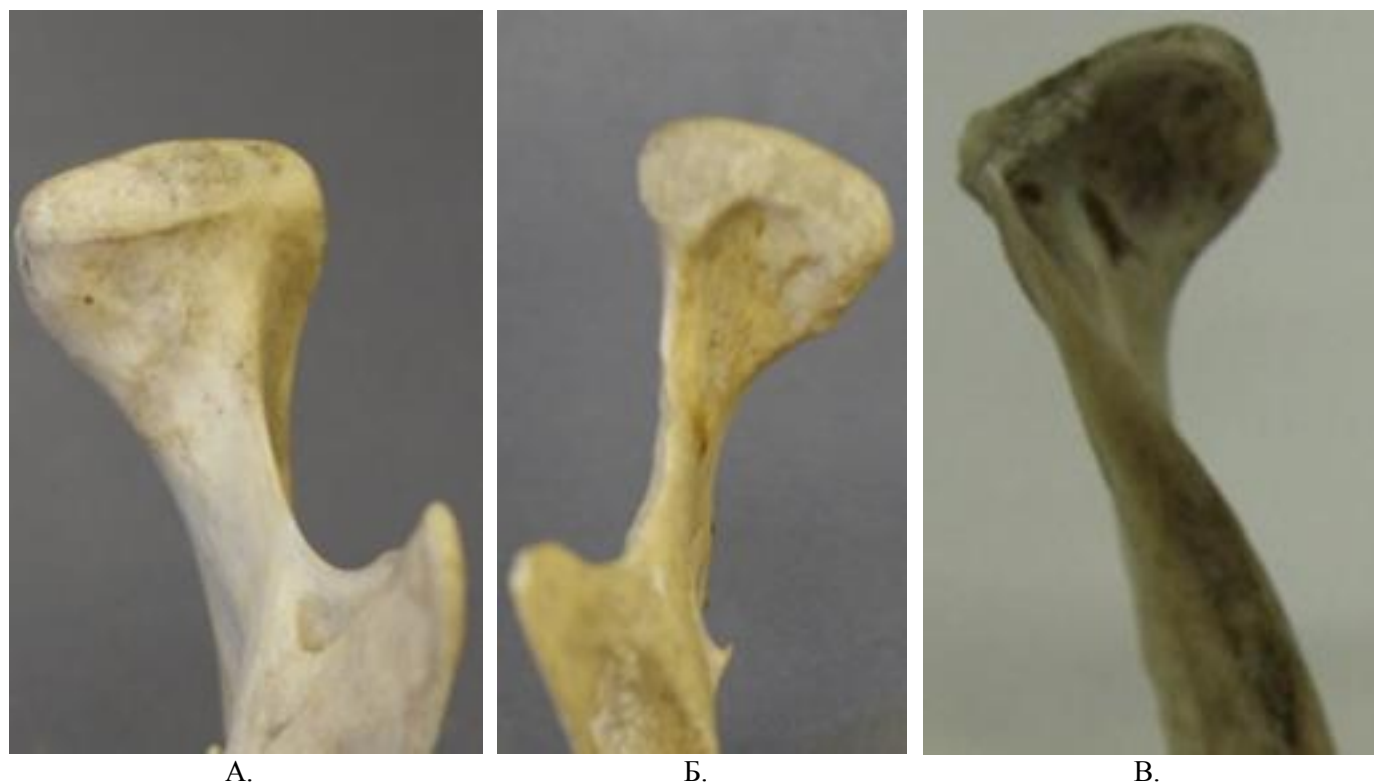


Рис. 1. Варианты строения головки нижней челюсти по Ю.А Гладилину (1969): а) – головка овальной формы; б) – головка бобовидной формы; в) – головка конусовидной формы.

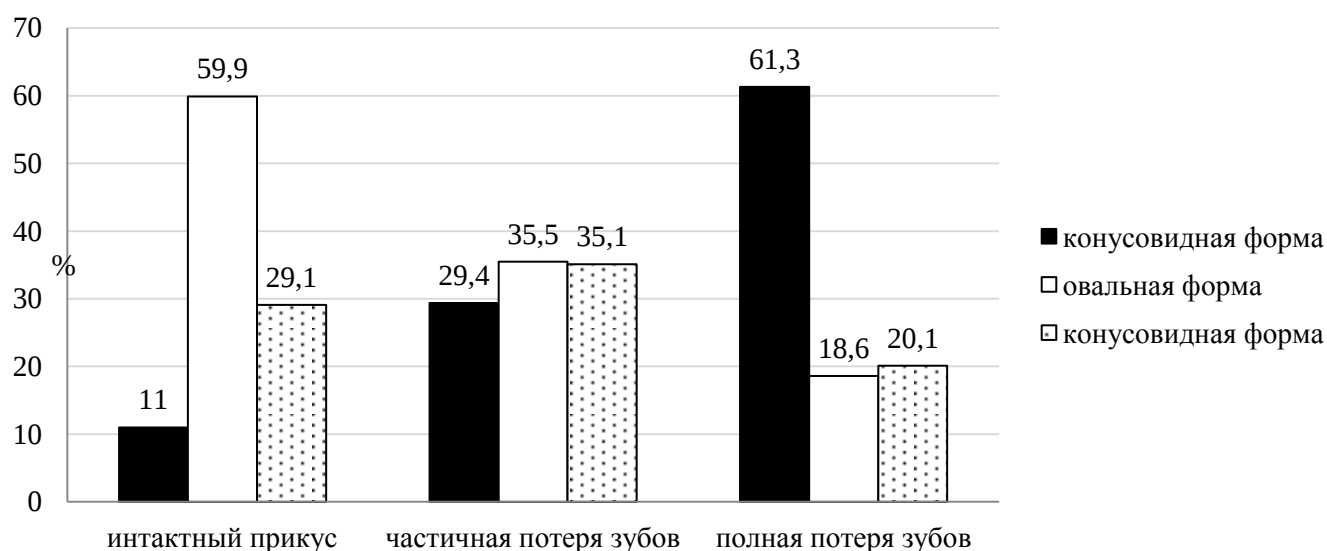


Рис. 2. Встречаемость различных форм головки нижней челюсти в исследуемых группах, %.

и у женщин. В то же время уменьшение значения сагиттального диаметра головки при полной потере зубов составляет 2,1.

Неравномерное уменьшение поперечного и сагиттального диаметров головки нижней челюсти приводит к изменению ее формы, поэтому при потере зубов в большинстве случаев (61,3%) она принимает конусовидную форму, характеризующуюся незначительным сагиттальным диаметром и узкой шейкой. Что касается овальной и бобовидной форм головки, то их распространенность закономерно уменьшается в группе ПОЗ.

При этом овальная форма головки нижней челюсти чаще встречается в группе ИП (59,9%), а бобовидная – в группе ЧОЗ (45,1%) (рис. 1).

Частота различных форм головки нижней челюсти в группах черепов, выделенных по степени сохранности нижнего зубного ряда, представлена на рисунке 2.

Таким образом, выявлено, что при потере зубов наблюдается изменение основных морфометрических параметров и формы головки нижней челюсти.

Таблица 4

Критерий Фишера и ошибка различий морфометрических параметров головки нижней челюсти по сторонам в исследуемых группах черепов

Исследуемый параметр	Статистический критерий			
	F _{ИП-ЧОЗ}	P	F _{ПОЗ-ЧОЗ}	P
1	2	3	4	5
Сагиттальный диаметр головки нижней челюсти (D _s)	9,07	0,01	9,19	0,02
Поперечный диаметр головки нижней челюсти (D _t)	10,5	0,02	10,1	0,01

Примечание: статистически значимые различия выделены полужирным шрифтом; ИП – группа с интактным прикусом; ЧОЗ – группа с частичным отсутствием зубов; ПОЗ – группа с полным отсутствием зубов.

Следует отметить, что в группе черепов с интактным прикусом, а также в группе черепов с полным отсутствием зубов значения морфометрических параметров головки нижней челюсти справа и слева различались в незначительной степени. В группе с частичным отсутствием зубов, в первую очередь, с односторонними дефектами зубных рядов (II и III классы по классификации Е. Kennedy (1928)), получены значительные различия параметров с контрлатеральных сторон. Для изучения влияния односторонних дефектов зубных рядов на морфометрические показатели суставных поверхностей ВНЧС оценивалась разница показателей для каждого параметра с контрлатеральных сторон. Оценивались различия между изученными группами методом дисперсионного анализа (ANOVA) (таблица 4).

Соответственно, можно сделать вывод, что различия между параметрами головки нижней челюсти на стороне дефекта зубного ряда и на противоположной стороне в группе с частичным отсутствием зубов не случайны.

Следует отметить, что выявленные особенности строения головки нижней челюсти при изученных состояниях зубочелюстной системы могут приводить к изменениям в работе височно-нижнечелюстного сустава, и соответственно его дисфункциональным нарушениям, которые будут наиболее выражены при полной потере зубов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Булычева Е.А., Чикунов С.О., Алпатьева Ю.В. Разработка системы восстановительной терапии больных с различными клиническими формами заболеваний височно-нижнечелюстного сустава, осложненных мышечной гипертензией: Ч. 3 // Институт стоматологии. – 2013. – № 2. – С. 44-45. [Bulycheva E.A., Chikunov S.O., Alpat'yeva Yu.V. Development of a restorative therapy system for patients with various clinical forms of temporomandibular joint diseases complicated by muscle hypertension: Pt. 3. Institut stomatologii. 2013; (2): 44-45 (in Russ.)].
2. Дорошина В.Ю., Макеева И.М., Проценко А.С. Стоматологическая диспансеризация студентов московских вузов и пути повышения ее эффективности // Стоматология. – 2010. – Т. 89, № 1. – С. 7-9. [Doroshina V.Iu., Makeeva I.M., Protsenko A.S. Stomatological dispensary treatment of students of Moscow higher educational establishments and ways of its improvement. Stomatologiya. 2010; 89 (1): 7-9. (in Russ.)].
3. Каспарова Н.Н., Колесов А.А., Воробьев Ю.И. Заболевания височно-нижнечелюстного сустава у детей и подростков. – М.: Медицина, 1981. – 159 с. [Kasparova N.N., Kolesov A.A., Vorob'yev Yu.I. Diseases of the temporomandibular joint in children and adolescents. M.: Meditsina; 1981: 159 (in Russ.)].
4. Коваленко А.Ю., Ирошникова Е.С. Особенности обследования пациентов с аномалиями окклюзии, осложненными вертикальными деформациями зубных рядов // Dental Forum. – 2012. – № 3. – С. 47-48. [Kovalenko A.Yu., Iroshnikova E.S. Features of examination of patients with occlusion abnormalities complicated by vertical deformations of dentition. Dental Forum. 2012; (3): 47-48. (in Russ.)].
5. Куроедова В.Д., Макарова А.И. Распространенность зубочелюстных аномалий у взрослых и доля асимметричных форм среди них // Мир Медицины и Биологии. – 2012. – Т. 35, № 4. – С. 31-35. [Kuroedova V.D., Makarova A.N. Prevalence of malocclusion in adults and share of asymmetric forms among them. Mir Meditsiny i Biologii. 2012; 35 (4): 31-35 (in Russ.)].
6. Рабухина Н.А., Семкин В.А., Аржанцев Н.П. Современные подходы к диагностике и лечению дисфункций височно-нижнечелюстного сустава // Стоматология. – 1994. – Т. 73, № 4. – С. 26-28. [Rabukhina N.A., Semkin V.A., Arzhantsev N.P. Modern approaches to diagnosis and treatment of temporomandibular joint dysfunction. Stomatologiya. 1994; 73 (4): 26-28 (in Russ.)].
7. Трезубов В.Н., Щербakov А.С., Мишнев Л.М. Ортопедическая стоматология. – СПб.: Фолиант, 2002. – 592 с. [Trezubov V.N., Shcherbakov A.S., Mishnev L.M. Orthopedic stomatology. SPb.: Foliant; 2002: 592 (in Russ.)].
8. Ужумецкене И.И. Устранение аномалий зубочелюстно-лицевой системы у взрослых как один из методов лечения артропатии // Стоматология. –

1973. – Т. 51, № 2. – С. 51-53. [Uzhumetskene I.I. Elimination of anomalies of the maxillofacial system in adults as one of the methods of treating arthropathy. Stomatologiya. 1973; 51 (2): 51-53 (in Russ.)].
9. Щербakov A.C., Петрикас И.В., Буланов В.И., Загорко М.В. Изучение распространенности и диагностика функциональных нарушений ВНЧС у лиц молодого возраста // Институт стоматологии. – 2013. – № 1 – С. 18-19. [Shcherbakov A.S., Petrikas I.V., Bulanov V.I., Zagorko M.V. Investigation of occurrence and diagnostics of malfunction of temporal mandibular joint (TMJ) in young patients. Institut stomatologii. 2013; (1): 18-19 (in Russ.)].
10. Mesnard M., Ramos A., Simões J.A. Influences of implant condyle geometry on bone and screw strains in a temporomandibular implant // J. Craniomaxillofac. Surg. – 2014. – Vol. 42, N 3. – P. 194-200.
11. Sanders A.E., Slade G.D. Gender modifies effect of perceived stress on orofacial pain symptoms: National Survey of Adult Oral Health // J. Orofac. Pain. – 2011. – Vol. 25, N 4. – P. 317-326.

РЕГУЛЯТОРНЫЕ ПЕПТИДЫ СЕМЕЙСТВА МЕЛАНКОРТИНОВ: БИОСИНТЕЗ, РЕЦЕПЦИЯ, БИОЛОГИЧЕСКИЕ ЭФФЕКТЫ

© Додонова С.А., Белых А.Е., Бобынцев И.И.

Кафедра патофизиологии, НИИ общей патологии
Курского государственного медицинского университета, Курск
E-mail: bobig@mail.ru

В обзоре выполнен анализ данных литературы о биосинтезе, рецепции, деградации и физиологических эффектах регуляторных пептидов семейства меланокортинов. Представлены данные о взаимодействии меланокортинов с нейромедиаторами головного мозга, а также их влиянии на функциональное состояние регуляторных систем организма. Отражены нейротропные и иммунотропные эффекты пептидов семейства меланокортинов, а также их влияние на отдельные органы и системы, в частности: печень, сердечно-сосудистую систему и гемостаз. Описаны основные фармакологические эффекты и механизмы действия созданного на основе синтетического фрагмента АКТГ препарата «Семакс». Приведенные в обзоре данные отражают обоснованные значительным количеством исследований представления о высокой физиологической активности и полифункциональности регуляторных пептидов семейства меланокортинов, а также перспективность создания на их основе новых фармакологических препаратов.

Ключевые слова: меланокортины, АКТГ, рецепция, биосинтез, биологические эффекты, семакс.

REGULATORY PEPTIDES OF THE MELANOCORTIN FAMILY: BIOSYNTHESIS, RECEPTION, BIOLOGICAL EFFECTS

Dodonova S.A., Belykh A.E., Bobyntsev I.I.

Department of Pathophysiology, Institute of General Pathology of Kursk State Medical University, Kursk

The survey analyzes the literature data on biosynthesis, reception, degradation, and physiological effects of the melanocortin family regulatory peptides. Information on the interaction of melanocortins with neurotransmitters of the brain, as well as their effect on the functional state of the organism regulatory systems, is presented. The neurotropic and immunotropic effects of peptides of the melanocortin family are reflected, as well as their effect on separate organs and systems, in particular: liver, cardiovascular system and hemostasis. The main pharmacological effects and mechanisms of action of the "Semax" drug created on the basis of the ACTH synthetic fragment are described. The data presented in the survey reflect the significant physiological activity and polyfunctionality of regulatory peptides of the melanocortin family, substantiated by a considerable number of studies, as well as the prospects of creating new pharmacological melanocortin-based preparations.

Keywords: melanocortins, ACTH, reception, biosynthesis, biological effects, Semax.

Со времени открытия первых регуляторных пептидов (РП) прошло более полувека и к настоящему времени в различных областях науки накоплен значительный материал об их участии в регуляции различных процессов в организме. При этом по результатам многочисленных исследований установлен полифункциональный характер их биологических эффектов вследствие прямого или опосредованного вовлечения во множество физиологических и патологических реакций [1, 2]. Накопленный объем информации также позволил разработать различные структурно-функциональные классификации, согласно большинству которых к РП относятся вещества белковой природы, содержащие не более 45 аминокислотных кислотных, вырабатывающиеся практически во всех органах и имеющие плейотропность действия [2, 3]. В настоящее время известно около 25 семейств и более 6000 видов РП, к числу которых относятся и меланокортины (МК): АКТГ, МСГ, их фрагменты и синтетические аналоги [2]. Многостороннее исследование эффектов

пептидов данной группы позволило не только глубоко изучить их роль в регуляции функций организма в норме и при патологии, но и разработать фармакологический препарат семакс [26]. Кроме известного всем влияния на синтез гормонов в коре надпочечников, МК имеют нейропротективный и противовоспалительный эффекты, влияют на процессы памяти, обучения, мотивации, поведения, оказывают воздействие на сердечно-сосудистую систему, взаимодействуют с опиоидной системой [15].

Учитывая вышеизложенное, представлялось целесообразным провести анализ и обобщение данных литературы о биологических и фармакологических эффектах пептидов семейства меланокортинов.

БИОСИНТЕЗ

МК образуются из одного общего белка-предшественника – пропiomеланокортина (ПОМК), который включает в себя аминокислотные после-

довательности АКТГ, МСГ, α -, β -, γ -эндофинов, мет-энкефалина, липотропина [43]. Основными клетками, содержащими ПОМК, являются нейроны вентромедиальной части гипоталамуса, ядра солитарного тракта в стволе головного мозга, амигдалы [16].

В результате ряда биохимических трансформаций и протеолитических расщеплений из прекурсорной молекулы ПОМК образуются активные метаболиты. На сегодняшний день хорошо изучены ферменты, ответственные за внутриклеточный процессинг ПОМК из семейства сериновых протеиназ субтилизин/кексинового типа [51]. У млекопитающих известны семь пропротеиновых конвертаз (PC), осуществляющих посттрансляционный процессинг ПОМК и его производных: PC1 (также известная как PC3 и SPC3 – subtilisin-like proprotein convertase), PC2/SPC2, фурин (SPC1), PACE4 (paired basic amino acid cleaving enzyme)/SPC4, PC4/SPC5, PC5 (синонимы: PC6 и SPC6) и PC7 (синонимы: SPC7, LPC или PC8) [60]. Сохранение каталитических доменов и их вариабельность предполагает, что гены PC эволюционируют из общего гена-предшественника.

Протеолитический процессинг ПОМК происходит путем расщепления молекулы прогормона PC1- и PC2-конвертазами, которые распознают пару основных остатков (лизин и аргинин) и расщепляют связь между ними. Затем следует отщепление основных остатков с С-конца при помощи карбоксипептидазы E. В результате действия PC1 генерируется АКТГ, β -липотропин, а PC2 необходима для продукции α -МСГ, и β -эндорфина [45]. PACE4 и фурин могут также генерировать АКТГ и β -липотропин одновременно как в гипофизе, так и экстрагипофизарно. Производные ПОМК находятся в секреторных гранулах и выделяются в кровь под действием факторов внешней среды [16]. Однако, несмотря на то что указанные пептиды образуются из одной общей прекурсорной молекулы, их концентрация в крови различается, что связано с различной устойчивостью к действию протеолитических ферментов [46].

РЕЦЕПЦИЯ

Со времени открытия меланокортиновых рецепторов (MCRs) прошло уже около 30 лет, но информация об их локализации и значении постоянно расширяется. В настоящее время известно пять типов рецепторов, обозначаемых как MC1R-MC5R. Известно их участие в реализации различных физиологических функций, включая регуляцию пигментации, стероидогенеза, поведения, питания, энергетического гомеостаза, а так-

же влияние на экзокринную функцию. Меланокортиновые рецепторы принадлежат к семейству рецепторов серпантинного типа и являются семи-доменными трансмембранными белками, сопряженными с G-протеинами [23, 55].

Меланокортиновые рецепторы всех 5 типов имеют общее строение: на С-конце присутствует цистеиновый остаток, который является возможным сайтом для ацетилирования жирных кислот, а на N-конце рецептора находится фрагмент, способный к N-гликолизированию [16]. Для MC-рецепторов была показана активация внутриклеточного сигнального пути через связь с α -субъединицей гетеротримерного G-протеина ($G\alpha$), который также включает в свою структуру β и γ субъединицы [31].

Все типы MC-рецепторов функционально сопряжены с аденилатциклазой, которая, в свою очередь, увеличивает внутриклеточное содержание ц-АМФ и активирует ц-АМФ-зависимый сигнальный путь [31]. Также имеются данные об активации фосфоинозитолового пути рецепторами MCR3 и системы Jак/STAT рецепторами MCR5 [27]. MC-рецепторы, за исключением MCR5, характеризуются высокой степенью собственной лиганд-независимой активности, проявляющейся способностью стимулировать синтез ц-АМФ в отсутствие агониста. Анализ аминокислотного состава показал, что все меланокортины имеют общую последовательность АКТГ₆₋₉, которая является активным центром и необходима для связывания со всеми изученными типами MCR [16, 28]. Последовательность His-Phe-Arg-Trp (HFRW) в положениях 6-9 индуцирует конформационные изменения, необходимые для активации рецептора, является базовой для стимуляции всех рецепторов меланокортинов и может рассматриваться как активный центр пептида [31]. Важно отметить, что природная человеческая мутация Arg 8 в последовательности HFRW приводит к потере биологической активности АКТГ [50], а N-концевая область АКТГ (Ser-Tyr-Ser), усиливает действие последовательности HFRW [31]. Также известно, что для MC-рецепторов характерна медленная диссоциация комплекса «рецептор-лиганд» и после интернализации он может быть достаточно длительно включен в передачу внутриклеточного сигнала [16].

При наличии достаточно большого количества общих свойств между MC-рецепторами имеются существенные различия, которые и определили их разделение на отдельные типы.

Впервые MCR1 были идентифицированы в клетках меланомы. Последующие эксперименты показали, что данный тип рецепторов присутствует на мембранах нормальных меланоцитов, в которых MCR1 контролирует синтез мелатони-

на [41]. Наибольшей аффинностью к MCR1 обладает α -МСГ, менее выраженной – АКТГ [31]. Взаимодействие АКТГ с MCR1 вызывает гиперпигментацию, например, у пациентов с семейной глюкокортикоидной недостаточностью [47]. Очевидно, что функции MCR1 выходят за пределы регуляции меланогенеза: он экспрессируется макрофагами/моноцитами, лимфоцитами с антиген-презентирующими и цитотоксическими функциями, нейтрофилами, эндотелиальными клетками, астроцитами, нейронами околососудистого серого вещества, клетками Лейдинга, клетками желтого тела, трофобластными клетками плаценты, фибробластами и др. [59].

Рецепторы типа MCR2 преимущественно экспрессируются в коре надпочечников и стимулируют продукцию стероидных гормонов в ответ на выброс АКТГ в кровь [47]. Для данного типа характерна высокая селективность и аффинность исключительно к АКТГ с последующей стимуляцией стероидогенеза [31]. MCR2 рецепторы действуют совместно с MC2 добавочным протеином (MRAP), который абсолютно необходим для связывания с АКТГ и передачи сигнала [44]. MRAP имеет отдельный трансмембранный домен и форму антипараллельного гомодимера, стабильно ассоциированного с MCR2 в плазматической мембране [35, 44]. Для активации MCR2 рецепторов особенно важны два участка АКТГ: His-Phe-Arg-Trp (АКТГ₆₋₉) и Lys-Lys-Arg-Arg-Pro (АКТГ₁₆₋₂₀). Вначале АКТГ₁₆₋₂₀ «включает» рецептор и вызывает в нем конформационные изменения, которые дают возможность для связывания АКТГ₆₋₉ с G-белком [44]. Мутации MCR2 рецептора приводят к возникновению семейной глюкокортикоидной недостаточности [47].

Рецепторы типа MCR3 имеют наибольшее сродство к γ -МСГ, однако аффинностью к этому подтипу рецепторов также обладает АКТГ и, в меньшей степени, α -МСГ и β -МСГ. Экспрессия MCR3 наблюдается в структурах головного мозга (кора, таламус, вентромедиальные ядра гипоталамуса), а также в его задней части, в медиальной преоптической зоне, в обонятельном бугорке, прозрачной оболочке, гиппокампе, передней миндалине [40, 42]. MCR3 также идентифицируются в сердце в человеческих моноцитах и в мышечных перитонеальных макрофагах. Предполагается, что MCR3 регулируют высвобождение меланокортинов из ПОМК-содержащих нейронов, функционируя при этом как ауторецепторы [49].

