

ПОЛУЧЕНИЕ РЕКОМБИНАНТНЫХ ХИМЕРНЫХ ПОЛИПЕПТИДОВ НА ОСНОВЕ БЕЛКОВ VmpA, p83 И OspC СИБИРСКИХ ИЗОЛЯТОВ *BORRELIA GARINII* И *BORRELIA AFZELII* И ИССЛЕДОВАНИЕ ИХ ИММУНОХИМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ

Виталий Семенович КАРАВАЕВ, Александр Владимирович РЯБЧЕНКО,
Анатолий Борисович БЕКЛЕМИШЕВ

НИИ биохимии
630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2

Области генов, кодирующие зрелые белки VmpA, p83 и OspC, были амплифицированы методом ПЦР, встроены в экспрессирующий вектор pETm и клонированы в клетках *E. coli*. Получены штаммы *E. coli* – продуценты химерного полипептида VmpA-p83, включающие эпитопы зрелых белков VmpA и p83 изолятов *B. garinii*, а также химерный полипептид OspCg-OspCa, с эпитопами зрелого белка OspC изолята *B. garinii* и фрагмента белка OspC изолята *B. afzelii*. Продемонстрирована способность химерных полипептидов специфически связывать антитела сывороток больных Лайм-боррелиозом. Результаты свидетельствуют о перспективности использования полученных химер в серодиагностике иксодового клещевого боррелиоза.

Ключевые слова: иксодовый клещевой боррелиоз, рекомбинантный химерный полипептид, *B. burgdorferi* s.l., иммуноферментный анализ, серодиагностика.

По уровню заболеваемости и тяжести клинического течения иксодовый клещевой боррелиоз (ИКБ) представляет собой одну из наиболее актуальных проблем современной инфекционной патологии. По данным официальной статистики, ежегодно количество заболевших ИКБ в Российской Федерации составляет от 7 до 9 тысяч. Однако значительная часть случаев заболевания ИКБ остается невыявленной, так как достоверно диагностируются лишь эритематозные формы ИКБ. Установление клинического диагноза представляет определенные трудности из-за многообразия клинических проявлений и органических поражений при ИКБ. Серодиагностика ИКБ существенно осложняется высокой антигенной вариабельностью возбудителя и значительным межвидовым и внутривидовым разнообразием генов, кодирующих иммунодоминантные белки *B. burgdorferi* s. l. на территории нашей страны. В современных диагностических тест-системах в качестве антигена преимущественно используют рекомбинантные белки или их фрагменты из патогенных видов боррелий, эпидемически значимых для конкретной территории [2, 7, 12].

Применяемые в широкой практике методы лабораторной диагностики ИКБ остаются недостаточно эффективными, что обуславливает необходимость постоянного поиска новых путей повышения чувствительности и специфичности существующих методов исследований, что крайне важно как для своевременной терапии, так и для оценки эпидемиологического состояния и прогноза сезонной заболеваемости ИКБ. Согласно литературным данным, одним из новых подходов по совершенствованию серодиагностики ИКБ является использование в лабораторных тестах в качестве антигенов химерных полипептидов, содержащих эпитопы нескольких гомологичных или гетерологичных иммунодоминантных белков *B. burgdorferi* s. l. [9, 12]. В то же время информация о рекомбинантных химерных полипептидах, содержащих эпитопы иммунодоминантных белков изолятов *B. burgdorferi* s. l., циркулирующих на территории России, отражена лишь в единичных работах [3, 5, 8].

Целью настоящей работы является получение химерных полипептидов VmpA-p83 и OspCg-OspCa, содержащих эпитопы зрелых белков

Караваяев В.С. – к.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории геной инженерии,
e-mail: v_karavaev1@mail.ru

Рябченко А.В. – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории медицинской биотехнологии,
e-mail: borrelia.ru

Беклемишев А.Б. – д.б.н., зав. лабораторией геной инженерии, e-mail: beklem@acagem.ru

BmpA, p83 и OspC западносибирских изолятов спирохет *B. garinii* и *B. afzelii*, и исследование их иммунохимических свойств для возможного использования в диагностике ИКБ.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Получение генов химерных полипептидов. Кодирующие области генов BmpA, p83 и OspC получали в препаративных количествах с помощью амплификации методом ПЦР соответствующих фрагментов геномной ДНК спирохет *B. garinii* 20047^т и *B. afzelii*. Источником геномной ДНК служили западносибирские изоляты *B. garinii* 20047^т и *B. afzelii*, выделенные из клещей, отловленных в лесопарковой зоне г. Новосибирска. Амплификацию генов проводили с Pfu-ДНК-полимеразой («Сибэнзим», Россия) согласно прилагаемой инструкции. Праймеры для амплификации кодирующих областей генов белков BmpA, p83 и OspC были подобраны путем сравнения известных нуклеотидных последовательностей, опубликованных в базах данных GenBank. В праймеры дополнительно на 5'-концах были введены сайты узнавания эндонуклеазами рестрикции (сайты подчеркнуты), используемые для клонирования продуктов ПЦР.

Праймеры для амплификации гена *bmpA* *B. garinii* 20047^т:

прямой (смысловый) **5'-GATCGAGGTACC ATTTTTTATCTTGTAAGT-3'**;

обратный (антисмысловый) **5'-CTACCT CT CGAGTTCTTTAAGGAATTTTCA-3'**.

Праймеры для амплификации гена *p83* *B. garinii* 20047^т:

прямой (смысловый) **5'-TGCCCTCGAGCC GGAAGATCAAAAATTATC-3'**;

обратный (антисмысловый) **5'-TATCCG CT CGAGTTCAACTTTCTTTAAAGT-3'**.

Праймеры для амплификации гена *ospC* *B. garinii*:

прямой (смысловый) **5'-CGGAATTC TGGG GATACTGCATCTACTAATC-3'**.

обратный (антисмысловый) **5'-GGAATTC TGGGGATACTGCATCTACTAAT-3'**;

Праймеры для амплификации гена *ospC* *B. afzelii*:

прямой (смысловый) **5'-CTTGGTACCGGGG ATTCTGCATCTACTAATCC-3'**;

обратный (антисмысловый) **5'-GAGCTCGAG AGGTTTTTTGGACTTTCTGC-3'**.

Клонирование генов в составе экспрессирующего вектора. Для конструирования химерного полипептида OspCg-OspCa использовали ранее полученную плазмидную ДНК на основе экспрессирующего вектора pETm, pETm-OspCg, со-

державшую ген *ospC* *B. garinii* 20047^т [6]. Для этого в плазмиду pETm-OspCg по сайтам рестрикции KpnI и XhoI был встроен ген *ospC* *B. afzelii*. Для конструирования полипептида BmpA-p83 использовали исходный вектор pETm, содержащий под регуляторной областью промотора фага T7 полилинкер, несущий набор сайтов узнавания эндонуклеазами рестрикции, и участок, кодирующий восемь аминокислотных остатков гистидина, за которым следовал стоп-кодон трансляции белка [6]. На первом этапе в состав вектора pETm по сайтам рестрикции KpnI и XhoI был встроен ген *bmpA* *B. garinii* 20047^т. На втором этапе в вектор pETm, содержащий ген *bmpA*, по сайту рестрикции XhoI был встроен фрагмент гена *p83* *B. garinii* 20047^т.

Ампликоны генов и плазмидные ДНК гидролизировали соответствующими эндонуклеазами рестрикции («Сибэнзим») согласно инструкциям фирмы-производителя. Фрагменты ДНК при необходимости разделяли в агарозном геле с последующей экстракцией ДНК набором «GeneJET Gel Extraction Kit» («ThermoFisher Scientific», США). Очищенные фрагменты ДНК лигировали в эквимольном соотношении 5:1 (ген : плаزمиды) с помощью T4 ДНК-лигазы («Сибэнзим»). Лигазной смесью методом электропорации трансформировали клетки *E. coli* штамма *recA*-«NovaXGF» («Novagen», США). Клетки рассевали на твердую селективную среду LB, содержащую канамицин 30 мг/мл. Полученные клоны анализировали на наличие встроенных генов методом ПЦР с помощью соответствующих праймеров. По размеру продуктов ПЦР судили о наличии встроенного фрагмента ДНК в структуру вектора. Плазмидную ДНК выделяли из клеток набором «Plasmid Miniprep» («Евроген», Россия).

Препараты белков и лизаты клеток анализировали в 12%-м полиакриламидном геле в денатурирующих условиях по Леммли. Структуру клонированных генов *bmpA*, *p83*, *ospCg* и *ospCa* в составе плазмид подтверждали секвенированием соответствующих участков плазмид. Секвенирование осуществлял Центр коллективного пользования СО РАН «Секвенирование ДНК» (Новосибирск).

Наработка и очистка химерных полипептидов. Экспрессию генов химерных полипептидов BmpA-p83 и OspCg-OspCa, клонированных в составе вектора pETm, осуществляли в клетках *E. coli* штамм BL21 (DE3) как описано ранее [5]. Наличие экспрессии генов химерных полипептидов BmpA-p83 и OspCg-OspCa оценивали по присутствию целевого белка с рассчитанной молекулярной массой с помощью электрофореза клеточных лизатов штамма-производителя. Вы-

деление химерных полипептидов VmpA-p83 и OspCg-OspCa осуществляли с помощью одностадийной аффинной хроматографии лизата клеток на колонке с Ni-NTA-сефарозой CL-6B. Концентрацию белков измеряли спектрофотометрически в ЦКП «Спектрометрические измерения» на базе НИИ биохимии, г. Новосибирск (спектрофотометр Evolution 300, «ThermoFisher Scientific») по методу Лоури, используя для построения калибровочной кривой бычий сывороточный альбумин и IgG собаки. Химерные полипептиды VmpA-p83 и OspCg-OspCa хранили в буферном растворе, содержащем 10 мМ Трис-HCl, pH 7,5, 300 мМ NaCl, 20 мМ 2-меркапто-этанол и 0,05 % NaN₃ при -20 °С.

Анализ иммунохимических свойств химерных полипептидов. Для изучения антигенной активности химерных полипептидов VmpA-p83 и OspCg-OspCa методом ИФА использовали панель сывороток крови больных ИКБ ($n = 36$), полученных из инфекционной клинической больницы № 1 и областного диагностического центра г. Новосибирска. Диагноз у больных ИКБ установлен на основе анамнеза (укус клеща), наличия мигрирующей эритемы и данных клинического обследования. Забор сывороток проводили в период с 3-й по 8-ю неделю после начала заболевания. При исследовании с помощью коммерческих иммуноферментных тест-систем «ЛаймБест-IgM» и «ЛаймБест-IgG» (ЗАО «Вектор-Бест», г. Новосибирск) все сыворотки больных ИКБ в IgM ИФА и/или в IgG ИФА были положительными. При комплексном исследовании в сыворотках не обнаружено специфических IgM- и IgG-антител к спирохетам *Treponema pallidum* и вирусу клещевого энцефалита. В качестве отрицательного контроля использовали сыворотки здоровых доноров ($n = 30$), больных сифилисом ($n = 20$) и больных ревматоидным артритом ($n = 12$). Сыворотки до исследования хранили при температуре -70 °С.

Постановку IgM ИФА и IgG ИФА осуществляли в оптимальных режимах для каждого из антигенов по описанной ранее методике [1]. Для определения специфического комплекса «антиген-антитело» использовали пероксидазные конъюгаты на основе мышинных моноклональных антител против IgM и IgG человека. Рабочие разведения этих реагентов составили: для анти-IgG антител – 1:4000, для анти-IgM антител – 1:3000. Для подсчета критической оптической плотности ($ОП_{крит}$) использовали 30 отрицательных образцов сывороток здоровых доноров. Исходя из $ОП_{крит}$ с каждым из антигенов производился анализ результатов тестирования исследуемых сывороток. Образцы считали положительными, если

результат превышал пороговое значение $ОП_{крит}$ в двух из трех независимых экспериментах.

Статистический анализ. Статистическую обработку полученных результатов проводили, вычисляя среднее арифметическое значение (M), среднеквадратичное отклонение (σ), и представляли в виде $M \pm \sigma$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно литературным данным, белки OspC, VmpA и p83 изолятов спирохет *B. burgdorferi* s. l. – одни из основных иммунодоминантных белков, используемых в качестве антигенов для серодиагностики ИКБ [4, 10, 11, 12]. Мы предположили, что для диагностики ранних (локализованных) стадий заболевания оптимальным является объединение белков OspC из двух геновидов боррелий, *B. garinii* и *B. afzelii*, циркулирующих в популяции клещей Западной Сибири. В то же время для диагностики поздних (хронических) стадий ИКБ целесообразно объединение белков VmpA и p83.