Кроме того, MCR3 принимают участие в модуляции автономных функций, пищевого поведения [24], их активация оказывает противовоспалительное действие и влияет на сердечно-сосудистую систему, энергетический обмен и терморегуляцию [59].

Рецепторы типа MCR4 широко экспрессируются в центральной нервной системе, включая паравентрикулярные ядра гипоталамуса и ствол головного мозга, а также определяются в структурах спинного мозга [38]. Аффинность MCR4 к природным лигандам распределяется следующим образом: α -МСГ > АКТГ > γ -МСГ [31]. MCR4 играет наиболее важную роль в опосредовании катаболических эффектов α -МСГ [37]. Селективное удаление MCR4 в экспериментальной модели на мышах приводило к развитию выраженного ожирения с гиперфагией и снижением энергетического расхода. Мутации гена MCR4 также вели к тяжелым наследственным формам ожирения у пациентов [47]. Установлено, что MCR4 имеют ключевую роль в регуляции чувствительности мозга и периферических тканей к инсулину, а при их блокировании нарушается углеводный обмен, что ведет к метаболическому синдрому и сахарному диабету 2 типа [23]. Также известно, что MCR4 могут увеличивать количество ГАМК, выделяемое нейронами паравентрикулярных ядер гипоталамуса [38].

Последним идентифицированным типом меланокортиновых рецепторов являются MCR5, которые экспрессируются в периферических тканях [47] и обладают наибольшим сродством к α -МСГ, в наименьшей степени – к γ -МСГ [31]. MCR5 в большом количестве локализованы в экзокринных железах (сальных, слезных, семенных), а также в простате и участвуют в регуляции выделения соответствующих секретов [47, 57]. Кроме того, MCR5 представлены в центральной нервной системе, включая гипофиз, стриатум, черную субстанцию. Известно участие MCR5 рецепторов в процессах терморегуляции и выработки феромонов [47].

Следует заметить, что до настоящего времени вопрос о действии аналогов АКТГ через меланокортиновые рецепторы до сих пор остается открытым и предполагается наличие как минимум еще одного неопisanного подтипа рецепторов [9].

МЕХАНИЗМЫ ПРОТЕОЛИЗА

Особенностью всех регуляторных пептидов является их быстрое разрушение под действием эндогенных протеаз с образованием продуктов, также обладающих физиологической активностью. Так, при изучении деградации семакса была подтверждена версия о преимущественном отщеплении N-концевых аминокислот от первоначальной пептидной последовательности, при этом основным продуктом протеолиза является пентапептид HFPGP [9]. Пентапептид и гаптапептид являются мощными ингибиторами энкефалинрасщепляющих ферментов, таким образом,

семакс и его метаболит способны регулировать процесс своей биodeградации [10].

При проведении гидролиза АКТГ₍₆₋₉₎-PGP лейцинаминопептидазой и карбоксипептидазой Y было выявлено, что если гидролиз АКТГ₍₆₋₉₎-PGP происходит под действием лейцинаминопептидазы, то главным продуктом является Trp-Pro-Gly-Pro. Также установлено, что в плазме крови гидролиз АКТГ₍₆₋₉₎-PGP происходит преимущественно под влиянием ферментов, действие которых аналогично действию лейцинаминопептидазы [22].

НЕЙРОТРОПНЫЕ ЭФФЕКТЫ

Известно, что N-концевые фрагменты АКТГ, как и другие представители семейства меланокортинов, обладают нейротрофическим, нейротропным и ноотропным эффектами [9, 54]. Доказано влияние меланокортинов на регуляцию эмоционального состояния и реакции организма на стресс [14]. В условиях повышенного уровня тревожности и депрессивности АКТГ₄₋₇-PGP способен оказывать антидепрессантное и анксиолитическое действие [14] за счет его влияния на функциональную активность серотонинергической системы. Пептид способствует активации этой системы и ускоряет обмен серотонина в мозге [34]. При этом, в отличие от природных меланокортинов, АКТГ₄₋₇-PGP не имеет анксиогенной активности. Вероятной аминокислотной последовательностью в структуре АКТГ, определяющей его анксиогенные свойства, является фрагмент АКТГ₇₋₁₀ (FRWG) [14].

Важным аспектом нейротропной активности меланокортинов является их адаптивное действие за счет влияния на память, обучение и внимание. Фрагменты АКТГ, как и другие пептиды семейства меланокортинов, оказывают ноотропное действие и стимулируют вышеуказанные процессы [6]. Минимальным фрагментом, полностью сохраняющим поведенческие эффекты целой молекулы АКТГ, является АКТГ₄₋₁₀. У фрагмента АКТГ₄₋₇ данный вид активности проявляется в несколько меньшей степени [32]. АКТГ₄₋₇-PGP также обладает ноотропной активностью [15, 48].

При этом установлено, что минимальной последовательностью, необходимой для сохранения ноотропной активности, является АКТГ₅₋₇ (Glu-His-Phe) [13]. Синтетический аналог данной последовательности гексапептид АКТГ₅₋₇-PGP обладает выраженным нейротропным действием и является агонистом природных фрагментов АКТГ в отношении поведенческих эффектов. При исследовании поведенческой активности АКТГ₅₋₇-PGP и АКТГ₄₋₇-PGP было показано, что гексапептид улучшает обучение животных эффективнее,

чем семакс [13]. В отношении аналогов АКТГ Lys4-АКТГ₄₋₇-PGP, R-Met4-АКТГ₄₋₇-PGP (где R – остаток глюконовой кислоты) также получены данные об их нейротропной активности. Данные аналоги являются агонистами нативных фрагментов АКТГ в отношении их влияния на процессы обучения. Установлена выраженная активность Lys4-АКТГ₄₋₇-PGP, R-Met4-АКТГ₄₋₇-PGP при обучении животных в условиях стресса (в тестах с отрицательным подкреплением). Также показано, что N-концевой метионин не является необходимым для поддержания ноотропной активности фрагментов АКТГ [13].

В литературе имеются данные о влиянии семакса на циркадианные ритмы. Так, пептид при хроническом введении оказывает ритмоорганизующее действие на циркадную подвижность крыс [25], увеличивая при этом границы акрофаз [5]. Механизм данного действия может быть обусловлен влиянием семакса на активность серотонинергической системы, которая участвует в организации циркадианных ритмов [14-13].

В многочисленных исследованиях установлено влияние фрагментов и аналогов АКТГ на формирование боли, которые, однако, являются достаточно противоречивыми. В частности, показано повышение порога болевой чувствительности при системном введении АКТГ как животным, так и человеку. Однако внутрижелудочковое введение АКТГ₁₋₂₄ приводило к гиперальгезии у крыс, и данный эффект потенцировался введением налоксона [16]. Доказанным является наличие анальгетического эффекта у гептапептида аналога АКТГ₄₋₁₀, который при периферическом введении снижает болевую чувствительность у животных [12]. При исследовании других фрагментов АКТГ кроме семакса анальгетической активностью обладали его аналоги с заменой N-концевого метионина на лизин и с модификацией N-концевого метионина присоединением остатка глюконовой кислоты [39]. Однако замена метионина на глицин приводила к исчезновению влияния пептида на болевую чувствительность. Аналоги семакса, укороченные с N-конца (EHFPGP и HFPGP), так же не оказывают влияния на болевую чувствительность, как и трипептид АКТГ₅₋₇ [39]. Анальгетическое действие фрагментов и аналогов АКТГ частично ослабевает при предварительной блокаде опиоидных рецепторов и отсутствует на фоне блокады серотониновых рецепторов.

Нейротропные эффекты семакса во многом обусловлены его взаимодействием с медиаторными системами, в частности, с серотонинергической и норадреналинергической. Иллюстрацией данных эффектов пептида могут являться данные о том, что в нисходящей системе контроля болевой чувствительности медиаторами антиноцицеп-

тивных импульсов служат серотонин и норадреналин, поэтому семакс может потенцировать антиноцицептивный поток нисходящих влияний, активируя эти системы [15]. АКТГ₄₋₇-PGP может оказывать положительный модулирующий эффект и на дофаминергическую систему [10].

В настоящее время значительный интерес представляют данные о нейропротективных и нейротрофических эффектах меланокортинов [48]. Так, в случае повреждения периферического нерва короткая последовательность АКТГ₁₋₂₄ являлась эффективным ростовым фактором, ускоряющим регенерацию нерва [16]. Механизм нейропротективных и нейротрофических влияний может быть реализован за счет увеличения под действием семакса экспрессии генов нейротрофинов (BDNF, NGF) в клетках ряда структур мозга [20], в том числе в базальных ядрах переднего мозга и гиппокампе [8, 33]. Нейротрофины, в свою очередь, предотвращают дегенерацию нейронов, стабилизируют цитоскелет, стимулируют нейрогенез, защищают клетку от окислительного стресса, регулируют баланс нейротрансмиттеров [7]. BDNF также принимает участие в регуляции состояний, связанных со стрессом, страхом, депрессией, тревожностью. Поэтому увеличение экспрессии нейротрофинов в гиппокампе под действием фрагментов аминокислотных последовательностей АКТГ может находиться в основе их анксиолитического и антидепрессивного действия [15]. Кроме того, повышение уровня BDNF в гиппокампе может являться механизмом реализации ноотропных эффектов семакса, так как показано вовлечение нейротрофинов в процессы обучения [4-24], исследовательское поведение [21].

ИММУНОТРОПНЫЕ ЭФФЕКТЫ

Многосторонние структурно-функциональные взаимосвязи между регуляторными системами организма (нервной, иммунной и эндокринной) показаны в многочисленных современных исследованиях. Изменения состояния нервной и эндокринной систем сопровождаются сдвигами в функциональном состоянии иммунной системы. Важным механизмом в процессах взаимодействия регуляторных систем в процессе интеграции систем организма и в осуществлении его адаптивных реакций является активация гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси. Поэтому большое внимание как компоненту данного нейроэндокринного механизма уделяется АКТГ, который рассматривается в качестве противовоспалительного пептида с иммунносупрессивным действием [28], и другим меланокортиновым пептидам. Противовоспалительные влияния данных

пептидов проявляются через ингибирование синтеза воспалительных медиаторов, снижение миграции иммунных клеток к очагу воспаления, стимуляцию выброса противовоспалительных агентов, которые реализуются за счет их связывания с МС-рецепторами на иммунокомпетентных и глиальных клетках, а также включения нисходящих противовоспалительных влияний центральных меланокортинов. В экспериментах на мышцах установлены ингибирующие эффекты АКТГ₁₋₂₄ на синтез TNF- α , IL-6 и NO, обладающих выраженным провоспалительным действием. Также показан антипиретический эффект АКТГ₁₋₂₄ при центральном и периферическом введении [28].

Кроме того, под действием АКТГ происходит ингибирование антителопродукции, ингибируется продукция γ -интерферона Т-лимфоцитами, снижается интерферонзависимая противоопухолевая активность макрофагов, но усиливается синтез ФНО активированными макрофагами. Большинство иммунотропных эффектов АКТГ, вероятно, обусловлено взаимодействием пептида с MCR3 на поверхности макрофагов и лимфоцитов [13].

В экспериментах на мышцах показано влияние АКТГ₁₅₋₁₈ на клеточный иммунитет со стороны в виде модулирующего эффекта на адгезию, распластывание и миграцию макрофагов. В низких концентрациях АКТГ₁₅₋₁₈ стимулировал данные процессы, а в физиологических более высоких дозах, напротив, ингибировал распластывание и миграцию клеток [13].

Важное значение для выяснения механизмов противовоспалительного действия меланокортинов имело доказательство их ингибирующего влияния на ядерный фактор роста (NF- κ B – nuclear factor κ B), который индуцирует транскрипцию многих вовлеченных в воспалительный процесс молекул (цитокинов и их рецепторов, хемокинов, факторов роста, молекул адгезии). NF- κ B присутствует практически во всех типах эукариотических клеток. На данный фактор ингибирующее влияние оказывает α -МСГ (например, в клетках человеческой глиомы, макрофагах, фибробластах, эндотелиальных клетках, кератиноцитах, меланоцитах, шванновских клетках и др.). В отношении подобных эффектов АКТГ информация ограничена [29].

ВЛИЯНИЕ НА СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТУЮ СИСТЕМУ, ПЕЧЕНЬ И ГЕМОСТАЗ

Влияние меланокортинов на сердечно-сосудистую систему зависит от структуры и способа их введения. Так, внутривенное введение γ -МСГ, а также его аналогов des-Gly12 (γ ₁-МСГ) и Lys- γ ₂-МСГ, вызывает выраженный прессорный

эффект и тахикардию [56], тогда как после введения АКТГ₄₋₁₀ их выраженность была в 5-10 раз меньше. Предполагается, что для полноценного получения данных эффектов *in vivo* необходима последовательность АКТГ₆₋₉ (His-Phe-Arg-Trp) с С-конца молекулы [58]. Данные эффекты пептидов, по-видимому, обусловлены увеличением симпатических влияний на сосудистую стенку и сердце, а также активацией серотонинергической системы. Вторичное значение, как полагают авторы, имеет активация централизованных механизмов регуляции артериального давления через МС-рецепторы. Эти рецепторы, вероятно, локализованы в области переднего желудочка (AV3V) – области головного мозга, расположенной вне гематоэнцефалического барьера, к которой имеют доступ циркулирующие пептиды. Возможно, данные рецепторы могут быть меланокортиновыми рецепторами подтипа, который еще не идентифицирован. Кроме того, пептиды могут связываться с другими рецепторами, для которых с С-концевой последовательностью Arg-Phe имеют сродство, например, FMRF-рецептор [58].

Напротив, АКТГ₁₋₂₄ обладает депрессорным эффектом в сочетании с рефлекторной тахикардией, при этом действие пептида не зависит от присутствия надпочечников. Депрессорное влияние, наблюдаемое после внутривенного введения АКТГ₁₋₂₄, может быть обусловлено активацией MCR2, расположенных в периферических сосудах. Меланокортины улучшают сердечно-сосудистую функцию и выживаемость при экспериментальном геморрагическом шоке у разных видов животных. АКТГ₁₋₂₄ является наиболее мощным меланокортином в этой экспериментальной модели, однако α -МСГ и [Nle4, D-Phe7] α -МСГ и АКТГ₄₋₁₀ также весьма эффективны. Поскольку АКТГ₄₋₁₀ является довольно слабым агонистом всех типов рецепторов меланокортина, вызывает затруднение определение подтипа, участвующего в реализации данного эффекта [58].

В литературе имеются данные о влиянии синтетических аналогов АКТГ на печень, в которой может возникнуть широкий спектр патологических изменений под действием стресса [11, 52]. При этом на фоне введения пептида в условиях как однократного, так и многократного эмоционально-болевого воздействия и иммобилизации наблюдалось восстановление протеинсинтетической функции печени, нормализация активности сывороточных трансаминаз, коррекция свободно-радикального окисления, а также снижение выраженности дистрофических изменений гепатоцитов и активация репаративных процессов [4].

В настоящее время в литературе имеются данные о механизмах взаимодействия АКТГ₄₋₇-PGP с компонентами системы гемостаза. Так, показано усиление антикоагулянтного и фибринолитического потенциала плазмы (общая фибринолитическая активность, активность активатора плазминогена) и снижение концентрации антиплазмина на фоне интраназального введения семакса [30, 36]. Подобные эффекты семакса, в том числе антиагрегационный в отношении тромбоцитов, были продемонстрированы в условиях однократного и многократного стрессорного воздействия путем иммобилизации. [17]. Известно, что под действием стрессора в системе гемостаза могут наблюдаться сдвиги в виде как активации, так и угнетения отдельных ее звеньев [17], в частности, угнетение антикоагулянтной и фибринолитической активности крови с одновременной активацией тромбоцитарного звена гемостаза в условиях продолжительного стресса [53].

Также установлена фибриндеполимеризационное и антикоагулянтное действие *in vitro* комплексного соединения гепарин-семакс [19], а также его фибринстабилизирующая активность на фоне снижения активности фактора VIIa [18]. Однако следует отметить, что данные эффекты семакса являются неспецифичными, так как они характерны и для других пептидов, содержащих глипролины [17]. Например, пролинсодержащие пептиды Gly-Pro и Gly-Pro-Arg, также обладают антикоагулянтной и фибринолитической активностью. Поэтому представляет интерес изучение влияния отдельных N-концевых фрагментов АКТГ на состояние гемостаза в условиях исключения эффектов пролинсодержащих молекул.

Таким образом, в настоящее время на основании значительного количества исследований показана физиологическая полифункциональность и высокая биологическая активность регуляторных пептидов семейства меланокортинов. Важным достижением ученых, работающих в данном направлении, явилось создание и широкое внедрение в клиническую практику высокоэффективного нейротропного препарата семакс. Результаты продолжающихся исследований позволяют предполагать возможность создания и других фармакологических препаратов на основе пептидов данного семейства для коррекции не только неврологической патологии, но целого ряда других видов расстройств функций организма.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Ашмарин И.П., Королева С.В. Закономерности взаимодействия и функциональный континуум нейропептидов (на пути к единой концепции) // Вестн. Рос. академии мед. наук. – 2002. – № 6. – С. 40-48. [Ashmarin I.P., Koroleva S.V. The patterns

- of interaction and the functional continuum of neuropeptides (on the way to a unified concept). *Vestnik Rossiyskoy akademii meditsinskikh nauk*. 2002; (6): 40-48. (in Russ.).
2. Ашмарин И.П., Королева С.В., Мясоедов Н.Ф. Синактоны – функционально связанные комплексы эндогенных регуляторов // *Экспер. и клин. фармакол.* – 2006. – Т. 69, № 5. – С. 3-6. [Ashmarin I.P., Koroleva S.V., Myasoedov N.F. Synactones – functionally conjugated complexes of endogenous regulators. *Ekspperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*. 2006; 69 (5): 3-6 (in Russ.).]
3. Ашмарин И.П. Структурно-функциональная классификация регуляторных пептидов. Что включать в нее для минимальной ориентации широкого круга нейробиологов и нейрофизиологов, аспирантов и студентов старших курсов? // *Нейрохимия*. – 2007. – Т. 24, № 2. – С. 180-185. [Ashmarin I.P., Danilova R.A., Belopolskaya M.V., Rudko O.I., Obukhova M.F., Shmalgausen E.V. Induction of autoimmunity against endogenous neuroregulators isatin and cholecystokinin as a method of modeling and correction of depressive behavior. *Neurochemical Journal*. 2007; 1 (2): 133-137].
4. Бобынцев И.И., Шепелева О.М., Крюков А.А., Иванов А.В., Бельх А.Е. Влияние пептида АКГГ₄₋₇-ППГ на функциональное состояние гепатоцитов крыс при остром и хроническом эмоционально-болевым стрессе // *Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова*. – 2015. – Т. 101, № 2. – С. 171-179. [Bobyntsev I.I., Shepeleva O.M., Kryukov A.A., Ivanov A.V., Belykh A.E. The effect of peptide ACTH 4-7-PGP on functional hepatocyte state in rats in acute and chronic foot-shock stress. *Rossiyskiy fiziologicheskiy zhurnal im. I.M. Sechenova*. 2015: 101 (2): 171-179 (in Russ.).]
5. Будкевич Р.О., Евдокимов И.А., Будкевич Е.В. Влияние фрагмента АКГГ(4-10) на циркадные ритмы гормонов в плазме крови крыс при употреблении хлорида кадмия с питьевой водой // *Сибирский медицинский журнал (Иркутск)*. – 2012. – Т. 112, № 5. – С. 80-83. [Budkevich R.O., Evdokimov I.A., Budkevich E.V. Effect of ACTH(4-10)-fragment on circadian rhythms of hormones in blood plasma of rats under influence of cadmium chloride in drinking water. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal (Irkutsk)*. 2012; 112 (5): 80-83 (in Russ.).]
6. Глазова Н.Ю., Атанов М.С., Пызгарева А.В., Андреева Л.А., Манченко Д.М., Марков Д.Д., Иноземцева Л.С., Долотов О.В., Левицкая Н.Г., Каменский А.А., Гривенников И.А., Мясоедов Н.Ф. Исследование нейротропной активности аналога фрагмента АКГГ – АКГГ₇₋₁₀PPG // *Доклады Академии наук*. – 2011. – Т. 440, № 4. – С. 544-549. [Glazova N.YU., Atanov M.S., Pyzgareva A.V., Andreeva L.A., Manchenko D.M., Markov D.D., Inozemtseva L.S., Dolotov O.V., Levitskaya N.G., Kamenskiy A.A., Grivennikov I.A., Myasoyedov N.F. Study of the neurotropic activity of the analogue of the ACTH fragment – ACTH₇₋₁₀PPG. *Doklady Akademii nauk*. 2011; 440 (4): 544-549 (in Russ.).]
7. Гомазков О.А. Нейротрофины: терапевтический потенциал // *Природа*. – 2012. – № 5. – С. 62-70. [Gomazkov O.A. Neutrotrofiny: terapevticheskiy potentsial. *Priroda*. 2012; (5): 62-70 (in Russ.).]
8. Долотов О.В., Дубынина Е.В., Марков Д.Д., Иноземцева Л.С., Яценко К.А., Гривенников И.А. Влияние меланокортинов на экспрессию ряда нейротрофических факторов в клетках гиппокампа крысы // *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии*. – 2011. – Т. 9, № 4. – С. 10-16. [Dolotov O.V., Dubynina E.V., Inozemtseva L.S., Markov D.D., Yatsenko K.A., Grivennikov I.A. Melanocortins Modulate Expression of Several Neurotrophic Factors in Rat Hippocampal Cells in Vitro. *Voprosy biologicheskoy, meditsinskoy i farmatsevticheskoy khimii*. 2011; 9 (4): 10-16 (in Russ.).]
9. Долотов О.В., Золотарев Ю.А., Дорохова Е.М., Андреева Л.А., Алфеева Л.Ю., Гривенников И.А., Мясоедов Н.Ф. Связывание аналога АСТН-(4-10)-гептапептида семакс с плазматическими мембранами базальных ядер переднего мозга крысы и его биодegradация // *Биоорганическая химия*. – 2004. – Т. 30, № 3. – С. 241-246. [Dolotov O.V., Zolotar-ev Yu.A., Dorokhova E.M., Andreeva L.A., Alfeeva L.Yu., Grivennikov I.A., Myasoedov N.F. The binding of Semax, ACTH 4-10 heptapeptide, to plasma membranes of the rat forebrain basal nuclei and its biodegradation. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*. 2004; 30 (3): 213-217].
10. Еремин К.О., Сарансаари П., Ойя С., Раевский К.С. Семакс усиливает эффекты D-амфетамина на уровень внеклеточного дофамина в стриатуме крыс спрег-доули и на локомоторную активность мышей C57BL/6 // *Эксперим. и клин. фармакология*. – 2004. – Т. 67, № 2. – С. 8-11. [Eremin K.O., Saransaari P., Oja S., Raevskii K.S. Semax potentiates the effect of d-amphetamine on the level of extracellular dopamine in the striatum of sprague-dawley rats and on the locomotor activity of C57BL/6 mice. *Ekspperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*. 2004; 67 (2): 8-11 (in Russ.).]
11. Иванов А.В., Бобынцев И.И., Шепелева О.М., Крюков А.А., Андреева Л.А., Мясоедов Н.Ф. Морфологические изменения печени крыс при стрессе и их особенности при введении семакса // *Морфология*. – 2017. – Т. 151, № 1. – С. 39-43. [Ivanov A.V., Bobyntsev I.I., Shepeleva O.M., Kryukov A.A., Andreeva L.A., Myasoyedov N.F. Morphological changes in the liver of rats exposed to stress and their peculiarities after administration of Semax. *Morfologiya*. 2017; 151 (1): 39-43 (in Russ.).]
12. Иванова Д.М., Левицкая Н.Г., Андреева Л.А., Каменский А.А., Мясоедов Н.Ф. Сравнительное исследование анальгетической активности фрагмента АКГГ 4-10 и его аналога семакса // *Бюлл. эксперим. биол. и мед.* – 2007. – Т. 143, № 1. – С. 8-12. [Ivanova D.M., Kamenskii A.A., Levitskaya N.G., Andreeva L.A., Myasoedov N.F. Comparative study of analgesic potency of ACTH4-10 fragment and its analog semax. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2007; 143 (1): 5-8].
13. Ковалицкая А.Ю., Фунтикова А.Н., Садовников В.Б., Наволоцкая Е.В. Действие АКГГ-подобных пептидов на миграцию и расплавление перитонеальных макрофагов мыши in vitro // *Рос-*

- сийский иммунологический журнал. – 2011. – Т. 5, № 1. – С. 3-10. [Kovalitskaya Yu.A., Funtikova A.N., Sadovnikov V.B., Navolotskaya E.V. The influence of ACTH-like peptides on migration, adhesion and spreading of mouse peritoneal macrophages in vitro. Rossiyskiy immunologicheskii zhurnal. 2011; 5 (1): 3-10 (in Russ.).]
14. Левицкая Н.Г., Виленский Д.А., Себенцова Е.А., Андреева Л.А., Каменский А.А., Мясоедов Н.Ф. Влияние семакса на эмоциональное состояние белых крыс в норме и на фоне действия холецистокинина-тетрапептида // Известия РАН. Серия биологическая. – 2010. – № 2. – С. 231-237. [Levitskaya N.G., Sebentsova E.A., Andreeva L.A., Myasoedov N.F., Vilenskii D.A., Kamensky A.A. Influence of semax on the emotional state of white rats in the norm and against the background of cholecystokinin-tetrapeptide action. Biology Bulletin. 2010; 37 (2): 186-192].
15. Левицкая Н.Г., Глазова Н.Ю., Себенцова Е.А., Манченко Д.М., Виленский Д.А., Андреева Л.А., Каменский А.А., Мясоедов Н.Ф. Исследование спектра физиологической активности аналога АКГГ₄₋₁₀ гептапептида семакса // Нейрохимия. – 2008. – Т. 25, № 1-2. – С. 111-118. [Levitskaya N.G., Glazova N.Yu., Sebentsova E.A., Manchenko D.M., Vilensky D.A., Andreeva L.A., Kamensky A.A., Myasoedov N.F. Study of Spectrum of Physiological Effects of ACTH₄₋₁₀ Analog Heptapeptide Semax. Neyrokhimiya. 2008; 25 (1-2): 111-118. (in Russ.).]
16. Левицкая Н.Г., Каменский А.А. Меланокортиновая система // Успехи физиол. наук. – 2009. – Т. 40, № 1. – С. 44-65. [Levitskaya N.G., Kamensky A.A. Melanocortin System. Uspekhi fiziologicheskikh nauk. 2009; 40 (1): 44-65. (in Russ.).]
17. Ляпина Л.А., Григорьева М.Е., Андреева Л.А., Мясоедов Н.Ф. Защитные противотромботические эффекты пролинсодержащих пептидов при стрессовых воздействиях на организм животных // Известия РАН. Серия биологическая. – 2010. – № 4. – С. 462-467. [Lyapina L.A., Grigor'eva M.E., Andreeva L.A., Myasoedov N.F. Protective antithrombotic effects of proline-containing peptides under the influence of stress on the animal organism. Biology Bulletin. 2010; 37 (4): 392-396].
18. Ляпина Л.А., Оберман Т.Ю., Пасторова В.Е. Регуляторная роль соединений гепарина с низкомолекулярными лигандами крови в плазменном и тромбоцитарном гемостазе // Известия РАН. Серия биологическая. – 2011. – № 2. – С. 208-219. [Lyapina L.A., Obergan T.Y., Pastorova V.E. Regulatory role of heparin compounds with low molecular ligands of blood in plasma and thromocyte hemostasis. Biology Bulletin. 2011; 38 (2): 165-175].
19. Ляпина Л.А., Пасторова В.Е., Оберган Т.Ю. Функциональное состояние противосвертывающей системы при воздействии на организм регуляторных пептидов Pro-Gly, Pro-Gly-Pro, семакса и тафцина в соединении с природным гепарином // Нейрохимия. – 2008. – Т. 25, № 1-2. – С. 23-29. [Lyapina L.A., Pastorova V.E., Obergan T.Yu. Functional Condition Anticoagulation Systems at Influence on an Organism Regulatory Peptides Pro-Gly, Pro-Gly-Pro, Semax and Taftzin in Connection with Natural Heparin. Neyrokhimiya. 2008; 25 (1-2): 23-29 (in Russ.).]
20. Ставчанский В.В., Творогова Т.В., Боцина А.Ю., Скворцова В.И., Лимборская С.А., Мясоедов Н.Ф., Дергунова Л.В. Семакс и его С-концевой фрагмент ргр влияют на экспрессию генов нейротрофинов и их рецепторов в условиях неполной глобальной ишемии мозга крыс // Молекулярная биология. – 2011. – Т. 45, № 6. – С. 1026-1035. [Stavchansky V.V., Limborska S.A., Myasoedov N.F., Dergunova L.V., Tvorogova T.V., Botsina A.Y., Skvortsova V.I. Effect of semax and its C-terminal peptide PGP on expression of neurotrophins and their receptors in rat brain during incomplete global ischemia. Molecular Biology. 2011; 45 (6): 941-949.].
21. Фирстова Ю.Ю., Долотов О.В., Кондрахин Е.А., Дубынина Е.В., Гривенников И.А., Ковалев Г.И. Влияние ноотропных препаратов на уровень BDNF в гиппокампе и коре мозга мышей с различной эффективностью исследовательского поведения // Эксперим. и клин. фармакология. – 2009. – Т. 72, № 6. – С. 3-6. [Firstova Yu.Yu., Dolotov O.V., Kondrakhin E.A., Dubynina E.V., Grivennikov I.A., Kovalev G.I. Effects of Nootropic Drugs on Hippocampal and Cortical BDNF Levels in Mice with Different Exploratory Behavior Efficacy. Eksperimental'naya i klinicheskaya farmakologiya. 2009; 72 (6): 3-6 (in Russ.).]
22. Шевченко К.В., Дулов С.А., Андреева Л.А., Нагаев И.Ю., Шевченко В.П., Радилов А.С., Мясоедов Н.Ф. Устойчивость His-Phe-Arg-Trp-Pro-Gly-Pro к действию лейцинаминопептидазы, карбоксипептидазы у и ферментным системам назальной слизи, крови и плазмы крови крыс // Биоорганическая химия. – 2015. Т. 42, № 2. – С. 171-181. – DOI: 10.7868/S0132342316020123. [Shevchenko K.V., Andreeva L.A., Nagaev I.Yu., Shevchenko V.P., Myasoedov N.F., Dulov S.A., Radilov A.S. Stability of His-Phe-Arg-Trp-Pro-Gly-Pro to Leucine Aminopeptidase, Carboxypeptidase Y, and Rat Nasal Mucus, Blood, and Plasma. Russian Journal of Bioorganic Chemistry. 2016; 42 (2): 153-161].
23. Шпаков А.О., Деркач К.В. Пептидергические сигнальные системы мозга при сахарном диабете // Цитология. – 2012. – Т. 54, № 10. – С. 733-740. [Shpakov A.O., Derkach K.V. The brain peptidergic signaling systems in diabetes mellitus. Tsitologiya. – 2012; 54 (10): 733-740 (in Russ.).]
24. Abdel-Malek Z.A. Melanocortin receptors: their functions and regulation by physiological agonists and antagonists // Cell Mol Life Sci. – 2001. – Vol. 58, N 3. – P. 434-441. – DOI: 10.1007/PL00000868.
25. Arushanian E.B., Popov A.V. Chronotropic activity of semax // Eksp Klin Farmakol. – 2008. – Vol. 71, N 2. – P. 14-16.
26. Ashmarin I.P. Anticipated and unexpected physiological effects of oligopeptides (glyprolines, ACTH (4-10) analogs, taftsin, and thyroliberin) // Ross Fiziol Zh Im I M Sechenova. – 2001. – Vol. 87, N 11. – P. 1471-1476.
27. Buggy J.J. Binding of alpha-melanocyte-stimulating hormone to its G-protein-coupled receptor on B-

- lymphocytes activates the Jak/STAT pathway // *Biochem. J.* – 1998. – Vol. 331, N 1. – P. 211-216.
28. Catania A., Gatti S., Colombo G., Lipton J.M. Targeting melanocortin receptors as a novel strategy to control inflammation // *Pharmacol. Rev.* – 2004. – Vol. 56, N 1. – P. 1-29. – DOI: 10.1124/pr.56.1.1.
29. Catania A., Lonati C., Sordi A., Carlin A., Leonardi P., Gatti S. The melanocortin system in control of inflammation // *ScientificWorldJournal.* – 2010. – Vol. 10. – 1840-1853. – DOI: 10.1100/tsw.2010.173.
30. Cherkasova K.A., Lyapina L.A., Ashmarin I.P. Comparative study of modulatory effects of Semax and primary proline-containing peptides on hemostatic reactions // *Bull. Exp. Biol. Med.* – 2001. – Vol. 132, N 1. – P. 625-626.
31. Clark A.J., Forfar R., Hussain M., Jerman J., McIver E., Taylor D., Chan L. ACTH Antagonists // *Front. Endocrinol. (Lausanne).* – 2016. – Vol. 7. – P. 101. – DOI: 10.3389/fendo.2016.00101.
32. de Wied D., Witter A., Greven H.M. Commentary: behaviourally active ACTH analogues // *Biochem. Pharmacol.* – 1975. – Vol. 24, N 16. – P. 1463-1468.
33. Dolotov O.V., Karpenko E.A., Inozemtseva L.S., Seredenina T.S., Levitskaya N.G., Rozyczka J., Dubynina E.V., Novosadova E.V., Andreeva L.A., Alfeeva L.Y., Kamensky A.A., Grivennikov I.A., Myasoedov N.F., Engele J. Semax, an analog of ACTH(4-10) with cognitive effects, regulates BDNF and trkB expression in the rat hippocampus // *Brain Res.* – 2006. – Vol. 1117, N 1. – P. 54-60. – DOI: 10.1016/j.brainres.2006.07.108
34. Eremin K.O., Kudrin V.S., Saransaari P., Oja S.S., Grivennikov I.A., Myasoedov N.F., Rayevsky K.S. Semax, an ACTH(4-10) analogue with nootropic properties, activates dopaminergic and serotonergic brain systems in rodents // *Neurochem. Res.* – 2005. – Vol. 30, N 12. – P. 1493-500. – DOI: 10.1007/s11064-005-8826-8
35. Fridmanis D., Roga A., Klovins J. ACTH Receptor (MC2R) Specificity: What Do We Know About Underlying Molecular Mechanisms? // *Front. Endocrinol. (Lausanne).* – 2017. – Vol. 8. – P. 13. – DOI: 10.3389/fendo.2017.00013.
36. Grigorjeva M.E., Lyapina L.A. Anticoagulation and antiplatelet effects of semax under conditions of acute and chronic immobilization stress // *Bull. Exp. Biol. Med.* – 2010. – Vol. 149, N 1. – P. 44-46.
37. Hallschmid M., Benedict C., Born J., Fehm H.L., Kern W. Manipulating central nervous mechanisms of food intake and body weight regulation by intranasal administration of neuropeptides in man // *Physiol. Behav.* – 2004. – Vol. 83, N 1. – P. 55-64. – DOI: 10.1016/j.physbeh.2004.07.023
38. Hill J.W., Faulkner L.D. The Role of the Melanocortin System in Metabolic Disease: New Developments and Advances // *Neuroendocrinology.* – 2017. – Vol. 104, N 4. – P. 330-346. – DOI: 10.1159/000450649.
39. Ivanova D.M., Vilenskiĭ D.A., Levitskaia N.G., Andreeva L.A., Alfeeva L.Iu., Kamenskiĭ A.A., Myasoedov N.F. Study of the relationship between analgesic activity and structure of synthetic melanocortin analogs // *Izv. Akad. Nauk Ser. Biol.* – 2006. – N 2. – P. 204-210.
40. Krude H., Biebermann H., Schnabel D., Tansek M.Z., Theunissen P., Mullis P.E., Grüters A. Obesity due to proopiomelanocortin deficiency: three new cases and treatment trials with thyroid hormone and ACTH₄₋₁₀ // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2003. – Vol. 88, N 10. – P. 4633-4640. – DOI: 10.1210/jc.2003-030502.
41. Loir B., Pérez Sánchez C., Ghanem G., Lozano J.A., García-Borrón J.C., Jiménez-Cervantes C. Expression of the MC1 receptor gene in normal and malignant human melanocytes. A semiquantitative RT-PCR study // *Cell. Mol. Biol. (Noisy-le-grand).* – 1999. – Vol. 45, N 7. – P. 1083-1092.
42. Low M.J., Simerly R., Cone R.D. Receptors for the melanocortin peptides in the central nervous system // *Current Opinion in Endocrinol. Diab.* – 1994. – Vol. 1. – P. 79-88.
43. Lowry P. 60 YEARS OF POMC: Purification and biological characterisation of melanotrophins and corticotrophins // *J. Mol. Endocrinol.* – 2016. – Vol. 56, N 4. – P. T1-T12. – DOI: 10.1530/JME-15-0260.
44. Malik S., Dolan T.M., Maben Z.J., Hinkle P.M. Adrenocorticotrophic Hormone (ACTH) Responses Require Actions of the Melanocortin-2 Receptor Accessory Protein on the Extracellular Surface of the Plasma Membrane // *J. Biol. Chem.* – 2015. – Vol. 290, N 46. – P. 27972-27985. – DOI: 10.1074/jbc.M115.668491.
45. Marcinkiewicz M., Day R., Seidah N.G., Chrétien M. Ontogeny of the prohormone convertases PC1 and PC2 in the mouse hypophysis and their colocalization with corticotropin and alpha-melanotropin // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* – 1993. – Vol. 90, N 11. – P. 4922-4926.
46. Raffin-Sanson M.L., de Keyser Y., Bertagna X. Proopiomelanocortin, a polypeptide precursor with multiple functions: from physiology to pathological conditions // *Eur. J. Endocrinol.* – 2003. – Vol. 149, N 2. – P. 79-90.
47. Ramachandrapa S., Gorrigan R.J., Clark A.J., Chan L.F. The melanocortin receptors and their accessory proteins // *Front. Endocrinol. (Lausanne).* – 2013. – Vol. 4. – P. 9. – DOI: 10.3389/fendo.2013.00009
48. Romanova G.A., Silachev D.N., Shakova F.M., Kvashennikova Y.N., Viktorov I.V., Shram S.I., Myasoedov N.F. Neuroprotective and anti-amnesic effects of Semax during experimental ischemic infarction of the cerebral cortex // *Bull. Exp. Biol. Med.* – 2006. – Vol. 142, N 6. – P. 663-666.
49. Roselli-Rehfuß L., Mountjoy K.G., Robbins L.S., Mortrud M.T., Low M.J., Tatro J.B., Entwistle M.L., Simerly R.B., Cone R.D. Identification of a receptor for gamma melanotropin and other proopiomelanocortin peptides in the hypothalamus and limbic system // *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* – 1993. – Vol. 90, N 19. – P. 8856-8860.
50. Samuels M.E., Gallo-Payet N., Pinard S., Hasselmann C., Magne F., Patry L., Chouinard L., Schwartzentruber J., René P., Sawyer N., Bouvier M., Djemli A., Delvin E., Huot C., Eugene D., Deal C.L., Van Vliet G., Majewski J., Deladoëy J.; FORGE Canada Consortium. Bioinactive ACTH causing glucocorticoid deficiency // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2013. –

- Vol. 98, N 2. – P. 736-742. – DOI: 10.1210/jc.2012-3199.
51. Seidah N.G., Chretien M. Pro-protein convertases of subtilisin/kekin family // *Methods enzymol.* – 1994. – Vol. 244. – P. 175-188.
 52. Smakhtin M.Y., Konoplya A.I., Sever'yanova L.A., Shveinov I.A. DSLET and ACTH(4-10) increase mitotic activity of hepatocytes and suppress antibody production // *Bull Exp Biol Med.* – 2003. – Vol. 135, N 5. – P. 428-429.
 53. Spiezia L., Tormene D., Pesavento R., Salmaso L., Simioni P., Prandoni P. Thrombophilia as a predictor of persistent residual vein thrombosis // *Haematologica.* – 2008. – Vol. 93, N 3. – P. 479-480. – DOI: 10.3324/haematol.12205.
 54. Spruijt B.M. Effects of the ACTH4-9 analog Org2766 on brain plasticity: modulation of excitatory neurotransmission? // *Psychoneuroendocrinology.* – 1992. – Vol. 17, N 4. – P. 315-325.
 55. Starowicz K., Przewłocka B. The role of melanocortins and their receptors in inflammatory processes, nerve regeneration and nociception // *Life Sci* – 2003. – Vol. 73, N 7. – P. 823-847.
 56. Van Bergen P., Van Der Vaart J.G., Kasbergen C.M., Versteeg D.H., De Wildt D.J. Structure-activity analysis for the effects of gamma-MSH/ACTH-like peptides on cerebral hemodynamics in rats // *Eur J Pharmacol.* – 1996. – Vol. 318, N 2-3. – P. 357-368.
 57. van der Kraan M., Adan R.A., Entwistle M.L., Gispen W.H., Burbach J.P., Tatro J.B. Expression of melanocortin-5 receptor in secretory epithelia supports a functional role in exocrine and endocrine glands // *Endocrinology.* – 1998. – Vol. 139, N 5. – P. 2348-2355. – DOI: 10.1210/endo.139.5.6008
 58. Versteeg D.H., Van Bergen P., Adan R.A., De Wildt D.J. Melanocortins and cardiovascular regulation // *Eur J Pharmacol.* – 1998. – Vol. 360, N 1. – P. 1-14.
 59. Wikberg J.E., Muceniece R., Mandrika I., Prusis P., Lindblom J., Post C., Skottner A. New aspects on the melanocortins and their receptors // *Pharmacol. Res.* – 2000. – Vol. 42, N 5. – P. 393-420. – DOI: 10.1006/phrs.2000.0725
 60. Yuasa K., Futamatsu G., Kawano T., Muroshita M., Kageyama Y., Taichi H., Ishikawa H., Nagahama M., Matsuda Y., Tsuji A. Subtilisin-like proprotein convertase paired basic amino acid-cleaving enzyme 4 is required for chondrogenic differentiation in ATDC5 cells // *FEBS J.* – 2012. – Vol. 279, N 21. – P. 3997-4009. – DOI: 10.1111/j.1742-4658.2012.08758.x

АНТИОКСИДАНТНОЕ И ИММУНОТРОПНОЕ ДЕЙСТВИЕ НЕСЕЛЕКТИВНОГО ИНГИБИТОРА АРГИНАЗЫ В КОМБИНАЦИИ С АНТИГИПОКСАНТАМИ В УСЛОВИЯХ ГИСТОТОКСИЧЕСКОЙ ГИПОКСИИ

© Ангалева М.М.¹, Авдеева Е.В.¹, Быстрова Н.А.²

¹ Кафедра нормальной физиологии им. проф. А.В. Завьялова, ² кафедра биологической химии
Курского государственного медицинского университета, Курск

E-mail: avdeyeva_ev@mail.ru

Изучено влияние неселективного ингибитора аргиназы L-норвалина и его комбинации с цитофлавином, кудесаном и гипоксеном на функциональную активность нейтрофилов, интенсивность ПОЛ и содержание стабильных метаболитов азота в сыворотке крови крыс при интервальной гистотоксической гипоксии. Установлено, что введение L-норвалина и антигипоксантов с различным механизмом действия увеличивает метаболическую активность нейтрофилов, в различной степени повышает фагоцитарную активность нейтрофилов, увеличивает общую антиоксидантную активность и уменьшает содержание вторичных продуктов ПОЛ. Использование L-норвалина, цитофлавина и гипоксена наиболее эффективно влияет на концентрацию стабильных метаболитов NO в сыворотке крыс, увеличивая данный показатель до уровня контрольных значений.

Ключевые слова: L-норвалин, цитофлавин, кудесан, гипоксен, иммуностропное, антиоксидантное действие, интервальная гистотоксическая гипоксия.

ANTIOXIDANT AND IMMUNOTROPIC ACTION OF A NON-SELECTIVE ARGINASE INHIBITOR IN COMBINATION WITH ANTIHYPOXIC DRUGS IN THE PRESENCE OF HISTOTOXIC HYPOXIA

Angaleva M.M.¹, Avdeyeva E.V.¹, Bystrova N.A.²

¹ Department of Normal Physiology named after Professor Zavyalov A.V., ² Department of Biochemistry
of Kursk State Medical University, Kursk

The influence of a non-selective arginase inhibitor - L-norvaline and its combination with cytoflavin, kudesan, hypoxenium on the functional activity of neutrophils, lipid peroxidation intensity and concentration of stable nitrogen metabolites in rat blood serum under interval histotoxic hypoxia has been studied. It has been determined that the administration of L-norvaline and antihypoxic drugs with different action mechanisms increases the metabolic activity of neutrophils, increases to a various degree neutrophils phagocytic activity, enhances the total antioxidant activity and reduces the content of lipid peroxidation secondary products. The introduction of L - norvaline, cytoflavin and hypoxenium most markedly affects the concentration of stable NO metabolites in the serum of rats, increasing this index to the level of stated values.

Keywords: L - norvaline, cytoflavin, kudesan, hypoxenium, immunotropic, antioxidant action, interval histotoxic hypoxia.

В клинической физиологии считается общепринятым факт решающей роли гипоксии как в возникновении, так и в течении многих заболеваний. Необратимые изменения и гибель клетки при гипоксии обусловлены нарушением многих метаболических путей в цитоплазме и митохондриях, возникновением ацидоза, активацией свободно-радикального окисления, повреждением биологических мембран, затрагивающим как липидный бислой, так и мембранные белки, включая ферменты [1].

Одной из разновидностей гипоксий является тканевая или гистотоксическая гипоксия – форма кислородной недостаточности, возникающая вследствие нарушения способности тканей поглощать кислород из крови, или связанная с уменьшением эффективности биологического окисления различными ингибиторами, нарушения синтеза ферментов или повреждения мембранных структур клетки, например, при отравлении цианидами, тяжелыми металлами, барбитурата-

тами. В случае гистотоксической гипоксии целесообразно использовать соединения с общеукрепляющим действием, обладающие антиоксидантной, антигипоксической и мембранопротекторной активностями [13]. К числу эффективных средств, в значительной степени обладающих указанными свойствами, могут быть отнесены: гипоксен – как корректор нарушенной электронтранспортной функции первого митохондриального ферментного комплекса, представитель «искусственных редокс-систем» [6]; цитофлавин – как корректор цитохромного участка дыхательной цепи, метаболический препарат [8]; кудесан – как компонент дыхательной цепи, выступающий в роли переносчика электронов в электротранспортной цепи митохондрий [6].

Имеющиеся на сегодняшний день сведения о влиянии гипоксии на состояние иммунной системы неоднозначны. Возможно, это связано с использованием различных моделей гипоксического воздействия, а также различных методических

подходов для количественной и качественной характеристики параметров иммунной системы и, возможно, недостаточным изучением данного вопроса.

Процесс формирования адаптации к гипоксии вовлекает множество систем и механизмов, одним из них является метаболизм оксида азота (NO). NO выполняет много важных функций в организме: является нейромедиатором, вазодилататором, антиагрегантом, мощным фактором гемостаза, а также обеспечивает способность макрофагов убивать опухолевые клетки и бактерии. Кроме того, NO имеет большое значение в регуляции деятельности дыхательной, пищеварительной, мочеполовой и других физиологических систем организма [4]. В организме источником NO является L-аргинин. В цикле мочевины метаболизм L-аргинина протекает по двум путям. Первый путь катализирует фермент аргиназа, под действием которого L-аргинин гидролизуется в орнитин и мочевину. Другой путь превращения L-аргинина – в оксид азота и цитруллин – катализируется NO-синтазой. Оба фермента конкурируют между собой за общий субстрат L-аргинин. Одним из путей увеличения выработки NO является применение ингибиторов аргиназы. Наименее изученным среди неселективных ингибиторов аргиназ остается L-норвалин. Механизм действия L-норвалина сводится к восстановлению NO-синтезирующей функции и к коррекции патологических изменений при гипоксии, что обуславливает применение ингибиторов аргиназы в условиях гипоксии. [15]. В литературе встречается большое количество работ, посвященных изучению влияния L-норвалина на эндотелиальную дисфункцию, его остеопротективных свойств [2, 12, 15]. В то же время вопрос об антиоксидантном и иммуностропном действии L-норвалина в сочетании с антигипоксантами различного механизма действия в условиях гипоксии остается практически не изученным.