Для выполнения поставленной задачи нами были сконструированы плазмиды, содержащие рекомбинантные ДНК VmpA-p83 размером 1773 пары нуклеотидов (п. н.) и OspCg-OspCa размером 1170 п. н. Сконструированные плазмиды были названы соответственно pETm-VmpA-p83 и pETm-OspCg-OspCa. Плазмида pETm-VmpA-p83 в клетках *E. coli* штамм BL21 (DE3) обеспечивала синтез клетками химерного полипептида VmpA-p83, содержащего с N-конца молекулы последовательность зрелого белка VmpA (324 аминокислотных остатка (а. о.), 35,3 кДа), а с C-конца – последовательность C-концевого фрагмента белка p83 (248 а. о., 28,17 кДа). Оба белка являлись специфичными для сибирского изолята спирохет *B. garinii* подгруппы 20047^T. Плазмида pETm-OspCg-OspCa обеспечивала синтез клетками химерного полипептида OspCg-OspCa, содержащего с N-конца молекулы последовательность зрелого OspC *B. garinii* подгруппы 20047^T (188 а. о., 19,70 кДа), а с C-конца – последовательность зрелого OspC *B. afzelii* (186 а. о., 19,19 кДа). Согласно расчетам продуктами экспрессии рекомбинантных химерных ДНК VmpA-p83 и OspCg-OspCa должны были быть соответственно химерные полипептиды VmpA-p83 размером 570 а. о. с молекулярной массой 65,89 кДа и химерный полипептид OspCg-OspCa размером 390 а. о. с молекулярной массой 40,83 кДа.

При индукции клеток, содержащих плазмиды pETm-VmpA-p83 и pETm-OspCg-OspCa, появляются банды с молекулярной массой ~40 и ~65 кДа (рисунок, дорожки 2 и 5), что совпадает с рассчитанными молекулярными массами про-

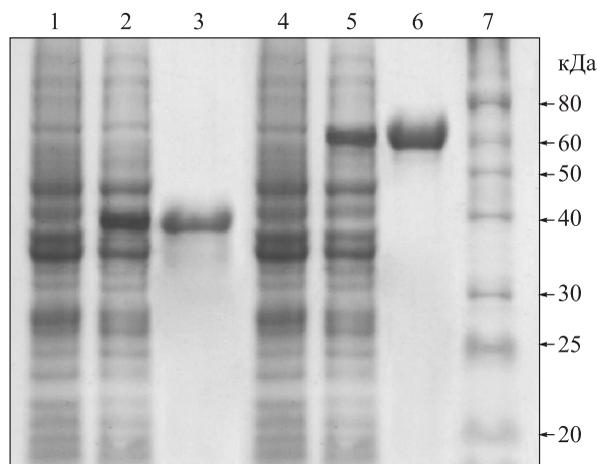


Рис. Фрагмент электрофореграммы клеточных лизатов и белков в 12%-м полиакриламидном геле. Дорожки: 1, 4 – лизаты клеток-продуцентов полипептидов *OspCg-OspCa* и *BmpA-p83*, инкубированных без добавления изопропил- β -D-1-тиоугалактопиранозида (ИПТГ); 2 – лизат клеток-продуцентов полипептида *OspCg-OspCa*, инкубированных с ИПТГ; 3 – фракция очищенного полипептида *OspCg-OspCa*; 5 – лизат клеток-продуцентов полипептида *BmpA-p83*, инкубированных с ИПТГ; 6 – фракция очищенного полипептида *BmpA-p83*; 7 – белковые маркеры («Сибэнзим», Россия).

дуктов экспрессии соответствующих рекомбинантных ДНК *BmpA-p83* и *OspCg-OspCa*. Анализ электрофоретической подвижности выделенных из клеток и очищенных химерных полипептидов *BmpA-p83* и *OspCg-OspCa* также показал соответствие молекулярному весу, рассчитанному теоретически (см. рисунок, дорожки 3 и 6). Таким образом, полученные плазмиды обеспечивали синтез химерных полипептидов *BmpA-p83* и *OspCg-OspCa*, содержащих аминокислотные последовательности зрелых белков *BmpA*, *p83* и *OspC*. Выход химерных полипептидов *BmpA-p83* и *OspCg-OspCa* составлял 25-40 мг/л культуры

клеток, чистота химерных полипептидов по данным электрофореза достигала не менее 90%.

Получив аффинно-очищенные препараты рекомбинантных химерных полипептидов *BmpA-p83* и *OspCg-OspCa*, мы провели сравнительную оценку их иммунохимических свойств методом ИФА на сыворотках больных ИКБ. Химерные полипептиды *BmpA-p83* и *OspCg-OspCa* были использованы в качестве антигена в ИФА в концентрации 2–4 мкг/мл, достаточной для эффективной сорбции на полистироле. На первом этапе работы при исследовании сывороток здоровых доноров на наличие специфических IgM- и IgG-антител к антигенам *BmpA-p83* и *OspCg-OspCa* были предварительно определены ОП_{крит}. Результаты исследований по обнаружению в сыворотках больных ИКБ специфических IgM и IgG антител к антигенам *BmpA-p83* и *OspCg-OspCa* представлены в табл. 1. При исследовании 36 образцов сывороток больных ИКБ на наличие специфических IgM и IgG антител к антигенам *BmpA-p83* и *OspCg-OspCa* положительные результаты получены с одним или двумя антигенами. По результатам исследований сывороток больных ИКБ наивысшая чувствительность была обнаружена в IgM ИФА с антигеном *OspCg-OspCa*, в то время как при выявлении специфических IgG-антител чувствительность IgG ИФА с антигеном *BmpA-p83* была несколько выше, чем с антигеном *OspCg-OspCa* (см. табл. 1). По результатам исследований отмечено, что специфические антитела к антигенам *BmpA-p83* и *OspCg-OspCa* определялись в большинстве сывороток больных ИКБ. Однако даже использование одного из химерных антигенов *BmpA-p83* или *OspCg-OspCa* не способно обнаружить все положительные сыворотки больных ИКБ. Следовательно, добиться максимального выявления специфических антител к возбудителю боррелиоза в сыворотках больных ИКБ с помощью одного из исследуемых химерных антигенов не представляется возможным. Специфичность химерных

Таблица 1

Данные иммуноферментного выявления в сыворотках больных ИКБ специфических антител IgM и IgG к химерным антигенам *BmpA-p83* и *OspCg-OspCa*

Антиген	Количество положительных сывороток, %					
	IgM			IgG		
	ИКБ (n = 36)	БС (n = 10)	ЗД (n = 20)	ИКБ (n = 36)	БС (n = 10)	ЗД (n = 20)
<i>BmpA-p83</i>	19 (52,7 %)	0	0	23 (63,9 %)	0	0
<i>OspCg-OspCa</i>	21 (58,3 %)	0	0	20 (55,5 %)	0	0

Примечание. n – количество исследуемых образцов сывороток; ИКБ – больные иксодовым клещевым боррелиозом; БС – больные сифилисом; БРА – больные ревматоидным артритом; ЗД – здоровые доноры.