Целью настоящего исследования явилось изучение антиоксидантного и иммуностропного действия комбинации L-норвалина с антигипоксантами различного механизма действия в условиях гистотоксической гипоксии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проведены на 48 крысах Вистар массой 180-200 г. В опытах использовали животных, прошедших карантинный режим вивария Курского государственного медицинского университета и не имевших внешних признаков каких-либо заболеваний. Все животные содержались в одинаковых условиях, на обычном пище-

вом режиме. Для получения статистически достоверных результатов группы формировали из 8 животных. В контрольные и опытные группы входили животные одного возраста. Разброс в группах по исходной массе не превышал $\pm 10\%$. Все исследования проводили в одно и то же время суток с соблюдением принципов, изложенных в Конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других целей (г. Страсбург, Франция, 1986). Животных умерщвляли обескровливанием под эфирным наркозом через 24 ч после последнего сеанса гипоксии.

Интервальную гистотоксическую гипоксию (ИГТГ) моделировали путем внутрибрюшинного введения раствора натрия нитропруссид в дозе 1 мг/кг (1-4 день) и 25 мг/кг на пятые сутки [7]. L-норвалин (WIRUD GmbH Hamburg, любезно предоставленный д.м.н., профессором М.В. Покровским) вводили внутрибрюшинно пятикратно в дозе 15 мг/кг за 30 мин до гипоксического воздействия. Цитофлавин (80 мг/кг), кудесан (10 мг/кг) вводили внутрибрюшинно, гипоксен (80 мг/кг) вводили внутривенно пятикратно также за 30 мин до гипоксического воздействия. Контрольным животным вводили равные объемы физиологического раствора и натрия нитропруссид (20 мг/кг).

На пятые сутки эксперимента в сыворотке крови животных определяли содержание первичных продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ) – диеновых конъюгатов (ДК), вторичных – малонового диальдегида (МДА) [14] и концентрацию стабильных метаболитов азота [10]. Антиоксидантный статус оценивали по активности в сыворотке крови каталазы и вычисляли общую антиоксидантную активность [5].

Метаболическую активность нейтрофилов оценивали в тесте восстановления нитросинего тетразолия (НСТ). Учет результатов НСТ-теста проводили фотометрически в mOD [3]. Влияние L-норвалина на фагоцитарную активность нейтрофилов периферической крови оценивали по фагоцитарному показателю (ФП), фагоцитарному числу (ФЧ) и индексу активности фагоцитов (ИАФ) [9].

Статистическую обработку результатов исследования проводили путем вычисления среднеарифметической (M) и ошибки средней (m). Достоверность статистических различий средних арифметических величин оценивалась с помощью однофакторного дисперсного анализа – ANOVA, критерия Ньюмена-Кейлса в программном комплексе «БИОСТАТИСТИКА для Windows».

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ
И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что при тканевой гипоксии происходят достоверные изменения уровня концентрации продуктов ПОЛ сыворотки крови животных. Наблюдалось достоверное ($p < 0,05$) снижение активности каталазы крови с $23,8 \pm 0,7$ мккат/мл у контрольных животных до $15,8 \pm 1,35$ мккат/мл в группе с гипоксией. Это обусловлено тем, что цианиды способны ингибировать данный фермент.

Введение L-норвалина, L-норвалина с цитофлавином, L-норвалина с цитофлавином и кудесаном практически не влияло на сниженную активность каталазы. Введение комбинации L-норвалина, цитофлавина и гипоксена достоверно ($p < 0,05$) увеличивало активность данного фермента на 25% по сравнению с показателями груп-

пы животных с гипоксией (табл. 1).

Гистотоксическая гипоксия сопровождалась достоверным повышением уровня АГП (ДК) и МДА сыворотки крови. По влиянию на концентрацию первичных (ДК) и вторичных (МДА) продуктов ПОЛ отмечалась тенденция их уменьшения до уровня данных в группе интактных животных под действием исследуемых препаратов. Причем по влиянию на концентрацию АГП максимальную активность проявляли комбинации L-норвалина и цитофлавина и L-норвалина, цитофлавина и гипоксена – уменьшая данный показатель на 47% и 48% соответственно по сравнению с группой животных с гипоксией. По влиянию на концентрацию МДА в сыворотке крови животных все комбинации, за исключением L-норвалина, проявляли одинаковую активность, достоверно ($p < 0,05$ к контролю) уменьшая данный показатель.

Таблица 1

Влияние L-норвалина и антигипоксантов на антиоксидантный статус и перекисное окисление липидов сыворотки крови крыс в условиях гистотоксической гипоксии

№ п/п	Условия опыта	Каталаза мккат/мл	МДА мкмоль/мл	АГП (ДК) усл.ед	ОАА %
1.	Контроль	$23,8 \pm 0,7$	$2,4 \pm 0,14$	$0,22 \pm 0,05$	$42,35 \pm 1,41$
2.	Моделирование ИГТГ	$15,8 \pm 1,35^{*1}$	$3,28 \pm 0,04^{*1}$	$0,83 \pm 0,07^{*1}$	$37,38 \pm 1,55^{*1}$
3.	L-норвалин + ИГТГ	$16,89 \pm 1,31^{*1}$	$3,24 \pm 0,42$	$0,67 \pm 0,08^{*1}$	$40,75 \pm 2,02$
4.	L-норвалин + цитофлавин + ИГТГ	$14,59 \pm 0,94^{*1}$	$2,59 \pm 0,11^{*2}$	$0,39 \pm 0,04^{*1,2}$	$40,25 \pm 2,06$
5.	L-норвалин + цитофлавин + кудесан + ИГТГ	$14,71 \pm 1,62^{*1}$	$2,52 \pm 0,05^{*2}$	$0,52 \pm 0,03^{*1,2}$	$42,38 \pm 1,37^{*1}$
6.	L-норвалин + цитофлавин + гипоксен + ИГТГ	$19,72 \pm 1,01^{*1,2}$	$2,51 \pm 0,13^{*2}$	$0,40 \pm 0,06^{*1,2}$	$41,83 \pm 1,22^{*1}$

Примечание: здесь и в табл. 2, и на рис. 1: * – достоверность различий средних арифметических величин, $p < 0,05$; цифры рядом со звездочкой обозначают, по отношению к показателю какой группы эти различия достоверны.

Таблица 2

Влияние L-норвалина и антигипоксантов на функциональную активность нейтрофилов в условиях гистотоксической гипоксии

№ п/п	Условия опыта	НСТ сп., Ед.	НСТ ст., Ед.	ФП%	ФЧ	ИАФ
1.	Контроль	$0,78 \pm 0,02$	$0,37 \pm 0,01$	$77,5 \pm 1,05$	$3,54 \pm 0,04$	$2,74 \pm 0,07$
2.	Моделирование ИГТГ	$0,57 \pm 0,03^{*1}$	$0,30 \pm 0,02^{*1}$	$36,9 \pm 2,41^{*1}$	$2,6 \pm 0,08^{*1}$	$0,95 \pm 0,09^{*1}$
3.	L-норвалин + ИГТГ	$0,60 \pm 0,04^{*1}$	$0,31 \pm 0,03$	$46,0 \pm 2,76^{*1,2}$	$3,3 \pm 0,06^{*1,2}$	$1,52 \pm 0,09^{*1,2}$
4.	L-норвалин + цитофлавин + ИГТГ	$0,54 \pm 0,04^{*1}$	$0,29 \pm 0,02^{*1}$	$46,5 \pm 2,91^{*1,2}$	$3,3 \pm 0,03^{*1,2}$	$2,20 \pm 0,09^{*1,2}$
5.	L-норвалин + цитофлавин + кудесан + ИГТГ	$0,51 \pm 0,03^{*1}$	$0,29 \pm 0,01^{*1}$	$63,8 \pm 1,33^{*1-4}$	$3,42 \pm 0,04^{*2,4}$	$2,18 \pm 0,05^{*1-4}$
6.	L-норвалин + цитофлавин + гипоксен + ИГТГ	$0,69 \pm 0,04^{*2}$	$0,34 \pm 0,02$	$64,1 \pm 2,12^{*1-4}$	$3,47 \pm 0,05^{*2,4}$	$2,22 \pm 0,06^{*1-4}$

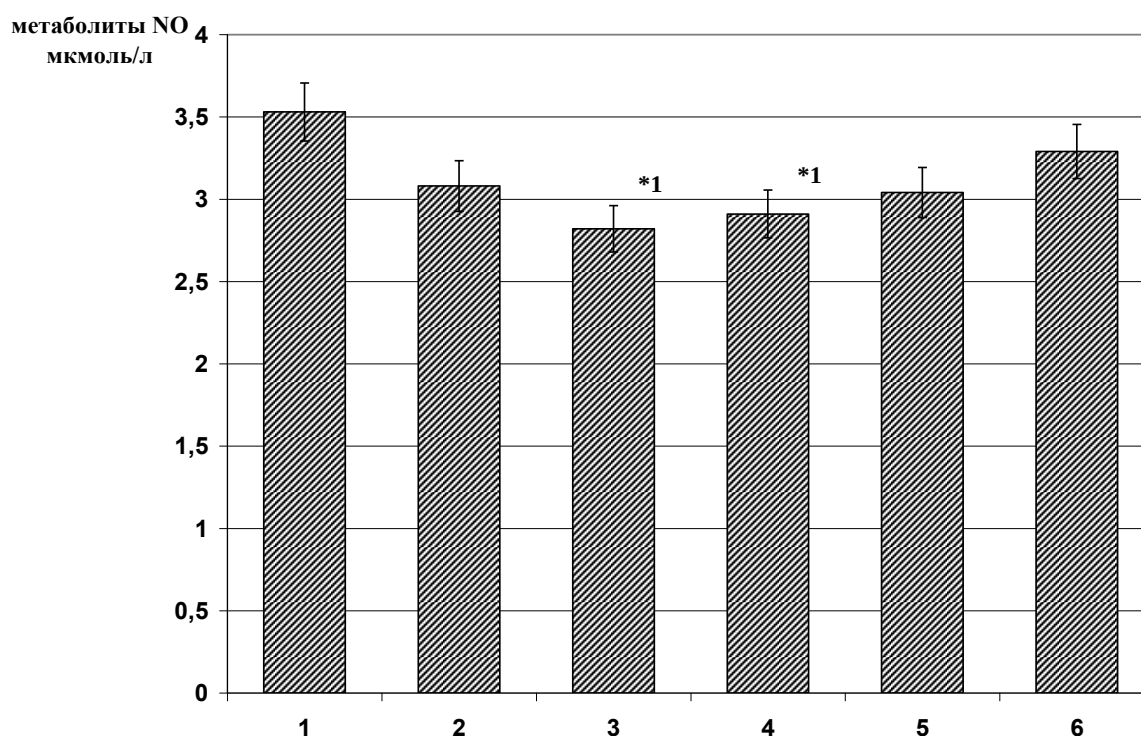


Рис. 1. Влияние L-норвалина и антигипоксантов на уровень стабильных метаболитов NO в условиях гистотоксической гипоксии.

Примечание: 1 – контроль; 2 – ИГТГ; 3 – L-норвалин + ИГТГ; 4 – L-норвалин, цитофлавин + ИГТГ; 5 – L-норвалин, цитофлавин, кудесан + ИГТГ; 6 – L-норвалин, цитофлавин, гипоксен + ИГТГ.

Таким образом, изучение антиоксидантного действия L-норвалина, цитофлавина и гипоксена показало, что в условиях гистотоксической гипоксии данные препараты увеличивают общую антиоксидантную активность сыворотки крови экспериментальных животных. Наибольший эффект проявляла комбинация L-норвалина с гипоксеном и цитофлавином.

Изучена иммуномодулирующая активность L-норвалина и антиоксидантов в условиях тканевой гипоксии. Под воздействием раствора натрия нитропруссиды отмечено снижение функциональной активности полинуклеаров крови крыс. Так, показатель НСТ сп. в группе животных с моделированием ИГТГ уменьшается на 27% по сравнению с показателями контрольной группы животных, а НСТ ст. – на 19% (табл. 2).

Введение L-норвалина, а также комбинации L-норвалина, цитофлавина и кудесана в условиях гистотоксической гипоксии практически не оказывают достоверного влияния на сниженную кислородзависимую активность полиморфноядерных лейкоцитов. Сочетанное применение L-норвалина, цитофлавина и гипоксена увеличивает кислородзависимую активность лейкоцитов на 21% по сравнению с данными группы животных, подвергшихся ИГТГ, и является наиболее активной комбинацией препаратов по данному показателю (табл. 2).

По влиянию на показатель НСТ-теста у нейтрофилов, стимулированных *in vitro* зимозаном, максимальную активность (однако меньшую, чем в контрольной группе животных) проявляет комбинация L-норвалина, цитофлавина и гипоксена, остальные комбинации на эффективность бактерицидной активности нейтрофилов (НСТ ст.) не оказывают достоверного влияния (табл. 2).

Фагоцитарная активность нейтрофилов периферической крови, так же как и их функциональная активность, значительно снижается под воздействием гистотоксической гипоксии. Фагоцитарное число уменьшается под воздействием ИГТГ на 26,5% к контролю, процент нейтрофилов, участвующих в фагоцитозе, – на 52,4% (табл. 2). Введение L-норвалина и антигипоксантов в различной степени повышает фагоцитарную активность нейтрофилов. Максимальное увеличение фагоцитарного числа, фагоцитарного показателя и ИАФ наблюдалось в группе животных, получавших L-норвалин, цитофлавин и гипоксен. Фагоцитарный показатель в данной группе увеличивался на 42,4% по сравнению с группой животных, подвергшихся гипоксии. Достоверное увеличение данных показателей наблюдалось также при применении L-норвалина, цитофлавина и кудесана. Следует, однако, отметить, что при достоверном увеличении показателей фагоцитоза в экспериментальных группах ($p < 0,05$) по сравне-

нию с группой животных, подвергшихся гипоксии, данные показатели не достигают уровня показателей контрольных животных (табл. 2).

Использование нитропруссид натрия в качестве индуктора гистотоксической гипоксии сопровождалось уменьшением концентрации в сыворотке крови стабильных метаболитов NO. Регуляция активности NO-синтазы идет по конечному продукту через обратную связь, NO способен связываться с гемической группой фермента, снижая тем самым его активность. Нитропруссид натрия является донатором NO, при этом период его полувыведения составляет две минуты. Таким образом, избыточный NO, образующийся при метаболизме нитропруссид натрия, снижает активность собственных NO-синтаз, а благодаря малому периоду полувыведения, через сутки после последнего введения токсиканта, в сыворотке крови определяются только лишь стабильные метаболиты – результат активности ингибированных эндогенных NO-синтаз [11].

При применении комбинации L-норвалина, цитофлавина и гипоксена показатели количества стабильных метаболитов NO приближаются к показателям контрольных животных $3,29 \pm 0,21$ мкмоль/л в эксперименте и $3,53 \pm 0,23$ мкмоль/л у интактных животных. Эффект L-норвалина, цитофлавина и гипоксена связан, скорее всего, с опосредованным влиянием на обмен NO. Тиосульфатная группа гипоксена способна взаимодействовать с цианогруппой и образовывать нетоксичные роданиды, тем самым реактивируя цитохромоксидазу и значительно уменьшая выраженность гистотоксической гипоксии. Использование L-норвалина, цитофлавина и гипоксена, гармонично дополняющих друг друга, наиболее эффективно влияет на концентрацию стабильных метаболитов NO в сыворотке крыс, увеличивая данный показатель до контрольных значений (рис. 1).

Проведенные исследования продемонстрировали, что введение L-норвалина и антигипоксантов с различным механизмом действия в условиях гистотоксической гипоксии увеличивает общую антиоксидантную активность и уменьшает содержание вторичных продуктов ПОЛ в сыворотке крови экспериментальных животных, стимулирует метаболическую и фагоцитарную активность нейтрофилов.

Особенно эффективным оказалось применение комбинации неселективного ингибитора аргиназы – L-норвалина с корректором цитохромного участка дыхательной цепи, метаболическим препаратом – цитофлавином и антиоксидантом, антигипоксантом – гипоксеном, обладающим электронно-акцепторными свойствами. Применение данной комбинации оказывает максимальное

влияние на активность каталазы, достоверно ($p < 0,05$) уменьшает содержание первичных (ДК) и вторичных (МДА) продуктов перекисного окисления липидов, достоверно ($p < 0,05$) увеличивает фагоцитарную активность лейкоцитов. При применении комбинации L-норвалина, цитофлавина и гипоксена показатели количества стабильных метаболитов NO в сыворотке приближаются к показателям контрольных животных.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Гридин Л.А. Современное представление о физиологических и лечебно-профилактических эффектах действия гипоксии и гиперкапнии // Журнал «Медицина». – 2016. – Т. 4, № 3. – С. 45-68. [Gridin L.A. Modern understanding of the physiological and therapeutic and prophylactic effects of actions hypoxia and hypercapnia. Zhurnal "Meditsina". 2016; 4 (3): 45-68. (in Russ.)].
2. Денисюк Т.А., Покровский М.В., Лазарева Г.А., Покровская Т.Г., Корокин М.В., Осипова О.А., Лазарев А.И., Сернов Л.Н., Демченко С.А. Сочетанное использование статинов и ингибитора аргиназы L-норвалина для коррекции эндотоксин-индуцированной эндотелиальной дисфункции // Кубанский научный медицинский вестник. – 2016. – № 1. – С. 30-34. [Denisyuk T.A., Pokrovsky M.V., Lazareva G.A., Pokrovskaya T.G., Korokin M.V., Osipova O.A., Lazarev A.I., Sernov L.N., Demchenko S.A. Combined use of statins and inhibitors of arginase l-norvaline for correcting endotoxin-inducing endothelial dysfunction. Kubanskiy nauchnyy meditsinskiy vestnik. 2016; (1): 30-34. (in Russ.)].
3. Зинкин В.Ю., Годков М.А. Способ количественной оценки кислородзависимого метаболизма нейтрофильных гранулоцитов человека // Клиническая лабораторная диагностика. – 2004. – № 8. – С. 26-29. [Zinkin V.Yu., Godkov M.A. A method of quantitative evaluation of oxygen-dependent metabolism of human neutrophil granulocytes. Klinicheskaya laboratornaya diagnostika. 2004; (8): 26-29 (in Russ.)].
4. Киричук В.Ф., Андронов Е.В., Иванов А.Н., Мамонтова Н.В. Оксид азота и микроциркуляторное звено системы гемостаза (обзор литературы) // Успехи физиологических наук. – 2008 – Т. 39, № 4. – С. 83-91. [Kirichuk V.F., Andronov E.V., Ivanov A.N. Nitric oxide microcirculatory unit of hemostasis system. Uspekhi fiziologicheskikh nauk. 2008; 39 (4): 83-91 (in Russ.)].
5. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г. Метод определения активности каталазы // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С. 16-19. [Korolyuk M.A., Ivanova L.I., Mayorova I.G. Method for determination of catalase activity. Laboratornoye delo. 1988; (1): 16-19 (in Russ.)].
6. Левченкова О.С., Новиков В.Е., Пожилова Е.В. Фармакодинамика и клиническое применение антигипоксантов // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2012 – Т. 10,

- № 3. – С. 3-12. [Levchenkova O.S., Novikov V.E., Pozhilova Ye.V. Pharmacodynamics of antihypoxants and their clinical use. Obzory po klinicheskoy farmakologii i lekarstvennoy terapii. 2012; 10 (3): 3-12 (in Russ.)].
7. Лукьянова Л.Д. Методические рекомендации по экспериментальному изучению препаратов, предназначенных для клинического изучения в качестве антигипоксических средств. – М., 1990. – 18 с. [Luk'yanova L.D. Methodical recommendations for the experimental study of drugs intended for clinical study as antihypoxic agents. M.; 1990: 18 (in Russ.)].
8. Маркевич П.С., Даниленко С.В., Янкин А.В. Роль препарата «цитофлавин» в клинической практике // Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения РАМН. – 2010. – № 3. – С. 109-113. [Markevich P.S., Danilenko S.V., Yankin A.V. The role of the drug "Cytoflavin" in clinical practice. Byulleten' Vostochno-Sibirskogo nauchnogo tsentra Sibirskogo otdeleniya RAMN – Bulletin of the East Siberian Scientific Center SB RAMS, 2010; (3): 109-113 (in Russ.)].
9. Медведев А.Н., Чаленко В.В. Способ исследования поглотительной фазы фагоцита // Лаб. дело. – 1991. – № 2. – С. 19-20. [Medvedev A.N., Chalenko V.V. A method for studying the absorption phase of a phagocyte. Laboratornoye delo. 1991; (2): 19-20 (in Russ.)].
10. Метельская В.А., Гуманова Н.Г. Скрининг – метод определения уровня метаболитов оксида азота в сыворотке крови // Клиническая лабораторная диагностика. – 2005. – № 6. – С. 15-18. [Metelskaya V.A., Gumanova N.G. Screening as a method for determining the serum level of nitric oxide metabolites. Klinicheskaya laboratornaya diagnostika. 2005; (6): 15-18 (in Russ.)].
11. Николаев С.Б., Быстрова Н.А., Лазаренко В.А., Конопля А.И. Иммунометаболические нарушения в условиях гипоксии и их фармакологическая коррекция. – Курск : ГОУ ВПО КГМУ Росздрава, 2010. – 226 с. [Nikolayev S.B., Bystrova N.A., Lazarenko V.A., Konoplya A.I. Immunometabolic disorders in hypoxic conditions and their pharmacological correction. Kursk : GOU VPO KGMU Roszdrava; 2010: 226 (in Russ.)].
12. Соболев М.С., Файтельсон А.В., Гудырев О.С., Раджумар Д.С.Р., Дубровин Г.М., Мягких В.И. Исследование эндотелио- и остеопротективных свойств розувастатина, L-норвалина и их комбинации при экспериментальном остеопорозе // Кубанский научный медицинский вестник. – 2017. – Т. 24, № 6. – С. 116-121. [Sobolev M.S., Faitelson Alexander V., Gudyrev O.S., Rajkumar D.S.R., Dubrovin G.M., Myagkih V.I. Study of endothelial protective and osteoprotective properties of rosuvastatin, l-norvaline and their combinations in experimental osteoporosis. Kubanskiy nauchnyy meditsinskiy vestnik. 2017; 24 (6): 116-121 (in Russ.)].
13. Срубиллин Д.В., Еникеев Д.А., Мышкин В.А. Антирадикальная и антиоксидантная активность комплексного соединения 5-окси-6-метилурацила с янтарной кислотой и его эффективность при гипоксических состояниях // Фундаментальные исследования. – 2011. – № 6. – С. 166-170. [Srubilin D.V., Enikeev D.A., Myshki V.A. Antiradical and antioxidant activity of the complex compound of 5-oxy-6-methyluracil with amber acid and its efficacy under hypoxic conditions. Fundamental'nyye issledovaniya. 2011; (6): 166-170 (in Russ.)].
14. Стальная И.Д., Гаршвили Т.Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / Современные методы в биохимии / под ред. В.Н. Ореховича – М. : Медицина, 1977. – С. 66-68. [Stal'naya I.D., Garishvili T.G. Method for the determination of malonic dialdehyde with thiobarbituric acid. in Modern methods in biochemistry. V.N. Orekhovich, editor. M. : Meditsina; 1977: 66-68 (in Russ.)].
15. Цепелева С.А., Покровский М.В., Покровская Т.Г., Корокин М.В., Денисюк Т.А., Котельникова Л.В., Лопатин Д.В., Титарева Л.В., Черноморцева Е.С., Дудина Э.Н., Коновалова Е.А., Лосенок П.И., Локтионова И.Л., Терехова Е.Г., Бабко С.А. Кардио- и эндотелиопротективные эффекты ингибитора аргиназы L-норвалина при моделировании L-NAME индуцированного дефицита оксида азота // Кубанский научный медицинский вестник. – 2011. – № 4. – С. 185-187. [Tsepeleva S.A., Pokrovskii M.V., Pokrovskaya T.G., Korokin M.V., Denisyuk T.A., Kotelnikova L.V., Lopatin D.V., Titareva L.V., Chernomortseva E.S., Dudina E.N., Konovalova E.A., Losenok P.I., Loktionova I.L., Terehova E.G., Babko S.A Cardio- and endotelioprotective effects of arginase inhibitor l-norvalin at modelling l-name indused deficiency of nitric oxide. Kubanskiy nauchnyy meditsinskiy vestnik. 2011; (4): 185-187 (in Russ.)].