Таблица 2

Значение ОП в ИФА по экспериментальной панели сывороток

Показатель отношения ОП _{Ср+} /ОП _{Ср-}	IgM	IgG
VmpA-p83	1,9 ± 0,21	2,4 ± 0,21
OspCg-OspCa	2,1 ± 0,24	2,0 ± 0,23

полипептидов VmpA-p83 и OspCg-OspCa оценивали по результатам исследования контрольных отрицательных сывороток (здоровых доноров, больных сифилисом и больных ревматоидным артритом). При исследовании контрольных отрицательных сывороток IgM ИФА и IgG ИФА с антигеном VmpA-p83 и OspCg-OspCa не было получено ни одного ложноположительного результата (см. табл. 1). Из этого следует, что химерные полипептиды VmpA-p83 и OspCg-OspCa не содержат протяженных чужеродных аминокислотных последовательностей, вследствие чего не дают неспецифических сигналов в ИФА. Это, в свою очередь, обеспечивает повышение специфичности диагностики ИКБ.

По результатам исследования методом ИФА сывороток больных ИКБ, здоровых доноров и больных сифилисом на наличие специфических IgM- и IgG-антител была создана экспериментальная панель положительных и отрицательных сывороток. Все сыворотки больных ИКБ из экспериментальной панели были положительными в IgM ИФА и IgG ИФА с антигенами VmpA-p83 или OspCg-OspCa. С использованием панели положительных и отрицательных сывороток для каждого антигена определены средние арифметические значения оптической плотности положительных (ОП_{Ср+}) и отрицательных сывороток (ОП_{Ср-}), а также отношение средних арифметических значений оптической плотности положительных и отрицательных сывороток (ОП_{Ср+} / ОП_{Ср-}), что позволило оценить степень абсолютной чувствительности антигенов (табл. 2). Показано, что наивысшей абсолютной чувствительностью обладает антиген OspCg-OspCa при определении в сыворотках больных ИКБ специфических IgM-антител, в то время как антиген VmpA-p83 – при определении в сыворотках больных ИКБ специфических IgG-антител.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате выполненной работы получены продуценты химерных полипептидов VmpA-p83 и OspCg-OspCa, которые содержали состыкованные между собой аминокислотные последовательности зрелых белков VmpA и p83 изолята

V. garinii 20047[†] и зрелых белков OspC изолятов *V. garinii* 20047[†] и *V. afzelii*. Полученные результаты свидетельствуют о существенной иммунореактивности химерных полипептидов VmpA-p83 и OspCg-OspCa и перспективности их использования в качестве антигенов для серодиагностики ИКБ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Караваяев В.С., Рябченко А.В., Беклемишев А.Б. Иммунохимический анализ рекомбинантных белков OspC западносибирских изолятов *Borrelia garinii* и *Borrelia afzelii* // Журн. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. 2010. (1). 20–23.
2. Караваяев В.С., Генина Е.С., Рябченко А.В., Беклемишев А.Б. Значимость рекомбинантных белков западносибирских изолятов *Borrelia burgdorferi* s.l. для серодиагностики иксодового клещевого боррелиоза // Клин. лаб. диагностика. 2014. (6). 44–48.
3. Караваяев В.С., Рябченко А.В., Беклемишев А.Б. Конструирование штамма *E. coli* – продуцента химерного полипептида на основе OspC сибирских изолятов *Borrelia afzelii* и *Borrelia garinii* и оценка антигенной активности рекомбинантного химера // Междунар. журн. фундамент. и прикл. исслед. 2015. (11-14). 534–537.
4. Манзенюк И.Н., Манзенюк О.Ю. Клещевые боррелиозы. Кольцово, 2005. 85 с.
5. Пат. 2514230 РФ. Рекомбинантные химерные полипептиды, несущие эпитопы различных иммунодоминантных белков спирохет комплекса *Borrelia burgdorferi sensu lato* и способ диагностики иксодового клещевого боррелиоза / А.Б. Беклемишев, А.В. Рябченко, В.С. Караваяев; Опубл. 03.03.2014.
6. Рябченко А.В., Караваяев В.С., Беклемишев А.Б. Сравнительный структурный и иммунохимический анализ рекомбинантных антигенов OspC новосибирских изолятов спирохет *Borrelia garinii* и *Borrelia afzelii* // Бюл. СО РАМН. 2010. (2). 6–12.
7. Фоменко Н.В., Мельникова О.В., Черноусова Н.Я., Ерихина Т.И. Выявление антител к боррелиям комплекса *Borrelia burgdorferi sensu lato* // Бюл. сиб. мед. 2008. (Прил. 1). 78–84.
8. Baranova E., Solov'ev P., Panfertsev E. et al. Rational design of antigens to improve the serodiagnosis of tick-borne borreliosis in central regions of Russia // Adv. Exp. Med. Biol. 2014. 807. 9–21.
9. Gomes-Solecki M.J., Dunn J.J., Luft B.J. et al. Recombinant chimeric *Borrelia* proteins for diagnosis of Lyme disease // J. Clin. Microbiol. 2000. 38. (7). 2530–2535.
10. Kenedy M.R., Lenhart T.R., Akins D.R. The role of *Borrelia burgdorferi* outer surface proteins // FEMS Immunol. Med. Microbiol. 2012. 66. (1). 1–19.

11. Verma A., Brissette C.A., Bowman A., Stevenson B. *Borrelia burgdorferi* BmpA is a laminin-binding protein // *Infect. Immun.* 2009. 77. (11). 4940–4946.

12. Wilske B.V., Fingerle U., Schulte-Spechtel U. Microbiological and serological diagnosis of Lyme borreliosis // *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 2007. 49. (1). 13–21.