КУРЕНИЕ КАК ПРОВОЦИРУЮЩИЙ ФАКТОР РИСКА РАЗВИТИЯ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА У ЛИЦ С ГЕНЕТИЧЕСКИМ ВАРИАНТОМ RS486055 МАТРИКСНОЙ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ-10

© Рымарова Л.В.¹, Клёсова Е.Ю.², Волкова А.В.¹, Бушуева О.Ю.^{1,2},
Азарова Ю.Э.^{2,3}, Ласков В.Б.⁴, Полоников А.В.^{1,2}

¹ Кафедра биологии, медицинской генетики и экологии, ² научно-исследовательский институт генетической и молекулярной эпидемиологии, ³ кафедра биологической химии, ⁴ кафедра неврологии и нейрохирургии Курского государственного медицинского университета, Курск
E-mail: polonikov@rambler.ru

Полиморфизм генов матриксных металлопротеиназ вносит значительный вклад в развитие и течение cerebrovascularных заболеваний. Целью настоящего исследования послужил анализ ассоциации полиморфных вариантов генов матриксных металлопротеиназ *MMP10* (rs486055) и *MMP12* (rs2276109) с риском развития ишемического инсульта (ИИ). Материалом для исследования послужила выборка неродственных индивидов уроженцев Центральной России общей численностью 1073 человека, включая 666 больных ИИ и 407 лиц контрольной группы. Генотипирование полиморфных вариантов генов *MMP10* и *MMP12* проводилось методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с дискриминацией аллелей с помощью TaqMan-зондов. Выявлена ассоциация генотипа C/T rs486055 *MMP10* с повышенным риском развития ишемического инсульта у курильщиков (OR=1.56 95%CI 1.02-2.39, P=0.03), тогда как у некурящих индивидов подобная взаимосвязь генотипа с развитием болезни не наблюдалась. Ассоциации полиморфного варианта rs2276109 гена *MMP12* с развитием ИИ не обнаружено. В рамках настоящего исследования впервые выявлена ассоциация генотипа rs486055-C/T *MMP10* с повышенным риском развития ишемического инсульта, причем влияние данного генетического варианта на риск развития болезни потенцируется курением.

Ключевые слова: ишемический инсульт, генетическая предрасположенность, матриксная металлопротеиназа-10, однонуклеотидный полиморфизм, анализ ассоциации, курение.

SMOKING AS A TRIGGER FACTOR FOR THE DEVELOPMENT OF ISCHEMIC STROKE IN PERSONS WITH THE GENETIC VARIANT OF RS486055 OF MATRIX METALLOPROTEINASE-10

Rymarova L.V.¹, Klyosova E.Yu.², Volkova A.V.¹, Bushueva O.Yu.^{1,2}, Azarova Yu.E.^{2,3}, Laskov V.B.⁴, Polonikov A.V.^{1,2}

¹ Department of Biology, Medical Genetics and Ecology, ² Research Institute of Genetic and Molecular Epidemiology, ³ Department of Biochemistry, ⁴ Department of Neurology and Neurosurgery of Kursk State Medical University, Kursk

Polymorphic genes encoding matrix metalloproteinases contribute to the development and outcome of cerebrovascular diseases. The purpose of this study was to analyze the association between polymorphisms of matrix metalloproteinases genes *MMP10* (rs486055) and *MMP12* (rs2276109) with the risk of ischemic stroke (IS). We examined 1,073 unrelated Russian individuals from Central Russia including 666 IS patients and 407 controls. Genotyping of the *MMP10* and *MMP12* gene polymorphisms was carried out by TaqMan-based polymerase chain reaction. We found the association of genotype rs486055-C/T of *MMP10* with an increased risk of ischemic stroke in smokers (OR = 1.56 95% CI 1.02-2.39, P = 0.03), while non-smoker carriers of the genotype did not possess disease risk. The present study was the first to show the association of genotype rs486055-C/T of the *MMP10* gene with an increased risk of ischemic stroke in cigarette smokers.

Keywords: ischemic stroke, genetic predisposition, matrix metalloproteinase-10, single nucleotide polymorphism, association analysis, cigarette smoking.

Сосудистые заболевания головного мозга занимают второе место среди основных причин смертности и инвалидизации населения экономически развитых странах, что определяет данный класс болезней человека как важнейшую медико-социальную проблему [1]. Значительную долю cerebrovascularных заболеваний занимает ишемический инсульт, формирующийся на фоне атеросклероза мозговых артерий. Согласно современным представлениям ишемический инсульт (ИИ) представляет собой мультифакториальное заболевание, развитие которого обусловлено комплексным взаимодействием генетических и средовых факторов [12]. Многочисленные гене-

тические исследования установили широкий спектр генов предрасположенности к ишемическому инсульту [12, 15, 27].

Известно, что в развитии ишемического инсульта значительная роль отводится дестабилизации атеросклеротических бляшек в церебральных артериях и тромбообразованию [4, 29]. В инициации этих патологических состояний принимают участие матриксные металлопротеиназы - внеклеточные цинк- и кальций-зависимые ферменты эндопептидазы, разрушающие все типы белков внеклеточного матрикса и ремоделирующие соединительную ткань посредством разрушения ее органических компонентов [5, 19]. Идентифици-

ровано порядка 28 представителей семейства матриксных металлопротеиназ с различными биологическими функциями и субстратной специфичностью [19]. В последнее время в различных странах мира полиморфные варианты генов матриксных металлопротеиназ стали привлекательным объектом генетических исследований этиологии ишемического инсульта [8, 30]. Однако в российских популяциях до настоящего времени исследований по оценке взаимосвязи полиморфных вариантов генов матриксных металлопротеиназ в развитие ишемического инсульта не проводилось. Целью настоящего исследования послужил анализ ассоциации полиморфных вариантов генов матриксных металлопротеиназ *MMP10* (rs486055) и *MMP12* (rs2276109) с риском развития ишемического инсульта у жителей Центральной России.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для выполнения настоящего исследования использовалась выборка неродственных индивидов жителей уроженцев Центральной России общей численностью 1073 человека, включая 666 больных ишемическим инсультом атеротромботического типа (366 мужчин и 300 женщин, средний возраст $61,7 \pm 9,8$ года) и 407 лиц контрольной группы (218 мужчин и 189 женщин, средний возраст $61,1 \pm 9,54$ года). Группы больных ИИ и контроля были русской национальности и не отличались друг от друга как по полу, так и по возрасту ($P > 0,05$). Больные ишемическим инсультом обследовались на базах неврологических отделений Курской областной клинической больницы и городской больницы скорой медицинской помощи. Детальная информация об обследованных пациентах описана нами ранее [2, 3]. Контрольная группа формировалась из относительно здоровых добровольцев во время профессиональных осмотров, а также среди пациентов лечебно-профилактических учреждений г. Курска и Курской области, не страдающих хроническими заболеваниями. Информированное согласие на участие в данной работе подписывалось всеми участниками исследования. Протокол исследования был одобрен Региональным этическим комитетом Курского государственного медицинского университета. Пациенты включались в группу больных при подтверждении диагноза ишемический инсульт атеротромботического типа с помощью клинических и лабораторно-инструментальных методов обследования и данных компьютерной томографии головного мозга.

Геномная ДНК выделялась из венозной крови пациентов стандартным методом фенольно-

хлороформной экстракции и преципитации 96% этанолом. Генотипирование полиморфизмов rs486055 гена *MMP10* и rs2276109 гена *MMP12* проводилось методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с дискриминацией аллелей с помощью TaqMan-зондов на амплификаторе CFX96 (BioRad, США) в соответствии с протоколами, опубликованными в литературе [7, 23]. Генотипирование полиморфизмов проводилось в лаборатории геномных исследований НИИ генетической и молекулярной эпидемиологии Курского государственного медицинского университета (директор, д.м.н., профессор Полоников А.В.).

Для изучения ассоциаций аллелей и генотипов полиморфных вариантов rs486055 гена *MMP10* и rs2276109 гена *MMP12* с риском развития ИИ использовался логистический регрессионный анализ. С этой целью рассчитывались показатели отношения шансов (OR) и 95% доверительные интервалы с коррекцией по полу и возрасту. Статистический анализ проводился с использованием статистического пакета SNPstats [28].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Частоты генотипов исследованных полиморфизмов находились в равновесии Харди-Вайнберга ($P > 0,05$). Частоты аллелей и генотипов полиморфных вариантов генов *MMP10* и *MMP12* в группах больных ИИ и контроля представлены в таблице 1. Как видно из таблицы 1, между группами больных ИИ и контроля установлены статистически значимые различия в частотах генотипов полиморфного варианта rs486055 гена *MMP10* ($P = 0,003$). Так, гомозиготный генотип по аллелю дикого типа (Т/Т) ассоциировался с пониженным риском развития ишемического инсульта, независимо от пола и возраста пациентов ($OR = 0,42$ 95% CI 0,22-0,80). Сравнительный анализ частот аллелей и генотипов rs2276109 *MMP12* между группами не выявил статистически значимых ассоциаций указанного полиморфизма полиморфных с риском развития ишемического инсульта ($P > 0,05$).

Учитывая негативное влияние курения на риск развития мозгового инсульта [11, 13], нам представлялось важным оценить, являются исследуемые полиморфизмы модификаторами риска развития ишемического инсульта в зависимости от наличия указанного фактора риска.

В таблице 2 представлены результаты оценки влияния курения на риск развития ИИ у носителей генотипов полиморфных вариантов генов *MMP10* и *MMP12*.

Таблица 1

Частоты аллелей и генотипов полиморфных вариантов генов *MMP10* и *MMP12*
у больных ишемическим инсультом и здоровых индивидов

Ген (SNP ID)	Генотип, аллель	N (%)		P-уровень	OR (95% CI) ¹
		Здоровые	Больные ИИ		
<i>MMP10</i> (rs486055)	C/C	288 (70,8)	456 (68,5)	0.003	1,00
	C/T	95 (23,3)	194 (29,1)		1,29 (0,97-1,72)
	T/T	24 (5,9)	16 (2,4)		0,42 (0,22-0,80)
	T	143 (17,6)	226 (17,0)	0,72	0,96 (0,76-1,21)
<i>MMP12</i> (rs2276109)	T/T	304 (74,7)	472 (70,9)	0,40	1,00
	T/C	99 (24,3)	185 (27,8)		1,19 (0,90-1,59)
	C/C	4 (1)	9 (1,4)		1,46 (0,45-4,80)
	C	107 (13,1)	203 (15,2)	0,18	1,19 (0,92-1,53)

Примечание: ¹ – отношение шансов и 95% доверительный интервал, скорректированные по полу и возрасту.

Таблица 2

Влияние курения на риск развития ишемического инсульта
у носителей генотипов полиморфных вариантов генов *MMP10* и *MMP12*

Ген (SNP ID)	Генотип, аллель	Здоровые N (%)	Больные ИИ N (%)	OR (95% CI) ¹
Некурящие				
<i>MMP10</i> (rs486055)	C/C	159 (70,0)	159 (67,9)	1,00
	C/T	60 (28,6)	65 (25,6)	1,10 (0,72-1,66)
	T/T	15 (1,3)	3 (6,4)	0,20 (0,06-0,69)
<i>MMP12</i> (rs2276109)	T/T	177 (75,6)	158 (69,3)	1,00
	T/C	55 (23,5)	64 (28,4)	1,29 (0,85-1,96)
	C/C	2 (0,9)	5 (2,2)	2,85 (0,54-14,95)
Курящие				
<i>MMP10</i> (rs486055)	T/T	126 (74,1)	297 (67,7)	1,00
	T/C	35 (20,6)	129 (29,4)	1,56 (1,02-2,39)
	C/C	9 (5,3)	13 (3,0)	0,61 (0,25-1,46)
<i>MMP12</i> (rs2276109)	T/T	125 (73,5)	314 (41,5)	1,00
	T/C	43 (25,3)	121 (27,6)	1,13 (0,75-1,69)
	C/C	2 (1,2)	4 (0,9)	0,81 (0,15-4,50)

Примечание: ¹ – отношение шансов и 95%-й доверительный интервал, скорректированные по полу и возрасту.

Было установлено, что протективный эффект генотипа T/T rs486055 *MMP10* наблюдался исключительно у некурящих индивидов (OR=0,20 95% CI 0,06-0,69, $P=0,01$). В то же самое время у курящих индивидов генотип T/C rs486055 *MMP10* был ассоциирован с повышенным риском развития ишемического инсульта (OR=1,56 95% CI 1,02-2,39, $P=0,03$). При этом выявленные генно-средовые взаимодействия (синергизм между курением и носительством генотипов rs486055 *MMP10* в детерминации предрасположенности к ИИ) оставались статистически значимыми после коррекции по полу и возрасту методом множественной логистической регрессии.

В рамках настоящего исследования впервые в популяции русских жителей Центральной России изучены ассоциации полиморфных вариантов

rs486055 гена *MMP10* и rs2276109 гена *MMP12* с риском развития ишемического инсульта. Ассоциации полиморфного варианта rs2276109 гена *MMP12* с развитием ИИ не обнаружено. Вместе с тем в литературе имеются данные о потенциальной вовлеченности матриксной металлопротеиназы-12 (также известной как металлоэластаза макрофагов) в развитие и течение цереброваскулярной патологии [10, 16, 17]. Так, в тунисской популяции обнаружена ассоциация полиморфизмов с риском развития ишемического инсульта у больных сахарным диабетом [9].

Главным результатом настоящего исследования было выявление ассоциации генотипа C/T rs486055 *MMP10* с повышенным риском развития ишемического инсульта исключительно у курящих, тогда как у некурящих индивидов

подобная взаимосвязь генотипа с развитием болезни не обнаружена. Данная ассоциация не зависела от пола и от возраста. Это первое исследование, в рамках которого выявлена взаимосвязь полиморфизма rs486055 гена *MMP10* с развитием ишемического инсульта и что выявленная взаимосвязь модулируется одним из основных факторов риска болезни – курением.

MMP10 – фермент, также известный как стромелизин-2 или транзин-2, способен деградировать различные компоненты внеклеточного матрикса, включая фибронектин, желатины I, III, IV и V типа и проколлагеназу, в меньшей степени коллагены III, IV и V типов, а также *MMP1*, *MMP7*, *MMP8* и *MMP9*, тем самым играя роль в контроле над воспалительными процессами и целостностью сосудов [6, 22]. Примечательно, что активация экспрессии *MMP10* в сосудах индуцируется провоспалительными стимулами [18], а сывороточная концентрация фермента ассоциируется с показателем толщина интима-медиа сосудов, который является маркером субклинического атеросклероза [22].

Установлено, что повышенный уровень металлопротеиназы-10 связан с повреждением головного мозга и клиническим исходом при остром ишемическом инсульте [24]. С другой стороны, известно, что *MMP10* играет роль в восстановлении поражения мозга после развития ишемического инсульта, в связи с чем предлагается использовать фермент отдельно или в сочетании с тканевым активатором плазминогена для нейροпротекции и тромболизиса в церебральных сосудах [20, 25, 26]. Таким образом, *MMP10* – представляет собой важного игрока, как в патогенезе, так и в саногенезе ишемического инсульта.

В литературе нами обнаружено только одно исследование, в котором исследовалась ассоциация полиморфных вариантов гена *MMP10* с риском развития ишемического инсульта [32]. Данное исследование было выполнено в китайской популяции, в которой исследованы ассоциации двух полиморфизмов rs17435959 и rs17293607 с риском развития инфаркта мозга, однако не было выявлено взаимосвязей данных локусов с развитием болезни [32]. В другом исследовании данного коллектива авторов было установлено, что аллель C полиморфизма rs17435959 гена *MMP10* ассоциируется с нестабильностью атеросклеротической бляшки в каротидных артериях, что может быть связано с развитием ишемического инсульта [31].

Полиморфизм rs486055 представляет собой нуклеотидную замену (с.158C>T) во 2 экзоне гена *MMP10*, которая сопровождается аминокислотной заменой Arg53Lys в полипептидной цепи фермента. Анализ функционального эффекта по-

лиморфизма с использованием биоинформатических инструментов SNP Function Prediction (<https://snpinform.niehs.nih.gov/snpinform/snpfunc.html>) и RegulomeDB (<http://regulomedb.org>) показал, данный вариант не сопровождается изменением активности *MMP10*, но вследствие неравновесия по сцеплению с другими полиморфизмами может быть дистанционно связан с изменением экспрессии других генов, в том числе через эпигенетическую регуляцию посредством модификации хроматина. Примечательно, что полиморфный вариант rs486055-T ассоциируется с повышенной экспрессией гена *MMP27* (данные получены из базы GTEx portal, www.gtexportal.org), который гомологичен *MMP10* (относится к семейству белков *MMP10*) и расположен в том же самом хромосомном кластере 11q22.2, т.е. находится в неравновесии по сцеплению с *MMP10*. Ген *MMP27* экспрессируется практически во всех органах и тканях, но большей степени в печени, лимфоцитах, костной ткани и почках (данные получены из базы BioGPS, <http://biogps.org>). Хотя функции *MMP27* остаются малоизученными, было установлено, что повышенный уровень экспрессии этого гена ассоциирован с развитием аневризмы аорты [14], тем самым, косвенно демонстрируя его причастность к ремоделированию сосудистой стенки посредством деградации внеклеточного матрикса. Суммируя вышеизложенное можно предположить, что фактор риска ИИ – курение, посредством активации повреждения эндотелия сосудов и индукции воспаления, а также тромбообразования (тромбин способен активировать экспрессию *MMP10* [21]) способен активировать экспрессию матриксной металлопротеиназы-10. По всей видимости, в результате такой активации в церебральных артериях могут создаваться благоприятные условия для деградации внеклеточного матрикса и дестабилизации атеросклеротической бляшки, которые совместно с повышением свертывания крови провоцируют развитие атеротромботического инсульта.

Результаты настоящего исследования демонстрируют значимую роль полиморфных вариантов различных генов матриксных металлопротеиназ в формировании предрасположенности к ишемическому инсульту. Несомненно, полученные в рамках настоящего исследования результаты требуют подтверждения в независимой популяции. Дальнейшие исследования позволят пролить свет на роль данного класса генов в формировании предрасположенности к ишемическому инсульту и установить новые подходы к терапии и профилактике цереброваскулярной патологии.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (соглашение № 15-15-10010).

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Беленков Ю.Н., Мартынов А.И., Оганов Р.Г., Ольбинская Л.И., Белоусов Ю.Б., Карпов Ю.А., Кобалава Ж.Д., Лопатин Ю.М., Остроумова О.Д., Ощепкова Е.В., Скворцова В.И., Суслина З.А., Терещенко С.Н., Чазова И.Е., Шляхто Е.В. Рекомендации по вторичной профилактике инсульта (по результатам исследования PROGRESS) // Атмосфера. Кардиология. – 2003. – № 1. – С. 39-40. [Belenkov Yu.N., Martynov A.I., Oganov R.G., Ol'binskaya L.I., Belousov Yu.B., Karpov Yu.A., Kobalava Zh.D., Lopatin Yu.M., Ostroumova O.D., Oshchepkova E.V., Skvortsova V.I., Suslina Z.A., Tereshchenko S.N., Chazova I.E., Shlyakhto E.V. Recommendations for secondary prevention of stroke (based on the results of the PROGRESS study). Atmosfera. Kardiologiya. 2003; (1): 39-40 (in Russ.)].
2. Бушуева О.Ю., Стецкая Т.А., Корогодина Т.В., Иванов В.П., Полоников А.В. Влияние полиморфизма E298D гена эндотелиальной синтазы оксида азота на риск развития мозгового инсульта в зависимости от статуса курения // Генетика. – 2015. – Т. 51, № 2 – С. 256-262. [Bushueva O.Y., Stetskaya T.A., Korogodina T.V., Ivanov V.P., Polonikov A.V. The synergic effect of the E298D polymorphism of the endothelial nitric oxide synthase gene and smoking status on the risk of cerebral stroke. Russian Journal of Genetics. 2015; 51(2): 204-209.].
3. Вялых Е.К., Солодилова М.А., Бушуева О.Ю., Булгакова И.В., Полоников А.В. Связь полиморфизма гена каталазы с повышенным риском развития церебрального инсульта у больных гипертонической болезнью // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2012. – № 8. – С. 3-7. [Vialykh E.K., Solodilova M.A., Bushueva O.Yu., Bulgakova I.V., Polonikov A.V. Catalase gene polymorphism is associated with increased risk of cerebral stroke in hypertensive patients. Zhurnal nevrologii i psikiatrii im. S.S. Korsakova. 2012; (8): 3-7. (in Russ.)].
4. Пигаревский П.В., Мальцева С.В., Снегова В.А., Давыдова Н.Г., Яковлева О.Г., Ворожбит Р.А. Роль матриксной металлопротеиназы 1 типа в дестабилизации атеросклеротической бляшки у человека // Медицинский академический журнал. – 2015. – Т. 4. – С. 54-58. [Pigarevsky P.V., Maltseva S.V., Snegova V.A., Davydova N.G., Yakovleva O.G., Vorozhbit R.A. The role of type 1 matrix metalloproteinase in destabilization of atherosclerotic plaques in humans. Meditsinskiy akademicheskij zhurnal. 2015; 4: 54-58 (in Russ.)].
5. Шадрин А.С., Плиева Я.З., Кушлинский Д.Н., Морозов А.А., Филипенко М.Л., Чанг В.Л., Кушлинский Н.Е. Классификация, регуляция активности, генетический полиморфизм матриксных металлопротеиназ в норме и при патологии // Альманах клинической медицины. – 2017. – Т. 45, № 4. – С. 266-279. – DOI:10.18786/2072-0505-2017-45-4-266-279. [Shadrina A.S., Plieva Y.Z., Kushlinskiy D.N., Morozov A.A., Filipenko M.L., Chang V.L., Kushlinskii N.E. Classification, regulation of activity, and genetic polymorphism of matrix metalloproteinases in health and disease. Al'manakh klinicheskoy meditsiny – Almanac of Clinical Medicine. 2017; 45(4): 266-279. (in Russ.)].
6. Bertini I., Calderone V., Fragai M., Luchinat C., Mangani S., Terni B. Crystal structure of the catalytic domain of human matrix metalloproteinase 10 // J. Mol Biol. – 2004. – Vol. 336, N 3. – P. 707-716. – DOI: 10.1016/j.jmb.2003.12.033
7. Burger M.C. Genetic risk factors for carpal tunnel syndrome. PhD Thesis 2014, University of Cape Town, 303 p.
8. Chang J.J., Stanfill A., Pourmotabbed T. The Role of Matrix Metalloproteinase Polymorphisms in Ischemic Stroke // Int J Mol Sci. – 2016. – Vol. 17, N 8. – P. 1323. – DOI: 10.3390/ijms17081323.
9. Chehaibi K., Hrir M.Y., Nouira S., Maatouk F., Ben Hamda K., Slimane M.N. Matrix metalloproteinase-1 and matrix metalloproteinase-12 gene polymorphisms and the risk of ischemic stroke in a Tunisian population // J. Neurol. Sci. – 2014. – Vol. 342, N 1-2. – P. 107-113. – DOI: 10.1016/j.jns.2014.04.036.
10. Del Porto F., Cifani N., Proietta M., Toni D., Taurino M. MMP-12 and TIMP Behavior in Symptomatic and Asymptomatic Critical Carotid Artery Stenosis // J Stroke Cerebrovasc Dis. – 2017. – Vol. 26, N 2. – P. 334-338. – DOI: 10.1016/j.jstrokecerebrovasdis.2016.09.025.
11. Hankey G.J. Smoking and risk of stroke // J. Cardiovasc Risk. – 1999. – Vol. 6, N 4. – P. 207-211.
12. Hassan A., Markus H.S. Genetics and ischaemic stroke // Brain. – 2000. – Vol. 123, Pt. 9. – P. 1784-1812.
13. Hawkins B.T., Brown R.C., Davis T.P. Smoking and ischemic stroke: a role for nicotine? // Trends Pharmacol Sci. – 2002. – Vol. 23, N 2. – P. 78-82.
14. Lamblin N., Ratajczak P., Hot D., Dubois E., Chwaszyniak M., Beseme O., Drobecq H., Lemoine Y., Kousa M., Amouyel P., Pinet F. Profile of macrophages in human abdominal aortic aneurysms: a transcriptomic, proteomic, and antibody protein array study // J. Proteome Res. – 2010. – Vol. 9, N 7. – P. 3720-3729. – DOI: 10.1021/pr100250s.
15. Lindgren A. Stroke genetics: a review and update // J. Stroke. – 2014. – Vol. 16, N 3. – P. 114-123. – DOI: 10.5853/jos.2014.16.3.114.
16. Ma F., Rodriguez S., Buxo X., Moranchio A., Riballena I., Carrera A., Bustamante A., Giralto D., Montaner J., Martinez C., Bori I., Rosell A. Plasma Matrix Metalloproteinases in Patients With Stroke During Intensive Rehabilitation Therapy // Arch Phys Med Rehabil. – 2016. – Vol. 97, N 11. – P. 1832-1840. – DOI: 10.1016/j.apmr.2016.06.007.
17. Mahdessian H., Perisic Matic L., Lengquist M., Gertow K., Sennblad B., Baldassarre D., Veglia F., Humphries S.E., Rauramaa R., de Faire U., Smit A.J., Giral P., Kurl S., Mannarino E., Tremoli E., Hamsten A., Eriksson P., Hedin U., Mälarstig A., IMPROVE study group. Integrative studies implicate matrix metalloproteinase-12 as a culprit gene for large-artery atherosclerotic stroke // J Intern Med. – 2017. – Vol. 282, N 5. – P. 429-444. – DOI: 10.1111/joim.12655.
18. Montero I., Orbe J., Varo N., Belouqui O., Monreal J.I., Rodriguez J.A., Díez J., Libby P., Páramo J.A.

- C-reactive protein induces matrix metalloproteinase-1 and -10 in human endothelial cells: implications for clinical and subclinical atherosclerosis // *J Am Coll Cardiol*. – 2006. – Vol. 47, N 7. – P. 1369-1378. – DOI: 10.1016/j.jacc.2005.10.070.
19. Nagase H., Woessner J.F. Jr. Matrix metalloproteinases // *J Biol Chem*. – 1999. – Vol. 274, N 31. – P. 21491-21494.
20. Orbe J., Barrenetxe J., Rodriguez J.A., Vivien D., Orset C., Parks W.C., Birkland T.P., Serrano R., Purroy A., Martinez de Lizarrondo S., Angles-Cano E., Páramo J.A. Matrix metalloproteinase-10 effectively reduces infarct size in experimental stroke by enhancing fibrinolysis via a thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor-mediated mechanism // *Circulation*. – 2011. – Vol. 124, N 25. – P. 2909-2919. – DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.047100.
21. Orbe J., Rodríguez J.A., Calvayrac O., Rodríguez-Calvo R., Rodríguez C., Roncal C., Martínez de Lizarrondo S., Barrenetxe J., Reverter J.C., Martínez-González J., Páramo J.A. Matrix metalloproteinase-10 is upregulated by thrombin in endothelial cells and increased in patients with enhanced thrombin generation // *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. – 2009. – Vol. 29, N 12. – P. 2109-2116. – DOI: 10.1161/ATVBAHA.109.194589.
22. Orbe J., Montero I., Rodriguez J.A., Beloqui O., Roncal C., Páramo J.A. Independent association of matrix metalloproteinase-10, cardiovascular risk factors and subclinical atherosclerosis // *J. Thromb Haemost*. – 2007. – Vol. 5. – P. 91-97. – DOI: 10.1111/j.1538-7836.2006.02276.x
23. Panayiotou A.G., Griffin M.B., Tyllis T., Georgiou N., Bond D., Humphries S.E., Nicolaides A.N. Association of genotypes at the matrix metalloproteinase (MMP) loci with carotid IMT and presence of carotid and femoral atherosclerotic plaques // *Vasc Med*. – 2013. – Vol. 18, N 5. – P. 298-306. – DOI: 10.1177/1358863X13502698.
24. Rodríguez J.A., Sobrino T., Orbe J., Purroy A., Martínez-Vila E., Castillo J., Páramo J.A. proMetalloproteinase-10 is associated with brain damage and clinical outcome in acute ischemic stroke // *J. Thromb Haemost*. – 2013. – Vol. 11, N 8. – P. 1464-1473. – DOI: 10.1111/jth.12312.
25. Roncal C., Martinez de Lizarrondo S., Salicio A., Chevilly A., Rodriguez J.A., Rosell A., Couraud P.O., Weksler B., Montaner J., Vivien D., Páramo J.A., Orbe J. New thrombolytic strategy providing neuroprotection in experimental ischemic stroke: MMP10 alone or in combination with tissue-type plasminogen activator // *Cardiovasc Res*. – 2017. – Vol. 113, N 10. – P. 1219-1229. – DOI: 10.1093/cvr/cvx069.
26. Serrano R., Purroy A., Martinez de Lizarrondo S., Angles-Cano E., Páramo J.A. Matrix metalloproteinase-10 effectively reduces infarct size in experimental stroke by enhancing fibrinolysis via a thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor-mediated mechanism // *Circulation*. – 2011. – Vol. 124, N 25. – P. 2909-2919. – DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.047100.
27. Sharma P., Yadav S., Meschia J.F. Genetics of ischaemic stroke // *J. Neurol Neurosurg Psychiatry*. – 2013. – Vol. 84, N 12. – P. 1302-1308. – DOI: 10.1136/jnnp-2012-304834.
28. Solé X., Guinó E., Valls J., Iniesta R., Moreno V. SNPStats: a web tool for the analysis of association studies // *Bioinformatics*. – 2006. – Vol. 22, N 15. – P. 1928-1929. – DOI: 10.1093/bioinformatics/btl268.
29. Stoll G., Kleinschnitz C., Nieswandt B. Molecular mechanisms of thrombus formation in ischemic stroke: novel insights and targets for treatment // *Blood*. – 2008. – Vol. 112, N 9. – P. 3555-3562. – DOI: 10.1182/blood-2008-04-144758.
30. Wen D., Du X., Nie S.P., Dong J.Z., Ma C.S. Association between matrix metalloproteinase family gene polymorphisms and ischemic stroke: a meta-analysis // *Mol Neurobiol*. – 2014. – Vol. 50, N 3. – P. 979-985. – DOI: 10.1007/s12035-014-8687-8.
31. Zhu F., Jin X.P., Huang M.W., Zhu M., Chen Q.L., Wang F., Hu X.F., Wang W.F., Li W.L., Li C., Zhu Z.Y., Zheng Z. Association between matrix metalloproteinase-10 gene polymorphisms and instability of carotid plaque // *Zhonghua Yi Xue Yi Chuan Xue Za Zhi*. – 2013. – Vol. 30, N 6. – P. 711-715. – DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-9406.2013.06.017.
32. Zhu F., Jin X.P., Zhu M., Zhang L.L., Wang F., Wang W.F., Hu X.F., Li W.L., Li C., Zheng Z. Matrix metalloproteinase 10 gene polymorphism and atherothrombotic cerebral infarction risk in a Han Chinese population // *Int J Clin Exp Med*. – 2013. – Vol. 6, N 7. – P. 567-575.

РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ 2-ДИМЕТИЛАМИНО-1,3-БИС-(ФЕНИЛСУЛЬФОНИЛТИО)ПРОПАНА В ТКАНИ ГНИЛОСТНО ИЗМЕНЁННОЙ ПЕЧЕНИ

© Баранов Ю.Н., Шорманов В.К., Нестерова А.В., Коваленко Е.А.

Кафедра фармацевтической, токсикологической и аналитической химии
Курского государственного медицинского университета, Курск
E-mail: R-WLADIMIR@yandex.ru

Исследованы особенности изолирования 2-диметиламино-1,3-бис-(фенилсульфонилтио)пропана (бенсултапа) из искусственных смесей с тканью гнилостно измененной печени этилацетатом в режиме инфузии. Для извлечения 75,39-75,42 % 2-диметиламино-1,3-бис-(фенилсульфонилтио)-пропана этилацетатом из гнилостно измененной печени необходимо двукратное настаивание биологической матрицы с этилацетатом при соотношении масс изолирующей жидкости и биологического объекта 2:1 и продолжительности каждого этапа инфузии 30 минут. Очистка выделенного вещества от эндогенных веществ биоматрицы осуществляется методом макроколоночной хроматографии (неподвижная фаза – силикагель L 40/100 мкм, элюенты – гексан и смесь гексан-диоксан-пропанол-2 (8:3:0,6)). Разработана методика определения 2-диметиламино-1,3-бис-(фенилсульфонилтио)пропана (бенсултапа) в ткани гнилостно измененной печени с использованием варианта нормальнофазовой ВЭЖХ. Методика валидирована по показателям линейности, правильности, прецизионности, стабильности. Пределы обнаружения и количественного определения 2-диметиламино-1,3-бис-(фенилсульфонилтио)пропана составляют соответственно $3,15 \cdot 10^{-6}$ г и $4,0 \cdot 10^{-6}$ г в 1 г биоматериала.

Ключевые слова: 2-диметиламино-1,3-бис-(фенилсульфонилтио)-пропан (бенсултап), изолирование, очистка, идентификация и определение, валидация.

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF PROCEDURE FOR DETERMINING 2-DIMETHYLAMINO-1.3-BIS-(PHENYLSULFONYLTHIO) PROPANE IN PUTREFIED LIVER TISSUE

Baranov Yu.N., Shormanov V.K., Nesterova A.V., Kovalenko E.A.

Department of Pharmaceutical, Toxicological and Analytical Chemistry of Kursk State Medical University, Kursk

Special features of isolating ethyl acetate of 2-dimethylamino-1.3-bis-(phenylsulfonylthio) propane (bensultap) from its artificial mixtures with the putrefied liver tissue upon infusion mode have been investigated. Double infusion of biological matrix with ethyl acetate at a mass ratio of isolation liquid to biologic object 2:1 and the 30 minutes running time of each infusion stage were necessary to isolate 75.39-75.42 % of 2-dimethylamino-1.3-bis-(phenylsulfonylthio) propane (bensultap) from putrescent liver. Purification of the isolated substance from endogenous compounds has been carried out by the method of micro-column chromatography (stationary phase - silica gel L 40/100 μ m, eluents - hexane and a mixture of hexane-dioxane-propanol-2 (8: 3: 0.6)). The procedure for determining 2-dimethylamino-1.3-bis-(phenylsulfonylthio) propane (bensultap) in the putrefied liver tissue f by using normal-phase HPLC variant has been worked out. The procedure proposed has been validated by criteria of linearity, trueness, precision, and stability. Detection limit and quantitation limit for 2-dimethylamino-1.3-bis-(phenylsulfonylthio) propane were correspondently $3.15 \cdot 10^{-6}$ g and $4.0 \cdot 10^{-6}$ g per 1 g of biomaterial.

Keywords: 2-dimethylamino-1.3-bis-(phenylsulfonylthio) propane (bensultap), isolation, purification, identification and assay, validation.

2-Диметиламино-1,3-бис-(фенилсульфонилтио)пропан (1,3-бис(бензолсульфонилсульфанил)-N,N-диметилпропан-2-амин); устоявшееся название бенсултап; торговые наименования: банкол, Ambcb5157213, дибензолсульфонат нерейстокси-на, BRN 2228033, виктенон, рубан (далее по тексту – 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П) – биологически активное соединение антихолинэстеразного действия, обладающее свойствами инсектицида [3, 4, 9].

2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П – это белое с незначительным коричневатым оттенком кристаллическое вещество (температура плавления 84-85°C). 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П плохо растворим в воде (при 30°C 0,7-0,8 г/л), а также в кисло-водных растворах. Хорошую растворимость (при 25°C

>1000 г/кг) вещество обнаруживает в трихлорметане, ацетонитриле и диметилкетоне. При 25°C растворимость (г/кг) 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П в метаноле составляет 25, в этаноле – 13, в гексане – 0,17 [8, 10, 16].

2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П оказывает токсическое действие на теплокровные организмы. LD₅₀ при введении данного соединения внутривенно крысам немного превышает 1 г/кг. Регулярно отмечаются случаи отравления людей 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П и рядом близких к нему по структуре и свойствам веществ [11, 12].

Определенный процент отравлений рассматриваемым веществом заканчивался летальным исходом. Отравления 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П со смертельным исходом отмечены в странах Цен-

тральной Азии, Индокитая, ряде европейских государств [13-15].

Несколько летальных исходов от отравления данным соединением зарегистрировано в Центрально-Черноземном регионе Российской Федерации, а также на территории Республики Украина. В районе г. Киева за период с 1993 по 2013 год пятая часть всех отравлений приходилась на отравления 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П [1, 2, 5].

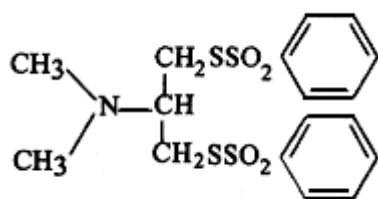
Наличие многочисленных отравлений 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П на территории Российской Федерации, многих стран Азии и Европы позволяет считать данное вещество важным объектом судебно-химического анализа и делает необходимым изучение особенностей его изолирования из биологических объектов, очистки и определения.

Продолжают оставаться малоизученными некоторые направления судебно-химического анализа 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П, состоящие в разработке методик его определения в тканях органов, подвергшихся гнилостным изменениям, и валидации этих методик.

Цель настоящего исследования – разработка методики определения 2-диметиламино-1,3-бис-(фенилсульфонилтио)пропана в ткани гнилостно измененной печени и валидация разработанной методики.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объект исследования – 2-диметиламино-1,3-бис-(фенилсульфонилтио)пропан (2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П), ч., СОП 342-034-2003, не менее 97% основного компонента. Структуру данного соединения отражает формула:



Принимая во внимание данные ранее проведенных экспериментальных исследований, в качестве оптимального изолирующего агента был выбран этилацетат, позволяющий достигать высоких значений степени извлечения соединений с невыраженными кислотно-основными свойствами, к которым относится и 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П, а также обеспечивающий получение достаточно чистых извлечений из биологических тканей [6].

Для проведения экспериментов готовили искусственные смеси 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П с тка-

ню гнилостно измененной печени (содержание исследуемого вещества 0,1%) и оставляли их на 90 мин при 18–22°C.

2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П дважды по 45 минут извлекали из приготовленных биологических объектов этилацетатом в режиме инфузии при массовом соотношении «изолирующий агент – ткань печени» 2:1. Первое и второе извлечения объединяли, часть общего извлечения наносили в виде полосы на линию старта пластины «Сорбфил» ПТСХ-АФ-А-УФ и хроматографировали, используя подвижную фазу гексан-диоксан-пропанол-2-ацетон (8:3:0,8:0,8).

При проявлении хроматограмм в УФ-свете ($\lambda = 254$ нм) на них обнаруживались темные пятна с $R_f = 0,56 \pm 0,03$, соответствующие 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П. Фрагмент пластины с пятном исследуемого вещества вырезали из пластины и элюировали вещество 95% этанолом в течение 15 минут. Интенсивность поглощения элюата измеряли при длине волны 255 нм на приборе СФ-46 в кювете с толщиной рабочего слоя 10 мм. Количество извлеченного из ткани гнилостно измененной печени 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П рассчитывали, используя уравнение градуировочного графика. По приведенной схеме исследовали влияние на полноту извлечения анализируемого соединения из искусственных смесей с тканью гнилостно измененной печени ряда факторов (продолжительности каждого этапа настаивания, соотношения масс изолирующей жидкости и биологического объекта, кратности настаивания).

В найденных оптимальных условиях изучалась зависимость степени извлечения 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П от его содержания в биологической ткани. Для исследования брали искусственные смеси с содержанием аналита 0,005-0,2%.

Проводили исследования по определению оптимальных условий очистки 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П от возможных эндогенных веществ биоматрицы в макроколонке 160×10 мм силикагеля L с размерами частиц 40-100 мкм при использовании мало- и среднеполярных подвижных фаз. Присутствие 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П во фракциях обнаруживали методом ТСХ в соответствии с приводимыми выше условиями.

Для идентификации и количественного определения 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П применяли вариант нормальнофазовой ВЭЖХ, используя колонку размерами 64 мм×2 мм с сорбентом «Силасорб-600» и прибор «Милихром», снабженный УФ-детектором).

На основе предварительных исследований разрабатывалась методика определения 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П в ткани гнилостно измененной печени и проводилась валидация по установленным правилам [7].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ
И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что достаточно полно 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П изолируется из ткани гнилостно измененной печени этилацетатом уже в условиях двукратного настаивания биоматериала с изолирующим агентом, если на каждом этапе изолирования масса изолирующей жидкости превышает массу биологического объекта как минимум в два раза, а продолжительность каждого этапа составляет не менее 30 мин.

Оптимальные условия хроматографирования анализируемого соединения в макроколоне силикагеля типа «L» состоят в том, что через колонку вначале пропускают неполярный гексан, после выхода 20 мл гексана его слой над поверхностью сорбента удаляют, а в колонку начинают подавать систему растворителей гексан – диоксан – пропанол-2 (8:3:0,6). С момента начала подачи системы начинается сбор фракций элюата по 2 мл каждая. 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П элюируется фракциями с 11 по 14 (21-28 мл).

Для определения 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П методом ВЭЖХ в качестве подвижной фазы предложена смесь растворителей гексан-диоксан-пропанол-2 (15:5:1). Скорость элюирования – 100 мкл/мин, скорость ленты самописца – 720 мм/час, масштаб регистрации – 0,8 ед.о.п., аналитическая длина волны – 256 нм.

При воспроизведении предложенных условий время удерживания рассматриваемого вещества составляет 6,36 мин, относительное удерживание – 1,53, коэффициент емкости – 3,04, число теоретических тарелок – 2257.

Результаты определения степени извлечения 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П из искусственных смесей при содержании аналита в биоматериале 0,01-0,2% представлены в табл. 1.

Как свидетельствуют полученные данные, предлагаемые условия позволяют выделить из ткани гнилостно измененной печени 75, 39-75, 42% 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П от первоначально внесенных количеств.

На основе предварительных исследований разработана методика определения 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П в ткани гнилостно измененной печени с использованием метода нормальнофазовой ВЭЖХ.

Методика определения 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П в ткани гнилостно измененной печени. 10 г ткани гнилостно измененной печени, содержащей анализируемое соединение, 30 минут настаивали с 20 г этилацетата при периодическом перемешивании. Извлечение отделяли от твердых частиц биоматериала, а процесс настаивания повторяли в описанных условиях. Оба извлечения объединяли, фильтровали через безводный сульфат натрия (толщина слоя 1-1,5 см), слой сульфата натрия промывали 10 г этилацетата. Фильтрат и промывную жидкость объединяли в выпарительной чашке, растворитель испаряли в токе воздуха при температуре 18-22°C.

Полученный остаток растворяли в 4 мл трихлорметана, 2 мл раствора смешивали с 1 г силикагеля L 40/100 мкм и удаляли трихлорметан из сорбента в токе воздуха.

В стеклянную колонку размером 490×10 мм помещали вначале 9 г силикагеля L 40/100 мкм, а потом, поверх сформированного слоя, помещали 1 г силикагеля L 40/100 мкм, содержащего 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П, добавленный в виде трихлорметанового раствора. Процесс элюирования и сбора фракций элюата осуществляли по приведенной выше схеме. Фракции с 11 по 14 включительно сливали вместе в выпарительную чашку и удаляли элюент в токе воздуха при температуре 18-22°C. Остаток растворяли в 5 мл диоксана. 2,0 мл полученного диоксанового раствора вносили в выпарительную чашку и упаривали в токе воздуха при комнатной температуре до сухого остатка. Остаток растворяли в смеси 1,0 мл диоксана и 0,2 мл пропанола-2, к раствору прибавляли 3 мл гексана, переносили в мерную колбу вместимостью 5 мл и доводили содержимое колбы до метки системой растворителей гексан-диоксан-пропанол-2 (15:5:1). 16 мкл содержимого колбы вводили в хроматограф.

Таблица 1

Результаты определения степени извлечения 2-диметиламино-1,3-бис-(фенилсульфонилтио)пропана этилацетатом из ткани гнилостно измененной печени после очистки методом макроколоночной хроматографии (n=5, P=0,95)

Содержание 2-диметиламино-1,3-бис-(фенилсульфонилтио)-пропана в ткани гнилостно измененной печени, %	Степень извлечения, %			
	$\bar{x}$	S	$S_{\bar{x}}$	$\Delta\bar{x}$
0,2	74,01	2,49	1,11	3,10
0,1	73,66	2,71	1,21	3,37
0,04	73,44	2,85	1,27	3,53
0,02	72,91	3,31	1,48	4,12
0,01	72,20	3,77	1,68	4,70

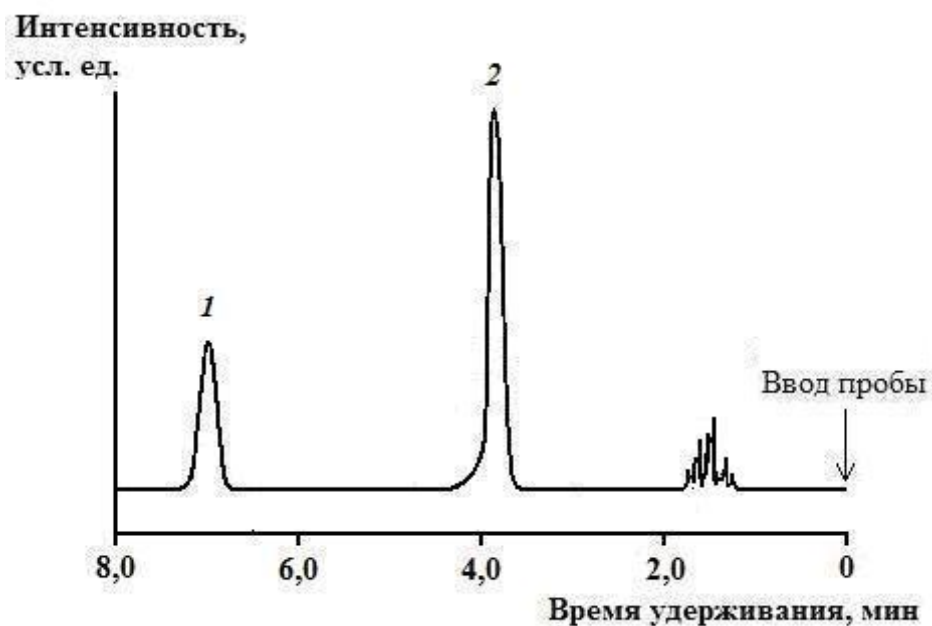


Рис. 1. Хроматограмма (ВЭЖХ) 2-диметиламино-1,3-бис-(фенилсульфонил-тио)пропана (1), извлеченного из ткани гнилостно измененной печени, в присутствии тетраметилтиурамдисульфида (внутренний стандарт) (2).

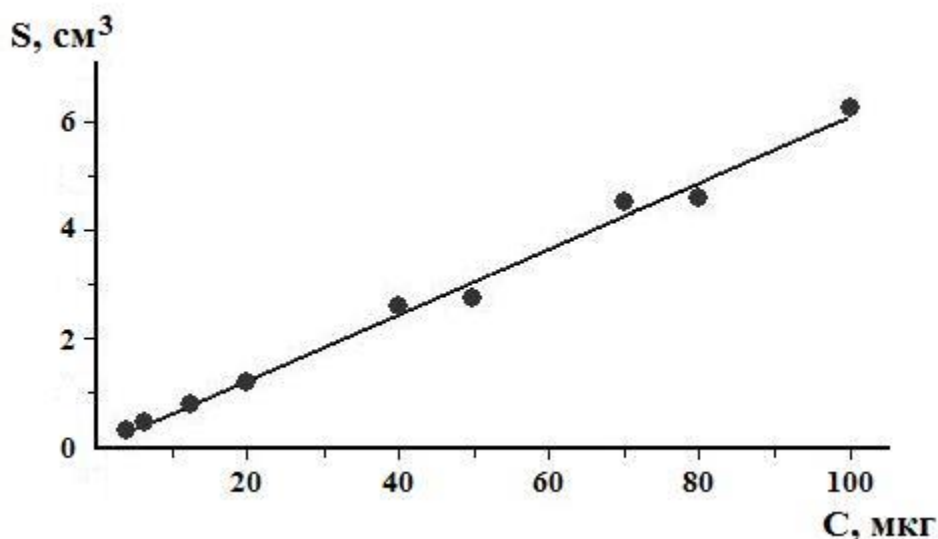


Рис. 2. Градуировочный график зависимости площади хроматографического пика (S , см³) от концентрации 2-диметиламино-1,3-бис-(фенилсульфонилтио)пропана в ткани гнилостно измененной печени (C , мкг/г).

2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П идентифицировали по времени удерживания ($6,36 \pm 0,05$). Хроматограмма исследуемого соединения, извлеченного из ткани гнилостно измененной печени, в присутствии внутреннего стандарта изображена на рис. 1.

Оценку количественного содержания объекта исследования в биоматрице проводили, принимая во внимание площадь хроматографического пика и используя уравнение градуировочного графика.