CONSTRUCTION OF THE RECOMBINANT CHIMERIC POLYPEPTIDES BASED ON BmpA, p83 AND OspC PROTEINS OF SIBERIAN ISOLATES OF BORRELIA GARINII AND BORRELIA AFZELII AND COMPARATIVE STUDY OF THEIR IMMUNOCHEMICAL PROPERTIES

Vitaliy Semenovich KARAVAEV, Aleksandr Vladimirovich RYABCHENKO, Anatoliy Borisovich BEKLEMISHEV

*Research Institute of Biochemistry
630117, Novosibirsk, Timakov str., 2*

Gene regions encoding mature BmpA, p83, OspC proteins were amplified by PCR, inserted into pETm expression vector and cloned into *E. coli* Rosetta 2 cells. *E. coli* strains – producers of the chimeric polypeptide BmpA-p83, consisting of the epitopes of BmpA and p83 mature proteins from *B. garinii*, as well as a chimeric polypeptide OspCg-OspCa, consisting of the epitopes of mature OspC protein from *B. garinii* and of fragment OspC from *B. afzelii* were obtained. It was demonstrated that chimeric polypeptides specifically bind anti-bodies from serum of patients with Lyme disease. These results show the availability of obtained chimeras for the serodiagnosis of Lyme disease.

Key words: Lyme disease, chimeric polypeptide, *B. burgdorferi* s.l., ELISA, serodiagnosis.

Karavaev V.S. – candidate of medical sciences, leading researcher of laboratory for genetic engineering,
e-mail: v_karavaev1@mail.ru

Ryabchenko A.V. – candidate of biology sciences, senior researcher of laboratory for medical biotechnology,
e-mail: borrelia@mail.ru

Beklemishev A.B. – doctor of biological sciences, head of laboratory for genetic engineering,
e-mail: beklem@academ.ru

ОЦЕНКА ГЕМОСТАТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ НОВОГО МЕСТНОГО АНТИБИОТИК-СОДЕРЖАЩЕГО СРЕДСТВА НА ОСНОВЕ ОКИСЛЕННОЙ ЦЕЛЛЮЛОЗЫ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Александра Романовна ТАРКОВА¹, Сергей Владимирович МОРОЗОВ^{2,3},
Наталья Ивановна ТКАЧЕВА², Владимир Иванович РОДИОНОВ²,
Игорь Алексеевич ГРИГОРЬЕВ^{1,2}, Александр Михайлович ЧЕРНЯВСКИЙ¹

¹ ФГБУ Новосибирский НИИ патологии кровообращения им. акад. Е.Н. Мешалкина
Минздрава России
630055, г. Новосибирск, ул. Речкуновская, 15

² ФГБУ Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН
630090, г. Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 9

³ Новосибирский государственный университет
630090, г. Новосибирск, ул. Пирогова, 2

На моделях крыс линии WAG проведена оценка гемостатических свойств нового антибиотик-содержащего средства на основе окисленной целлюлозы. В результате проведенных экспериментов установлено, что разработанный полифункциональный гемостатический препарат с антибактериальным эффектом обладает выраженными кровоостанавливающими свойствами, как и его гемостатический аналог без антибиотика: медиана времени кровотечения составила 39 (28,5; 50) и 36 (26; 39) с соответственно ($p = 0,2$).

Ключевые слова: гемостатические материалы на основе окисленной целлюлозы, диффузное кровотечение, внутрибольничная инфекция.

Диффузное интраоперационное кровотечение и внутрибольничная инфекция в послеоперационном периоде – одни из самых актуальных проблем в хирургии [13, 15, 20, 26]. Быстрая остановка кровотечения приводит к сокращению времени проведения операции, улучшению ее результатов, снижению риска возникновения осложнений и значительному уменьшению расходов [25, 27]. Существующие на сегодняшний день методы борьбы с кровотечением имеют ряд существенных недостатков: так, избыточная диатермоэлектрокоагуляция приводит к ожогу тканей [24], системное переливание компонентов крови может сопровождаться инфекционными и иммунными осложнениями [18], а местные кровоостанавли-

вающие средства не в полном объеме удовлетворяют требованиям хирургов. Гемостатические материалы на основе фибрина, ввиду своего животного происхождения, могут привести к возникновению анафилактической реакции на их использование [9]. Также в литературе описаны случаи эмболии альбумин-содержащих гемостатических материалов при их использовании, что в итоге приводило к обширным инфарктам миокарда [22] и острой ишемии нижних конечностей [10]. Побочные эффекты от воздействия гемостатических материалов на основе коллагена встречаются редко и чаще всего включают в себя аллергические реакции, образование спаек и ингибирование заживления послеоперационных

Таркова А.Р. – аспирант Центра хирургии аорты, коронарных и периферических артерий,
e-mail: artarkova@mail.ru

Морозов С.В. – к.х.н., зав. лабораторией экологических исследований и хроматографического анализа,
e-mail: morozov@nioch.nsc.ru

Ткачева Н.И. – к.х.н., старший научный сотрудник лаборатории экологических исследований и хроматографического анализа, e-mail: yaroshen@nioch.nsc.ru

Родионов В.И. – к.х.н., руководитель подразделения, e-mail: virod@nioch.nsc.ru

Григорьев И.А. – д.х.н., проф., зав. лабораторией азотистых соединений, e-mail: grig@nioch.nsc.ru

Чернявский А.М. – д.м.н., проф., руководитель Центра хирургии аорты, коронарных и периферических артерий, e-mail: amchern@mail.ru

ран [17]. Костный воск представляет собой материал, который трудно абсорбируется организмом. В различных экспериментах было показано, что костный воск является одним из факторов риска возникновения стерильной инфекции и его использование замедляет регенерацию костной ткани, тем самым препятствуя заживлению грудины [28].

Одними из наиболее применяемых в хирургии гемостатических материалов являются средства на основе окисленной целлюлозы. Растительное происхождение и абсорбция материала позволяет избежать таких осложнений, как аллергическая реакция, ингибирование заживления послеоперационной раны и др. Механизм действия и применение гемостатических средств на основе окисленной целлюлозы в хирургии подробно описаны в литературе [6,7].