Валидационные мероприятия. Проводили валидационные мероприятия для разработанной методики по параметрам линейности, правильно-

сти, прецизионности, селективности, пределов обнаружения и определения.

Линейность. В рамках каждого аналитического цикла готовили искусственные смеси биоматериала (ткани гнилостно измененной печени) и 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П с содержанием исследуемого вещества 4,0, 6,25, 12,5, 20, 40, 50, 70, 80 и 100 мкг/г, после чего их выдерживали 90 минут при 18-22°C. Через указанный промежуток времени изолировали 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П из искусственных смесей, подвергали очистке, а затем идентифицировали и количественно определяли по указанной выше схеме.

Таблица 2

Отклонения найденных концентраций градуировочных смесей с тканью гнилостно измененной печени от истинного содержания в них 2-диметиламино-1,3-бис-(фенилсульфонилтио)пропана

Истинное содержание 2-диметиламино-1,3-бис-(фенилсульфонилтио)-пропана, мкг/г	Найденное содержание 2-диметиламино-1,3-бис-(фенилсульфонилтио)-пропана мкг/г	Относительная погрешность, %
4	4,7161	17,90
6,25	7,0499	12,80
12,5	12,4920	-0,001
20	19,3920	-3,04
40	42,4130	6,03
50	44,5327	-10,94
70	74,0870	5,84
80	75,1906	-6,01
100	102,7992	2,80
Допустимые пределы: для наименьшей концентрации линейного диапазона – не более 20%, для остальных концентраций линейного диапазона – не более 15%		

Таблица 3

Оценка правильности и прецизионности методики определения 2-диметиламино-1,3-бис-(фенилсульфонилтио)пропана в ткани гнилостно измененной печени с использованием нормальнофазовой ВЭЖХ

Внесено аналита, мкг в 1 г биоматрицы	Найдено, мкг в 1 г биоматрицы	Относительная погрешность, %	Метрологические характеристики
Исследование в первый день			
12,5	12,64	7,28	$\bar{x}=13,41$; S=1,0729; S $_{\bar{x}}$ =0,4798; $\Delta\bar{x}=1,3338$; $\bar{\mathcal{E}}=9,95$; S $_r=8,00\%$
12,5	13,88		
12,5	14,95		
12,5	12,22		
12,5	13,36		
40	38,66	-6,18	$\bar{x}=37,528$; S=2,1435; S $_{\bar{x}}$ =0,9586; $\Delta\bar{x}=2,6649$; $\bar{\mathcal{E}}=7,10$; S $_r=5,7117\%$
40	34,58		
40	40,33		
40	36,85		
40	37,22		
80	75,63	-8,58	$\bar{x}=73,134$; S=3,5594; S $_{\bar{x}}$ =1,5918; $\Delta\bar{x}=4,4252$; $\bar{\mathcal{E}}=6,05$; S $_r=4,8670\%$
80	77,89		
80	72,34		
80	69,49		
80	70,32		
Исследование в последующий день			
12,5	14,8	12,51	$\bar{x}=14,064$; S=1,1949; S $_{\bar{x}}$ =0,5344; $\Delta\bar{x}=1,4855$; $\bar{\mathcal{E}}=10,56$; S $_r=8,495\%$
12,5	13,04		
12,5	12,64		
12,5	15,48		
12,5	14,36		
40	43,39	4,23	$\bar{x}=41,692$; S=2,4458; S $_{\bar{x}}$ =1,0938; $\Delta\bar{x}=3,0408$; $\bar{\mathcal{E}}=7,29$; S $_r=5,866\%$
40	39,16		
40	44,85		
40	39,54		
40	41,52		
80	76,25	-7,46	$\bar{x}=74,036$; S=3,7479; S $_{\bar{x}}$ =1,6761; $\Delta\bar{x}=4,6596$; $\bar{\mathcal{E}}=6,29$; S $_r=5,062\%$
80	78,94		
80	72,26		
80	69,15		
80	73,58		

Для разработки градуировочной модели использовали результаты 5 параллельных измерений каждой концентрации из 5 разных аналитических циклов. Рассчитанное уравнение градуировочного графика имеет вид: $S = k \cdot C + b = 0,060836 \cdot C + 0,018226$, где S – площадь пика, C – концентрация 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П в биоматериале, мкг/г. Градуировочный график представлен на рис. 2.

Коэффициент корреляции (r) равен 0,99562. Методика приемлема по показателю линейности.

Отклонения рассчитанных концентраций градуировочных смесей вещества с тканью гнилостно измененной печени от реального содержания в них 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П представлены в табл. 2.

Правильность и прецизионность. Правильность и прецизионность оценивали на основе объединенной выборки результатов анализа холостых образцов биоматериала со стандартными добавками исследуемого вещества.

При этом готовили искусственные смеси ткани гнилостно измененной печени и 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П с нижним, средним и высоким уровнями содержания вещества (соответственно 12,5, 40 и 80 мкг/г).

Приготовленные искусственные смеси сохраняли 90 минут при 18-22°C. Затем образцы подвергали анализу (проведение 5 параллельных измерений) в рамках двух аналитических циклов (исследование в первый и последующий дни) по описанной выше схеме.

Количество 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П в образцах рассчитывали исходя из площади хроматографического пика, при использовании уравнения градуировочного графика и делали пересчет на навеску.

Результаты определения правильности и прецизионности разработанной методики приведены в табл. 3.

Приводимые в таблице данные подтверждают соответствие методики выбранным для оценки параметрам.

Селективность. По 6 образцов ткани гнилостно измененной печени, не содержащих анализируемое вещество, и по 6 образцов ткани гнилостно измененной печени с введенным стандартом 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П в интервале концентраций $7,5 \cdot 10^{-6}$ – $8,0 \cdot 10^{-5}$ г/г исследовали по предлагаемой схеме. На хроматограммах извлечений из биоматериала, не содержащего 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П, отсутствовали пики со значениями времени удерживания, совпадающими с временем удерживания аналита или близкими к этому значению. Это характеризует методику как селективную.

Предел обнаружения 2-ДМА-1,3-бис-(ФСТ)П в ткани гнилостно измененной печени равен $3,15 \cdot 10^{-6}$ г/г, *предел количественного определения* – $4,0 \cdot 10^{-6}$ г/г.

На основании проведенных исследований можно сделать следующие выводы:

1. Показана целесообразность изолирования 2-диметиламино-1,3-бис-(фенилсульфонилтио)пропана этилацетатом из ткани гнилостно измененной печени в режиме инфузии. Установлены оптимальные параметры извлечения аналита выбранным растворителем.

2. Предложен вариант исследования ткани гнилостно измененной печени с целью подтверждения присутствия в ней рассматриваемого соединения на основе изолирования этилацетатом, очистки посредством макроколоночной адсорбционной хроматографии на силикагеле L 40/100 мкм, идентификации и количественного определения методом ВЭЖХ.

3. Предложенная методика отвечает установленным критериям линейности, правильности, прецизионности, селективности. Пределы обнаружения и количественного определения (ПО и ПК) составляют соответственно $3,15 \cdot 10^{-6}$ г/г и $3,15 \cdot 10^{-6}$ г/г биоматериала.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Григорьев А.М., Недовизина Г.В., Пирожков М.В. Определение производных и метаболитов бенсультана (банкола) хроматографическими методами // Судебно-медицинская экспертиза. – 2009. – Т. 52, № 5. – С. 30-35. [Grigoriev A.M., Nedovizina G.V., Pirozhkov I.V. Detection of bancol derivatives and metabolites by chromatographic methods. Sudebno-meditsinskaya ekspertiza. 2009; 52 (5): 30-35 (in Russ.)].
2. Курдиль Н.В., Иващенко О.В., Струк В.Ф., Богомол А.Г. Особенности острых отравлений пестицидами в условиях города: карбаматы, пиретроиды, неоникотиноиды // Медицина неотложных состояний. – 2015. – Т. 66, № 3. – С. 51-57. [Kurdil N.V., Zozulia I.S., Ivashchenko O.V. Features of acute pesticide poisonings in urban area. Meditsina neotlozhnykh sostoyaniy. 2015; 66 (3): 51-57 (in Russ.)].
3. Мельников Н.Н., Новожилов К.В., Белан С.Р. Пестициды и регуляторы роста растений. – М.: Химия, 1995. – 575 с. [Mel'nikov N.N., Novozhilov K.V., Belan S.R. Pesticides and plant growth regulators. M.: Khimiya; 1995: 575 (in Russ.)].
4. Проскряков А.В., Амирханов Д.В. Эффективность банкола в борьбе с колорадским жуком // Агрохимия. – 1991. – № 5. – С. 120-124. [Proskryakov A.V., Amirkhanov D.V. The effectiveness of the bancol in the fight against the Colorado potato beetle. Agrokhimiya. 1991; (5): 120-124 (in Russ.)].
5. Шорманов В.К., Баранов Ю.Н., Дурицын Е.П., Маслов С.В., Прониченко Е.И., Ганиев С.В. Судеб-

- но-химическое определение банкола // Судебно-медицинская экспертиза. – 2010. – Т. 53, № 6. – С. 39-41. [Shormanov V.K., Baranov Iu.N., Duritsyn E.P., Maslov S.V., Pronichenko E.I., Ganiev S.V. Detection of bancol for the purpose of forensic chemical expertise. Sudebno-meditsinskaya ekspertiza. 2010; 53 (6): 39-41. (in Russ.)].
6. Шорманов В.К., Ким А.В., Дурицын Е.П. Особенности определения ТМТД в биологическом материале // Судебно-медицинская экспертиза. – 2010. – Т. 53, № 2. – С. 45-49. [Shormanov V.K., Kim A.V., Duritsyn E.P., Baranov Iu.N. Peculiarities of tetramethyltiuram disulfide detection in the biological material. Sudebno-meditsinskaya ekspertiza. 2010; 53 (2): 45-49 (in Russ.)].
7. Шорманов В.К., Андреева Ю.В., Герасимов Д.А., Маркелов М.Ю., Омельченко В.А. Применение методов обращенно-фазовой хроматографии для идентификации и количественного определения флутамида и близких по структуре веществ в биологических жидкостях // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2016. – Т. 16, № 6. – С. 868-879. [Shormanov V.K., Andreeva J.V., Gerasimov D.A., Markelov M.Yu., Omelchenko V.A. The use of reverse phase chromatography methods for the identification and quantification of flutamide and similar structures of substances in biological fluids. Sorbtsionnyye i khromatograficheskiye protsessy. 2016; 16 (6): 868-879 (in Russ.)].
8. Bensultap [Электронный ресурс] // Lofter . – Режим доступа: <http://docbook.blog.163.com/blog/static/208326047201262412227365/>, свободный (20.01.2018). [Bensultap [Electronic resource]. Lofter. Access mode: <http://docbook.blog.163.com/blog/static/208326047201262412227365/>, free (01/20/2018)].
9. Bensultap [Электронный ресурс] // Pub Chem. – Режим доступа: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Bensultap#section=Top>, свободный (20.01.2018). [Bensultap [Electronic resource]. Pub Chem. Access mode: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Bensultap#section=Top>, free (01/20/2018). (in Russ.)].
10. Civelek H.S., Çolak A.M. Effects of Some Plant Extracts and Bensultap on *Trichoderma griseus* (Fabricius, 1792) (Coleoptera: Cerambycidae) // World Journal of Agricultural Sciences. – 2008. – Vol. 4, N 6. – P. 721-725.
11. Kalyaniwala K., Abhilash K., Victor P.J. Cartap Hydrochloride Poisoning // J Assoc. Physicians. India. – 2016. – Vol. 64, N 8. – P. 91-92.
12. Kumar A.S., Amalnath D., Dutta T.K. Cartap poisoning: A rare case report // Indian J. Crit. Care Med. – 2011. – Vol.15, N 4. – P. 233-235. – DOI:10.4103/0972-5229.92075.
13. Kurisaki E., Kato N., Ishida T. Fatal human poisoning with PadanTM: a cartap-containing pesticide // Clinical Toxicology. – 2010. – Vol. 48, N 2. – P. 153-155. – DOI:10.3109/15563650903505166.
14. Mikov M., Jeczek M., Popovic J. Acute human poisoning with bensultap (Bancol) // Arch. Toxicol. Kinet. Xenobiot. Metab. – 1997. – Vol. 5. – P. 231-233.
15. Park Y., Choe S., Lee H., Jo J., Kim E., Pyo J., Jung J.H. Advanced analytical method of nereistoxin using mixed-mode cationic exchange solid-phase extraction and GC/MS // Forensic Sci. Int. – 2015. – Vol. 252. – P. 143-149. – DOI: 10.1016/j.forsciint.2015.04.010.
16. Summary of Toxicity Studies on Bensultap. (Development Department, Plant Protection Research, AgroDivision, Taceda Chemical Industries, Ltd.) // J. Pesticide Sci. – 1989. – Vol. 14, N 4. – P. 523-529.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЦЕФТРИАКСОНА В БИОЛОГИЧЕСКОМ МАТЕРИАЛЕ

© Безъязычная А.А., Шорманов В.К., Сипливая Л.Е.

Кафедра фармацевтической, токсикологической и аналитической химии
Курского государственного медицинского университета, КурскE-mail: R-WLADIMIR@yandex.ru

Рассмотрена возможность определения цефтриаксона методом ИК-спектроскопии в биологическом материале, а также возможность доказательства подлинности рабочего образца анализируемого антибиотика при сравнении со стандартным образцом. Исследования проводили на модельных смесях аналита с тканью трупной печени, не имевших признаков гнилостного изменения. Установлено совпадение ИК-спектров рабочего и эталонного образца по характерным полосам поглощения, что доказывает возможность применения рабочего образца для дальнейшего исследования с целью экономической выгоды. Обоснована возможность применения метода ИК-спектроскопии для идентификации цефтриаксона в извлечениях из биологического материала. Применена в практике методика изолирования и очистки цефтриаксона, извлеченного из биологического материала.

Ключевые слова: цефтриаксон, определение в биологическом материале, метод ИК-спектроскопии.

DETERMINATION OF CEFTRIAXONE IN BIOLOGICAL MATERIAL

*Bezyazychnaya A.A., Shormanov V.K., Siplivaya L.E.***Department of Pharmaceutical, Toxicological and Analytical Chemistry of Kursk State Medical University, Kursk**

The possibility of ceftriaxone determination by IR spectroscopy in biological material is studied, as well as the possibility of proving the authenticity of a functional sample of the antibiotic analyzed in comparison with a standard sample. The studies were carried out on the prototyping mixtures of the analyte with the tissue of the cadaveric liver, which had no signs of a putrefactive change. The IR spectra of the functional and reference samples were found to coincide with characteristic absorption bands that prove the possibility of using a functional sample for further research with a view to economic benefit. The possibility of applying IR spectroscopy for the identification of ceftriaxone in extracts from biological material is substantiated. The practice of isolation and purification of ceftriaxone extracted from biological material has been applied in practice.

Keywords: ceftriaxone, determination in a biological material, method of IR.

Цефтриаксон – бактерицидное лекарственное средство из группы цефалоспориновых антибиотиков III поколения, угнетающее синтез клеточной мембраны и подавляющее *in vitro* рост многих грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов [8-10].

Цефтриаксон – (6R,7R)-7-[[2Z]-(2-минотиазол-4-ил(метоксиимино)ацетил)амино]-3-[[2-метил-6-оксидо-5-оксо-2,5-дигидро-1,2,4-триазин-3-ил)сульфанил]метил]-8-оксо-5-тиа-1-азабицикло [4.2.0]окт-2-ен-2-карбоксилат 3,5 гидрат динатриевая соль – кристаллический порошок от белого до желтовато-оранжевого цвета, гигроскопичен, легко растворимый в воде, умеренно – в метаноле, очень слабо – в этаноле. pH 1% водного раствора около 6,7. Брутто-формула $C_{18}H_{18}N_8O_7S_3 \cdot 3\frac{1}{2} H_2O$. Молекулярная масса 661,61 [4]. Структурная формула изображена в соответствии с рис. 1.

Цефтриаксон, хорошо проникающий в ткани и жидкости организма, включая спинномозговую жидкость, применяется для лечения инфекций центральной нервной системы [1, 3]. Средний объем распределения у взрослых составляет 5,8-13,5 литра [1]. 33-67% цефтриаксона выделяется у больных с почечной недостаточностью как неиз-

менный препарат, но при почечной недостаточности не требуется корректировка дозы, когда она не превышает 2 г в день [1]. Остальное количество лекарственного средства, трансформируясь в печени и кишечнике, выделяется вместе с желчью в виде неактивных соединений [1, 6, 7].

LD₅₀ для цефтриаксона при пероральном введении мышам и крысам составляет больше 10000 мг/кг. При внутривенном введении крысам LD₅₀ для цефтриаксона составляет 1900 мг/кг.

Широкое использование данного антибиотика, наличие случаев смертельного исхода от аллергической реакции является определяющим моментом в необходимости проведения химико-токсикологических исследований цефтриаксона. Вопрос идентификации цефтриаксона в извлечениях из биологических жидкостей и тканей трупных органов в настоящее время остается актуальным и недостаточно изученным. При создании схем химико-токсикологического анализа существует необходимость разработки высокотехнологичных методик идентификации исследуемого соединения. Одним из селективных методов, применяющихся в практике химико-фармацевтического и судебно-химического анализа для идентификации биологически активных веществ в

субстанциях и биоматериале, является метод ИК-спектроскопии [2, 5].

Целью данного исследования явилась разработка схемы доказательства подлинности рабочего образца исследуемого лекарственного вещества в сравнении с его стандартным образцом, а также изучение особенности идентификации цефтриаксона, извлеченного из биологического материала, методом ИК-спектроскопии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектом исследования явился стандартный образец цефтриаксона динатриевой соли (Ceftriaxone Disodium, Reference Standard) фирмы Roche Diagnostics GmbH с содержанием основного вещества 90,9%.

Наряду со стандартным образцом исследованию подвергали рабочий образец исследуемого лекарственного средства, в качестве которого рассматривали порошок цефтриаксона для приготовления раствора для внутривенного и внутримышечного введения производства РУП «Белмедпрепараты» (соответствует нормативному документу ЛП 000937-181011). Перед измерениями несколько миллиграммов рабочего образца цефтриаксона растирают с безводным бромидом калия (использовали калий бромид 99,00% для спектроскопии фирмы «Panreac (ITW Reagents)» Испания). Смесь тщательно перетирают, прессуют в диск и измеряют пропускание в интервале частот $4000-400\text{ см}^{-1}$.

Исследования проводили на инфракрасном Фурье-спектрометре VARIAN, модель 670IR, изготовитель: VARIAN, Австралия, 2010 г.

В ИК-спектрах цефтриаксона определяли характерные полосы поглощения и устанавливали соответствие полос определенным типам колебаний атомов и групп атомов в молекуле.

В качестве биологических объектов, содержащих цефтриаксон, использовали модельные смеси анализата с тканью трупной печени, не имевшей признаков гнилостных изменений.

Для этого готовили смеси цефтриаксона динатриевой соли (размер частиц 5-50 мкм) и мелкоизмельченной (размер частиц 0,2-0,5 мм) труп-

ной печени без следов гнилостных изменений с содержанием 0,05 г основного вещества в 25 г биоматериала, которые выдерживали при 18-20 °С после приготовления в течение получаса. Проводили двукратное изолирование цефтриаксона из приготовленных модельных смесей системой ацетонитрил-вода (5:5 по объему) при соотношении изолирующего агента и биологической матрицы 2:1 (по массе). Продолжительность каждого настаивания составляла 45 минут. Первое и второе извлечения из каждой модельной смеси объединяли, пропускали через беззольный бумажный фильтр, предварительно смоченный смесью ацетонитрил-вода (5:5). 4 мл объединенного извлечения вносили в хроматографическую колонку размерами 150×10 мм, заполненную сорбентом Silasorb C8 и элюировали ацетоном. Элюат собирали фракциями по 2 мл каждая. Фракции с 4 по 8 объединяли и испаряли элюент в токе воздуха при комнатной температуре. Сухой остаток перемешивали с безводным бромидом калия и поступали далее по вышеописанной схеме.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЯ

Результаты изучения ИК-спектра цефтриаксона представлены на рисунках 2-4 и в таблице. Как свидетельствуют полученные данные, изучение особенностей поглощения электромагнитного излучения эталонного стандарта и рабочего образца цефтриаксона в интервале частот $4000-400\text{ см}^{-1}$ показывает присутствие в данной области спектра целой группы характеристических полос поглощения, обусловленных различными видами колебательных движений атомов и групп атомов в молекуле рассматриваемого соединения.

В частности, здесь обнаруживаются валентные колебания $\text{C}=\text{O}$ в интервале частот $1741,1-1649,5\text{ см}^{-1}$, колебания CO_2 ($2249,4\text{ см}^{-1}$), деформационные колебания $\text{N}-\text{H}$ ($1537,8-1500,4\text{ см}^{-1}$), а также колебания вторичной аминогруппы ($1285,8\text{ см}^{-1}$), валентные колебания связанной NH_2 в интервале частот $3439,4-3257,1\text{ см}^{-1}$, валентные колебания $\text{C}=\text{O}$ в β -кетозэфирах ($1608,2\text{ см}^{-1}$).

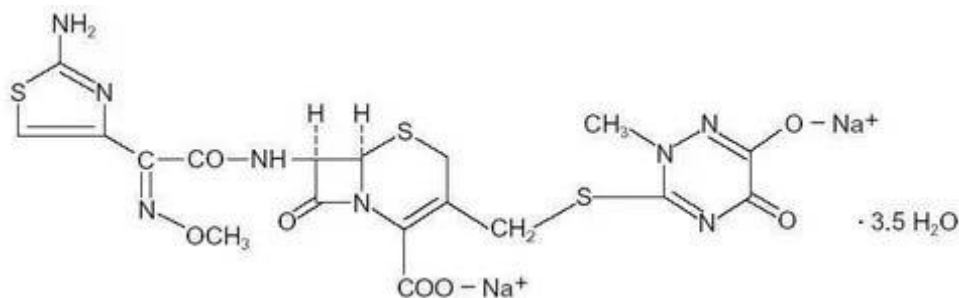


Рис. 1. Структурная формула цефтриаксона динатриевой соли.

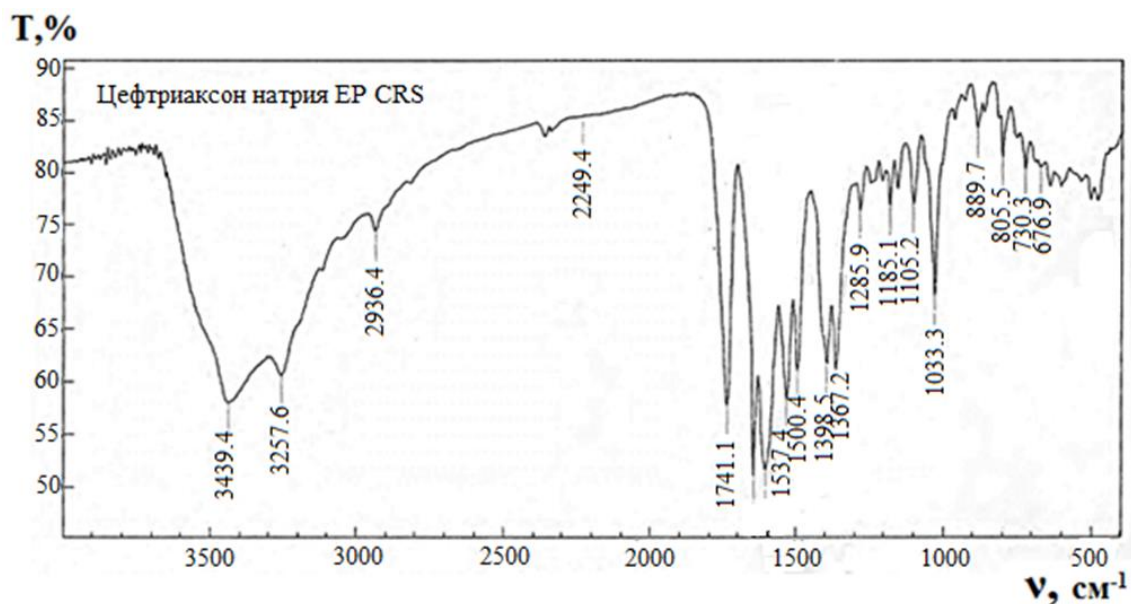


Рис. 2. ИК спектр стандартного образца цефтриаксона натрия ЕР CRS.

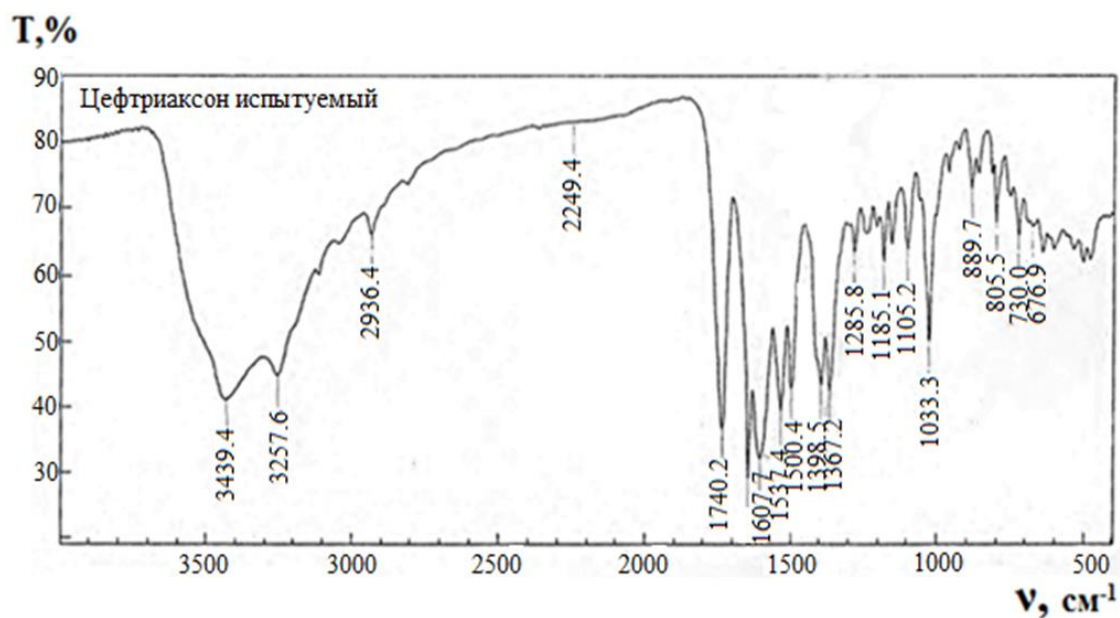


Рис. 3. ИК спектр рабочего образца цефтриаксона.

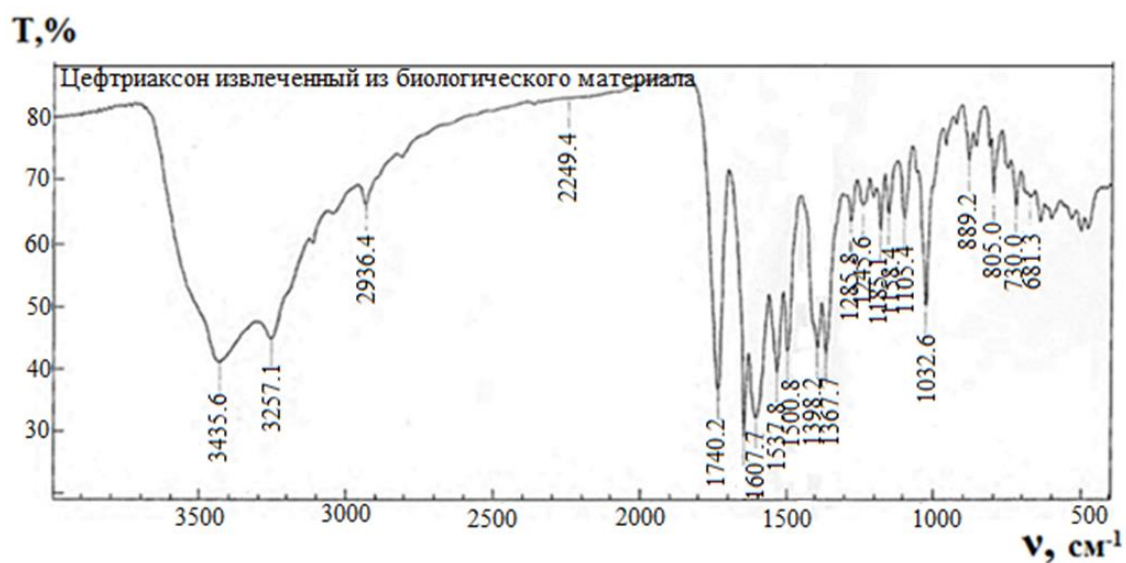


Рис. 4. ИК спектр цефтриаксона, извлеченного из биологического материала.

Таблица 1

Характеристика ИК-спектров цефтриаксона

Длина волны, см ⁻¹ стандартного образца	Длина волны, см ⁻¹ рабочего образца	Длина волны, см ⁻¹ рабочего образца, извлеченного из биоматериала	Характеристическая полоса
3439,4	3439,4	3435,6	Асимметрические валентные колебания связанной NH ₂
3257,6	3257,6	3257,1	
2936,4	2936,4	2936,4	Асимметрические валентные колебания CH ₂
2249,4	2249,4	2249,4	Колебания CO ₂
1741,1	1740,2	1740,2	Валентные колебания C=O
1649,6	1649,5	1649,5	
1608,2	1608,2	1607,7	Валентные колебания C=O в β-кетозах
1537,4	1537,4	1537,8	Деформационные колебания N–H
1500,4	1500,4	1500,8	
1398,5	1398,5	1398,2	Деформационные колебания O–H
1367,2	1367,2	1367,7	
1285,9	1285,8	1285,8	Колебания вторичной аминогруппы
1185,1	1185,1	1185,1	Валентные колебания –C–N–
1105,2	1105,2	1105,4	

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено совпадение ИК-спектров рабочего образца и эталонного стандарта по положению основных характеристических частот в их спектральных кривых, что свидетельствует о принципиальной возможности применения относительно недорогого рабочего стандарта и замены им дорогостоящего эталонного стандарта при проведении исследований биологических образцов на присутствие в них цефтриаксона динатриевой соли.

Также было установлено наличие совпадения положения основных полос поглощения в ИК-спектрах анализируемого вещества, выделенного из биологического материала, и рабочего образца цефтриаксона. Это свидетельствует в пользу достаточной эффективности примененной схемы очистки и целесообразности использования метода ИК-спектрофотометрии для идентификации рассматриваемого соединения в объектах биологического происхождения. Обнаруживаемое минимальное количество цефтриаксона в ткани свежей трупной печени составляет при определении в соответствии с предлагаемой методикой около 1 мг в 100 г биологического материала.

На основании проведенных исследований можно сделать следующие выводы:

- изучены особенности поглощения стандарт и рабочим образцом цефтриаксона ИК-излучения в области частот 4000–400 см⁻¹;
- установлена подлинность рабочего образца цефтриаксона;

- выявлена возможность применения метода колебательной спектрофотометрии для идентификации рассматриваемого соединения в извлечениях из биологического материала.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Вакуленко С.Б. Механизм действия β-лактамов антибиотиков и устойчивость к ним микроорганизмов // Антибиотики и медицинская биотехнология. – 1987. – № 4. – С. 294–302. [Vakulenko S.B. The mechanism of action of β-lactam antibiotics and the resistance of microorganisms to them. Antibiotiki i meditsinskaya biotekhnologiya. 1987; (4): 294–302 (in Russ.).]
2. Квачахия Л.Л., Шорманов В.К. Идентификация нифедипина в биологических жидкостях // Фармация. – 2013. – Т. 62, № 8. – С. 16–19. [Kvachakhia L.L., Shormanov V.K. Identification of nifedipine in biological fluids. Farmatsiya. 2013; 62 (8): 16–19 (in Russ.).]
3. Провоторов В.М., Иванова Г.А. Роль и место эритроцитов в системе направленного транспорта различных фармакологических средств // Клиническая медицина. – 2009. – № 9. – С. 4–8. [Provotorov V.M., Ivanova G.A. The role and place of erythrocytes in the directional transport system of various pharmacological agents. Klinicheskaya meditsina. 2009; (9): 4–8. (in Russ.).]
4. Цефтриаксон. Порошок для приготовления раствора для внутривенного и внутримышечного введения 0,5 г и 1,0 г // РУП «Белмедпрепараты». – 2011. – ЛП 000937-181011. – С. 1–18. [Ceftriaxone. Powder for preparation of solution for intravenous and intramuscular injection of 0.5 g and 1.0 g // RUE

- "Belmedpreparaty". 2011. LP 000937-181011: 1-18 (in Russ.)).
5. Шорманов В.К., Цацуа Е.П., Асташкина А.П. Определение 2,4-ди-трет-бутилгидроксибензола при химико-токсикологическом исследовании биологического материала // Судебно-медицинская экспертиза. – 2017. – Т. 60, № 4. – 34-39. – DOI: 10.17116/sudmed201760434-39. [Shormanov V.K., Tsatsua E.P., Astashkina A.P. The determination of 2,4-di-tret-butyl hydroxybenzene for the purpose of the chemical toxicological study of the biological materials. Sudebno-meditsinskaya ekspertiza. 2017; 60 (4): 34-39 (in Russ.)].
 6. Farghaly O.A., Abdel Hameed R.S., Abu-Nawwas A.-A.H. Analytical Application Using Modern Electrochemical Techniques // Int. J. Electrochem. Sci. – 2014. – Vol. 9. – P. 3287-3318.
 7. Farghaly O.A., Hazzazi O.A., Rabie E.M., Khodari M. Determination of Some Cephalosporins by Adsorptive Stripping Voltammetry // Int. J. Electrochem. Sci. – 2008. – Vol. 3. – P. 1055-1064.
 8. Khasanov V.V., Sokolovich E.G., Dychko K.A. Determination of ceftriaxone in blood and tissues using ion-exchange chromatography // Pharmaceutical Chemistry Journal. – 2006. – Vol. 40, N 2. – P. 109-111. – DOI: 10.1007/s11094-006-0070-2.
 9. Malgundkar S.S., Mulla S. Validated Hptlc Method for Simultaneous Determination of Ceftriaxone Sodium and Tazobactam Sodium in Combined Dosage Form // Journal of Pharmacy and Biological Sciences (IOSR-JPBS). – 2014. – Vol. 9, N 2. – P. 60-65. – DOI: 10.9790/3008-09256065.
 10. Rind F.M.A., Laghari M.G.H., Memon A.H., Mughal U.R., Almani F., Memon N., Khuhawar M.Y., Maheshwari M.L. Spectrophotometric Determination of Ceftriaxone Using 4-Dimethylaminobenzaldehyde // Pak. J. Anal. Environ. Chem. – 2008. – Vol. 9, N 1. – P. 43-48.

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ ЖУРНАЛА "КУРСКИЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ВЕСТНИК "ЧЕЛОВЕК И ЕГО ЗДОРОВЬЕ"

Настоящие правила основаны на «Единых требованиях к рукописям, представляемым в биомедицинские журналы» Международного комитета редакторов медицинских журналов (www.icmje.org).

Все публикации в журнале являются бесплатными.

1. В журнале «Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье» печатаются ранее не опубликованные работы в области экспериментальной биологии и медицины, клинической медицины, общественного здоровья и фармации. Публикации могут быть представлены в виде оригинальных исследований, научно-методологических статей, обзоров литературы, дискуссионных статей, лекций, кратких сообщений, отчетов о конгрессах, съездах, симпозиумах и конференциях. Направляемые оригинальные работы должны давать полное представление о методах исследования, собранном материале и его статистической обработке (включая указание конкретных статистических критериев).

Не принимаются к печати статьи:

- выполненные с нарушением Правил и норм гуманного обращения с объектами исследования;
- напечатанные ранее в других изданиях или отправленные для публикации.

Ставя подпись под статьей, автор тем самым:

- передает права на издание и переводы своей работы редакции (включая возможность направления в научно-информационные базы и пр.);
- гарантирует оригинальность статьи и соблюдение международных и российских правовых норм при экспериментальных, доклинических и клинических исследованиях;
- несет полную ответственность за целостность данных и точность их анализа;
- дает согласие для передачи статьи третьим лицам на внешнее рецензирование и возможность публикации любой информации, полученной редакцией (в частности, адресов электронной почты);
- дает согласие на обработку представленных персональных данных;
- полностью принимает настоящие правила.

Организация, направляющая статью, наряду с авторами несет за нее ответственность.

Авторы, если это необходимо, должны обозначить возможные конфликты интересов, связанные с данной работой, а также потенциальные причины для их возникновения. Кроме того, в ряде случаев возможно указание лиц, кому, по мнению авторов, не стоит предлагать рецензировать рукопись с объяснением причин.

Также следует указывать все представления рукописи и предшествующие работы (если таковые были), которые могут быть расценены как дублирующая публикация той же или очень похожей работы.

2. В редакцию представляются:

- официальное направление от учреждения, в котором выполнена работа (с подписью и печатью руко-

водителя) – 1 экземпляр (кроме работ, выполненных только в КГМУ);

- при необходимости – экспертное заключение (с подписью и печатью) – 1 экземпляр;

- статья (+ таблицы, рисунки, диаграммы и пр.) – 2 экземпляра, с подписями всех авторов на одном из них и визой руководителя учреждения;

- рефераты на русском и английском языках – 2 экземпляра;

- сведения об авторах (фамилия, имя, отчество полностью, ученая степень и должность, контактные номера телефонов (мобильные и рабочие), адреса электронной почты, место работы, домашний адрес). Отдельно указывается автор, ответственный за переписку и автор (поручитель), ответственный за целостность работы как таковой (по умолчанию, это одно лицо, если не указано иное);

- согласие на обработку персональных данных по форме, представленной на сайте журнала;

- диск (CD-R, CD-RW, DVD-R, DVD-RW) или USB-флеш-накопитель, содержащие в отдельных файлах электронные версии: статьи, таблиц, рисунков, диаграмм, рефератов, сведений об авторах в формате *.doc или *.rtf.

Электронный и печатный варианты должны быть полностью идентичны по содержанию и оформлению. Для удобства рецензирования и редактирования страницы рукописи нумеруются, начиная с первой.

3. Материалы представляются в формате *.doc или *.rtf с использованием шрифта Times News Roman. Страница формата A4, расположение листа – книжное, размер шрифта – 14, межстрочный интервал – полуторный (не более 30 строк на странице), поля – 2 см, отступ в абзаце – 1,25 см, без переносов.

Не допускается использовать:

- разбивку на страницы;
- пронумерованные списки;
- альбомное расположение страниц;
- макросы и стили;
- надписи в колонтитулах;
- более одного пробела подряд (вместо них необходимо использовать автоматическое выравнивание, табуляцию, абзацные отступы);

4. Рефераты как на русском, так и на английском языках обязательно должны иметь следующую структуру (от начала к окончанию):

- УДК (указывается только в реферате на русском);
- название статьи (НЕ ДОПУСКАЕТСЯ использование только ЗАГЛАВНЫХ букв);
- фамилия, а затем инициалы автора (ов);
- полное название учреждений и структурных подразделений, в которых выполнена работа, город, страна.

Не следует указывать универсальные префиксы, говорящие о форме собственности, организационно-

правовых и иных неспецифических особенностях данного заведения (например, ГБОУ, ВПО, ФГБУ и т.д.).

Вначале в именительном падеже указывается название подразделения, а затем в родительном падеже – учреждения (например, Кафедра патофизиологии Курского государственного медицинского университета, Курск).

При наличии нескольких – в верхнем регистре арабскими цифрами указывается принадлежность авторов соответствующим организациям/подразделениям:

- контактный e-mail автора, осуществляющего переписку (указывается только в реферате на русском);
- аннотация;
- ключевые слова или словосочетания через запятую (до 7).

Аннотации должны быть объемом от 600 до 1000 символов, в общих чертах соответствовать структуре статьи и представлять собой 1 абзац логически цельного текста (без выделения подзаголовков). Необходимо учитывать, что достаточно часто аннотация является единственным источником информации о статье в российских и международных научно-информационных базах и служит основой для цитирования работы. Важно использовать официально принятые английские варианты наименований учреждений, правильно транслитерировать фамилии и инициалы авторов.

5. Статьи должны иметь следующую структуру:

- название (ЗАГЛАВНЫМИ буквами с выравниванием по центру) – должно точно отражать содержание статьи;
- фамилия, инициалы автора (ов);
- название учреждения и структурного подразделения, в котором выполнена работа; после чего размещается пустая строка
- далее идет собственно текст работы. Статья должна содержать следующие разделы: введение с четкой формулировкой цели исследования, материалы и методы исследования, полученные результаты и их обсуждение с заключением или выводами, список литературы.

В статье желательно наличие только 3 заголовков: «МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ», «РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ», «ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES». Не стоит дополнительно вводить другие заголовки и подзаголовки (напр., «Введение», «Актуальность» и др.).

В разделе «Материалы и методы исследования» должна содержаться информация в таком объеме и с такой детализацией, чтобы обеспечить возможность повторяемости полученных результатов для любых сторонних исследователей.

По желанию авторов в текст статьи может быть включен раздел «БЛАГОДАРНОСТИ», для чего необходимо заручиться письменным согласием (в редакции не предоставляется) перечисляемых лиц.

Объем статей с результатами оригинальных исследований не должен превышать (включая таблицы, список литературы, подписи к рисункам и резюме) 15 страниц;

- обзоров, лекций и проблемных статей – до 20 страниц;

Рукописи большого размера, предоставленные без согласования с редакцией, не рассматриваются.

6. Микрофотографии и рисунки предоставляются черно-белыми в форматах jpg или tiff с разрешением не менее 300 dpi. На обороте только второго экземпляра рисунков карандашом указываются номер рисунка, фамилия автора и название статьи, словом обозначается верх рисунка. После каждого изображения должна быть общая подпись и объяснения всех кривых, букв, цифр и прочих сокращений. В подписях к микрофотографиям необходимо указывать увеличение и метод окраски или импрегнации. Иллюстрации в черно-белом варианте должны быть ясными и разборчивыми, а обозначения на них – контрастными и четко идентифицируемыми.

Число рисунков к статьям не должно превышать 5. Данные рисунков не должны повторять материалы таблиц. По просьбе редакции к каждому графику прилагаются цифры для его построения.

Не допускается использовать:

- автофигуры для формирования элементов изображения;
- цветные варианты изображений.

7. Таблицы (не более 5) должны содержать обобщенные и статистически обработанные материалы исследования, иметь номер и заголовок. В таблицах все графы должны иметь заголовки, цифры и единицы измерения соответствовать тексту, сокращения слов не допускаются. Повторять одни и те же данные в тексте, на рисунках и в таблицах не следует.

8. В статье сокращение слов допускается только с первоначальным указанием полного названия или в соответствии с перечнем, принятым Комитетом стандартов. Единицы измерения даются в соответствии с Международной системой единиц СИ. Фамилии иностранных авторов приводятся в оригинальной транскрипции. Химические и математические формулы должны быть тщательно выверены. Греческие буквы подчеркиваются красным цветом, латинские – синим.

9. Список литературы приводится в виде полного библиографического описания работ в алфавитном порядке (сначала русского, а затем латинского алфавита).

При оформлении ссылок курсивом указываются ВСЕ АВТОРЫ используемой работы! Обязательным является указание DOI при его наличии у статьи.

Примеры оформления списка литературы

Для журнальных статей:

Калюжин О.В., Гитлин И.Г., Калина Н.Г., Мулик Е.Л., Народицкий Б.С., Логунов Д.Ю., Тахватулин А.И. Влияние композиции клеточных стенок *Bifidobacterium bifidum* и *Saccharomyces cerevisiae* на выживаемость мышей в условиях экспериментального сепсиса // Курск. науч.-практ. вестн. «Человек и его здоровье». – 2012. – № 3. – С. 10-14.

Реутов В.П., Сорокина Е.Г., Швалева В.Н., Космачевская О.В., Крушинский А.Л., Кузнецов В.С., Свинов М.М., Косицын Н.С. Возможная роль диоксида азота, образующегося в местах бифуркации сосудов, в процессах их повреждения при геморрагических инсультах и образовании атеросклеротических бляшек // Успехи физиол. наук. – 2012. – Т. 43, № 4. – С. 73-93.

Для книг:

Березов Т.Т., Коровин Б.Ф. Биологическая химия : учебник. – 3-е изд., стереотип. – М. : Медицина, 2012. – 704 с.

Акуленко Л.В., Угаров И.В. Медицинская генетика / под ред. О.О. Янушевич, С.Д. Арутюнова – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2011. – 208 с.

Патофизиология: учебник: в 2 т. / под ред. В.В. Новицкого, Е.Д. Гольдберга, О.И. Уразовой. – 4-е изд., перераб. и доп. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2009. – Т. 1. – 848 с.: ил.

Главы в книге:

Еникеев Д.А. Патофизиология экстремальных состояний // Патологическая физиология / под ред. А.И. Воложина, Г.В. Порядина – М. : МЕДпресс, 1998. – Т. 1. – С. 447-473.

Электронные источники:

Катетеризация сердца через артерию предплечья [Электронный ресурс] // Российское агентство медико-социальной информации АМИ. – Режим доступа: <http://ria-ami.ru/news/86706>, свободный (07.04.2013).

Швейцарцы предложили диагностировать болезни по дыханию [Электронный ресурс] // Медпортал.ру. – Режим доступа: <http://medportal.ru/mednovosti/news/2013/04/05/breathprints/>, свободный (02.04.2013).

Патенты:

Способ изготовления гибких трубок : заявка 54-161681 Япония, МКИ В 29 D 23/18 / Йошиаки Инаба. – № 53-69874 ; заявлено 12.06.78 ; опубл. 21.12.79, Бюл. № 34. – 4 с.

Multi-layer polyolefin shrink film : пат. 4194039 США, МКИ В 32 В 7/2, В 32 В 27/08 / W.B. Muelier. – № 896963 ; заявлено 17.04.78 ; опубл. 18.03.80, Бюл. № 9. – 3 с.

Число ссылок не должно превышать 30, для обзорных статей – 100. В тексте в квадратных скобках дается ссылка на порядковый номер работы в списке литературы. НЕ ДОПУСКАЮТСЯ ссылки на материалы конференций, диссертации, авторефераты диссертаций, неопубликованные работы.

Ответственность за правильность и точность библиографических данных возлагается на автора.

10. Присланные материалы обязательно проходят процедуру внешнего рецензирования, являющегося

конфиденциальным. При несогласии с мнением рецензента, авторы вправе изложить мотивированный ответ на рецензию.

Все поступающие рукописи в обязательном порядке проходят экспертизу на соблюдение этических норм при выполнении научных исследований и корректность заимствований.

Если в процессе подготовки к печати у редакторов возникают вопросы, в статье обнаруживаются смысловые или технические дефекты, она может быть возвращена автору для исправления. Редакция также оставляет за собой право корректировать и сокращать принятые материалы, если это необходимо. Кроме того, если это потребует, автор обязуется предоставить первичные данные. В случае возврата статьи на переработку ее предварительное рецензирование не означает, что статья принята к печати. После получения нового текста вместе с первоначальным экземпляром и ответом на все замечания рецензента работа вновь рассматривается редколлегией. После внесения исправлений автор направляет в редакцию полный вариант статьи, включая рисунки, таблицы, диаграммы и пр., а не только части, в которых были внесены изменения. Датой поступления статьи считается день получения редакцией окончательного текста.

Возможность любых несоответствий с правилами для авторов должна согласовываться с редакцией.

При отсутствии реакции на замечания редакции со стороны авторов более 6 месяцев статья автоматически считается снятой с рассмотрения. Статьи, не соответствующие обозначенным выше правилам, могут быть отклонены редакцией без разъяснения причин.

Редакция обеспечивает сохранность представленных персональных данных.

Примерный срок от момента подачи статьи до ее опубликования может составлять до 8 месяцев. Периодичность издания журнала – 4 раза в год.

Адрес редакции: 305041, Курск, ул. К. Маркса, 3, редакция журнала "Курский научно-практический вестник "Человек и его здоровье".

Тел. (4712) 58-81-48. Факс (4712) 58-81-37.

E-mail: kursk-vestnik@mail.ru

Контактная информация: кафедра патофизиологии, к. 336, профессор Игорь Иванович Бобынцев, Андрей Евгеньевич Белых.

Издательство Курского государственного медицинского университета
305041, г. Курск, ул. К. Маркса, 3.

Лицензия ЛР № 020862 от 30.04.99 г.
Формат 60x84¹/₈. Усл. печ. л. 18,0.
Тираж 1000 экз.

Подписано в печать 20.03.2018.
Отпечатано в типографии КГМУ.
305041, г. Курск, ул. К. Маркса, 3.

Заказ № .