Наряду с проблемой остановки диффузных кровотечений, не менее остро стоит проблема профилактики внутрибольничных инфекций. Увеличение числа гнойных осложнений в послеоперационном периоде у больных после плановых хирургических вмешательств, снижение эффективности традиционно используемых антибактериальных препаратов свидетельствуют о нерешенности многих ключевых вопросов гнойной инфекции [2]. Риск присоединения инфекции значительно повышается при использовании имплантируемых устройств медицинского назначения, таких как внутривенные и артериальные катетеры, материалы для остеосинтеза, протезы и другие изделия, которые создают входные ворота для патогенной флоры во время контакта с тканями и жидкостями организма. Не менее актуальной является проблема реинфицирования раневых поверхностей госпитальными штаммами с рук медицинского персонала, постельного белья, шовного и перевязочного материала в группах больных в отделениях интенсивной терапии и др. В условиях строгого контроля за внутрибольничной инфекцией гнойные осложнения в области хирургического доступа регистрируются в 33–38 %. [3]. В этих случаях сроки пребывания больных в стационаре увеличиваются на 15–18 дней [1, 4]. Около 90 % всех внутрибольничных инфекций имеют бактериальное происхождение. Все большую роль в этиологии играют грамположительные бактерии, а именно стафилококки, которые встречаются в 60 % случаев всех внутрибольничных инфекций. Важной проблемой также является рост устойчивых штаммов микроорганизмов – возбудителей внутрибольничных инфекций, таких как MRSA (*Staphylococcus aureus*, устойчивые к метициллину), MRSE (*Staphylococcus epidermidis*,

устойчивые к метициллину), энтерококки, резистентные к ампициллину и аминогликозидам (гентамицину), антибиотикорезистентный пневмококк (*S. pneumoniae*), в отношении которых сохраняют активность ограниченное количество антибиотиков.

Перспективное решение проблемы диффузных кровотечений и присоединения внутрибольничной инфекции в послеоперационном периоде состоит в разработке универсальных средств, применяемых во время операции и обладающих кровоостанавливающими и антибактериальными свойствами.

Цель работы: оценка гемостатических свойств нового антибиотик-содержащего средства на основе окисленной целлюлозы в сравнении с исходной окисленной целлюлозой.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Эксперименты по оценке гемостатических свойств антибиотик-содержащего средства на основе окисленной целлюлозы проводили на белых крысах линии WAG обоего пола, массой 310 ± 17 г. Животные были разделены на две группы ($n = 10$): 1-я группа «ОЦ-А» – группа, в которой был применен гемостатический антибиотик-содержащий порошок на основе окисленной целлюлозы, 2-я группа – «Контроль» – группа, в которой был применен гемостатический антибиотик-содержащий порошок без антибиотика. Эффективность гемостатических свойств выбранного в группе «Контроль» порошка доказана и подробно описана в работе [6]. Уход за экспериментальными животными и их содержание в условиях вивария были стандартными и соответствовали требованиям приказов «Санитарные правила по устройству, оборудованию и содержанию вивариев» № 1045-73 от 06.04.1973, а также № 1179 от 10.10.1983 МЗ СССР, № 267 от 19.06.2003 МЗ РФ, «Правилам по обращению, содержанию, обезболиванию и умерщвлению экспериментальных животных», утвержденным МЗ СССР (1977) и МЗ РСФСР (1977), принципам Европейской конвенции (Страсбург, 1986) и Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации о гуманном обращении с животными (1996).

Авторами разработано ноу-хау – способ получения композиции из окисленной целлюлозы и антибиотика ванкомицина (соотношение гемостатик/антибиотик – 3:1). Получение гемостатического порошка на основе окисленной целлюлозы без антибиотика описано в патенте [5]. Операции проводили под внутримышечным наркозом (золетил 0,5 мг/кг). Крысам выполняли

верхнесрединную лапаротомию, в рану выводили левую долю печени, выполняли дозированную резаную рану (длина 10 мм, глубина 3 мм) и наносили гемостатический материал в объеме 0,3 г в зависимости от принадлежности лабораторного животного к соответствующей группе. Оценивали время кровотечения (с). Через 15 мин после окончательной остановки кровотечения операционную рану ушивали наглухо, животных выводили из наркоза. Послеоперационное наблюдение осуществляли в течение 7 суток.

Полученные данные были обработаны статистически с вычислением медианы, 25 и 75 перцентилей и достоверности различий ($p < 0,05$), используя программный пакет Statistica 10.0; StatSoft, Inc, USA. Значимость статистических различий между группами оценивалась с помощью критерия Крускала—Уоллиса.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенных экспериментов установлено, что медиана времени кровотечения в группе «ОЦ-А» составила 39 (28,5; 50) с, а в группе «Контроль» – 36 (26; 39) с, при этом достоверной разницы между группами получено не было ($p = 0,2$) (рисунок).

Отсутствие достоверной разницы между медианами времени кровотечения указывает на схожую эффективную гемостатическую активность материала на основе окисленной целлюлозы, содержащего антибиотик, в сравнении с контрольной группой. Полученные результаты свидетельствуют о том, что разработанный по-

лифункциональный гемостатический препарат с антибактериальным эффектом может использоваться не только в качестве интраоперационного средства для профилактики инфекционных осложнений, но и как эффективный кровоостанавливающий агент.

Данное исследование является первым шагом на пути создания новых отечественных полифункциональных препаратов для хирургии, которые помимо выраженного гемостатического действия оказывают антибактериальный эффект. Подобные работы активно ведутся за рубежом. Так, Deng A. и соавторы разработали композицию из окисленной целлюлозы и антибиотика гентамицина [12]. P. Lochman и соавторы описали опыт успешного применения полифункционального гемостатика на основе окисленной целлюлозы и антибиотика гентамицина [21]. Несмотря на все положительные эффекты вышеуказанных препаратов, недостатком этих медицинских изделий является использование в качестве антимикробного агента антибиотика гентамицина, который обладает потенциальной нефротоксичностью, ототоксичностью и может вызывать нервно-мышечную блокаду. Также данный антибиотик не эффективен против метициллин-резистентного стафилококка (MRSA) – частых возбудителей внутрибольничных инфекций.

В работе [8] для профилактики медиастинита при кардиохирургических вмешательствах использовали пасту, состоящую из антибиотика ванкомицина и физиологического раствора. Показано, что интраоперационное нанесение ванкомициновой пасты на губчатое вещество грудины снижает частоту возникновения медиастинита с 2–5 до 0,5 %.

Успешный опыт применения ванкомицина для профилактики стеральной инфекции описывают H.L. Lazar и соавторы [19]. В исследование были включены 3265 пациентов, которым для доступа к сердцу выполняли срединную стернотомию: первой группе на губчатое вещество грудины наносили ванкомицин, а второй группе – нет. Результаты исследования были следующими: частота встречаемости поверхностной и глубокой стеральной инфекции в группе с ванкомицином была меньше, чем в группе без ванкомицина (0 % против 1,6 %, $p < 0,0001$; 0 % против 0,7 %, $p = 0,005$ соответственно). Также при использовании ванкомицина отмечается значительное уменьшение частоты встречаемости стеральной инфекции у пациентов с сахарным диабетом (0 % против 3,3 %, $p = 0,0004$).

М. Kanko и соавторы использовали «сэндвич» методику: на гемостатическую марлю на основе окисленной целлюлозы наносили антибиотик

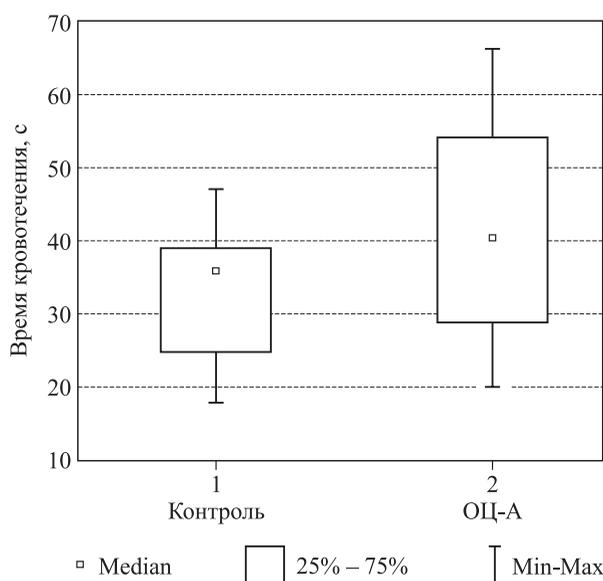


Рис. Время кровотечения в группах «Контроль» и «ОЦ-А». Данные представлены как медиана (25; 75 перцентиль)

ванкомицин и накрывали вторым слоем марли. Данное средство показало выраженный гемостатический эффект и одновременно являлось методом профилактики инфекционных осложнений при выполнении боковой торакотомии для доступа к сердцу [14].

Успешное местное применение ванкомицина для уменьшения послеоперационных инфекционных осложнений также было описано в группах пациентов, подвергшихся другим хирургическим вмешательствам: хирургия позвоночника [11], нейрохирургия с выполнением краниопластики [23], стоматология и ортопедия [16] и др.

Анализ литературных данных по этому вопросу и проведенные пилотные исследования свидетельствуют об актуальности проведения разработок в данном направлении.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Диффузное кровотечение и инфекционные осложнения являются одними из серьезных проблем хирургии. Перспективным направлением решения данного вопроса является создание полифункционального гемостатического препарата с антибактериальными свойствами, который по своему кровоостанавливающему эффекту не уступает аналогичным местным гемостатическим агентам. Разработанный авторами гемостатический антибиотик-содержащий порошок на основе окисленной целлюлозы, несмотря на наличие в его составе антибиотика ванкомицина, по своим кровоостанавливающим свойствам не уступает аналогу, не содержащему антибиотик. Полученные данные являются основным законченным этапом, проведенным на мелких лабораторных животных, для создания нового отечественного инновационного продукта.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 16-34-00895.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Белозер А.А., Смирнов О.А., Петкова В.А. Инфекционный контроль за внутрибольничными инфекциями в стационаре скорой медицинской помощи // *Соврем. пробл. эпидемиологии, диагностики и профилактики внутрибольничных инфекций*. СПб., 2003. 75–77.
2. Блатун Л.А. Некоторые аспекты госпитальной инфекции // *Врач*. 1998. (1). 3–5.
3. Блатун Л.А. Повидон-йод как средство для профилактики и лечения инфекционных осложнений // *Инфекции и антимикробная терапия*. 2005. (2). 73–77.

4. Оганесян Е.А., Павлов С.И., Петкова В.А. Эпидемиологический надзор за внутрибольничными инфекциями в Калужской области // *Соврем. пробл. эпидемиологии, диагностики и профилактики внутрибольничных инфекций*. СПб., 2003. 61–63.
5. Пат. 2563279 РФ. Способ получения гемостатического средства на основе окисленной целлюлозы с использованием микроволнового воздействия (варианты) / И.А. Григорьев, С.В. Морозов, Н.И. Ткачева, Н.А. Панкрушина, А.М. Чернявский, А.Р. Таркова; Оpubл. 20.09.2015.
6. Таркова А.Р., Чернявский А.М., Григорьев И.А., Морозов С.В., Родионов В.И., Кравченко Н.И. Эффективность различных форм местных гемостатических материалов на основе окисленной целлюлозы в эксперименте // *Вестн. хирургии им. И.И. Грекова*. 2015. 174. (6). 56–60
7. Чернявский А.М., Григорьев И.А., Морозов С.В., Таркова А.Р., Ткачева Н.И. Контроль локального гемостаза с помощью препаратов окисленной целлюлозы // *Хирургия*. 2014. (8). 71–75.
8. Arruda M.V.F.D., Braile D.M., Joaquim M.R., Suzuki F.A., Alves R.H. The use of the vancomycin paste for sternal hemostasis and mediastinitis prophylaxis // *Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular*. 2008. 23. (1). 35–39.
9. Beierlein W., Scheule A.M., Dietrich W., Ziemer G. Forty years of clinical aprotinin use: a review of 124n hypersensitivity reactions // *Ann. Thorac. Surg*. 2005. (79) 741–748.
10. Bernabeu E., Castella M., Barriuso C., Mulet J. Acute limb ischemia due to embolization of biological glue after repair of type A aortic dissection // *Interact. Cardiovasc. Thorac. Surg*. 2005. (4). 329–331.
11. Chiang H.Y., Herwaldt L., Schweizer M. Effectiveness of local vancomycin powder to decrease surgical site infections: a meta-analysis // *Spine J*. 2014. (14). 397–407.
12. Deng A., Yang X. Study on determination of gentamycin by enhanced chemiluminescent immunoassay // *J. West China University of Medical Sciences*. 1993. 24. (1). 101–103.
13. Eklund A.M., Lyytikaˆinen O., Klemets P. Mediastinitis after more than 10,000 cardiac surgical procedures // *Ann. Thorac. Surg*. 2006. (82). 1784–1789.
14. Kanko M., Liman T., Topcu S.A. Low-Cost and Simple Method to Stop Intraoperative Leakage-Type Bleeding: Use of the Vancomycin–Oxidized Regenerated Cellulose (ORC) Sandwich // *J. Investigative Surg*. 2006. 19. (5). 323–327.
15. Kunal S. Mediastinitis in cardiac surgery: A review of the literature // *Int. J. Med. Biomed. Research*. 2013. 1. (2). 97–103.
16. Ikeda H., Kurisu K., Kihira K. Vancomycin ointment for MRSA infection at a cranioplasty site // *Ann. Pharmacother*. 2004. (38). 70.

17. Integra NeuroSciences, Integra LifeSciences Corporation. Helitene: the Absorbable Collagen Hemostatic Agent. <http://www.integra-ls.com/PDFs/Helitene.pdf> [accessed 7 September 2007].
18. Lafeuillade B. Residual risk and retrospective analysis of transfusion-transmitted bacterial infection reported by the French National Hemovigilance Network from 2000 to 2008 // *Transfusion*. 2015. 55. (3). 636–646.
19. Lazar H.L. Topical vancomycin in combination with perioperative antibiotics and tight glycemic control helps to eliminate sternal wound infections // *J. Thoracic Cardiovascular Surg.* 2014. 148. (3). 1035–1040.
20. Levi M. Critical bleeding in surgery: Conventional therapy and new prospects // *Minerva Anesthesiol.* 2004. 70. (5). 267–271.
21. Lochman P. Nanofiber micro-dispersed oxidized cellulose as a carrier for topical antimicrobials: first experience // *Surgical Infections*. 2010. 11. (1). 29–32.
22. Mahmood Z., Cook D.S., Luckraz H., O'Keefe P. Fatal right ventricular infarction caused by Bioglue coronary embolism // *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2004 (128). 770–771.
23. Molinari R.W., Khera O.A., Molinari W.J. 3rd. Prophylactic intraoperative powdered vancomycin and postoperative deep spinal wound infection: 1,512 consecutive surgical cases over a 6-year period // *Eur. Spine. J.* 2012. (21). 476–482.
24. Murphy J.J., Glantz W., Schoenberg H.W. The healing of renal wounds. III. A comparison of electrocoagulation and suture ligation for hemostasis in partial nephrectomy // *J. Urol.* 1961. (85). 882–883.
25. Orlov D., Selby R., Yip P. Platelet dysfunction as measured by a point-of-care monitor is an independent predictor of high blood loss in cardiac surgery // *Патология кровообращения и кардиохирургия*. 2014. (3). 97.
26. Rupp M.E. Mediastinitis // *Mandell principles and infectious diseases* / ed. R. Mandell. 5th ed. Churchill: Churchill Livingstone, 2000. 941–949.
27. Schonauer C., Tessitore E., Barbagallo G., Albanese V., Moraei A. The use of local agents: Bone wax, gelatin, collagen, oxidized cellulose // *Eur. Spine. J.* 2004. (6). 22.
28. Vestergaard R.F. Effect of Hemostatic Material on Sternal Healing After Cardiac Surgery // *Ann. Thorac. Surg.* 2014. 97. (1). 153–160.
29. Wellisz T., Armstrong J.K., Cambridge J. The effects of a soluble polymer and bone wax on sternal healing in an animal model // *Ann. Thorac. Surg.* 2008. (85). 1776–1780.

ASSESSMENT OF HAEMOSTATIC PROPERTIES OF NEW TOPICAL ANTIBIOTICS-CONTAINING PREPARATION BASED ON OXIDIZED CELLULOSE IN THE EXPERIMENT

**Aleksandra Romanovna TARKOVA¹, Sergey Vladimirovich MOROZOV^{2,3},
Natal'ya Ivanovna TKACHEVA², Vladimir Ivanovich RODIONOV²,
Igor' Alekseevich GRIGOR'EV^{1,2}, Alexandr Mikhaylovich CHERNYAVSKIY¹**

¹ *Academician E.N. Meshalkin Novosibirsk Research Institute of Circulation Pathology of Minzdrav of Russia
630055, Novosibirsk, Rechkunovskaya str., 15*

² *N.N. Vorozhtsov Novosibirsk Institute of Organic Chemistry of the SB RAS
630090, Novosibirsk, Academician Lavrentiev av., 9*

³ *Novosibirsk State University
630090, Novosibirsk, Pyrogov str., 2*

Hemostatic properties of the new antibiotic-containing agent based on oxidized cellulose were evaluated on models WAG rats. It has been revealed that the polyfunctional hemostatic agent with antibacterial effect has hemostatic properties, as well as its analogue – hemostatic agent without antibiotic. The median of bleeding time was 39 (28.5; 50) and 36 (26; 39) seconds, respectively ($p = 0.2$).

Key words: hemostatic materials based on oxidized cellulose, diffuse bleeding, nosocomial infection.

Tarkova A.R. – postgraduate student of the unit for aorta, coronary and peripheral artery surgery, e-mail: artarkova@mail.ru

Morozov S.V. – candidate of chemical sciences, head of the laboratory of ecological research and chromatography, e-mail: morozov@nioch.nsc.ru

Tkacheva N.I. – candidate of chemical sciences, senior researcher of the laboratory of ecological research and chromatography, e-mail: yaroshen@nioch.nsc.ru

Rodionov V.I. – candidate of chemical sciences, head of unit, e-mail: virod@nioch.nsc.ru

Grigor'ev I.A. – doctor of chemical sciences, professor, head of the laboratory of nitrogen compounds, e-mail: grig@nioch.nsc.ru

Chernyavskiy A.M. – doctor of medical sciences, professor, head of the unit for aorta, coronary and peripheral artery surgery, e-mail: amchern@mail.ru

ПОЛУЧЕНИЕ ФУНКЦИОНАЛЬНО ИНТАКТНОГО СОСТОЯНИЯ У ЭЛИСИТИРОВАННЫХ (ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ) МАКРОФАГОВ ПУТЕМ МНОГОДНЕВНОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ

Геннадий Юрьевич ЛЮБИМОВ¹, Елена Брониславовна МЕНЬЩИКОВА²,
Владимир Александрович КОЗЛОВ¹

¹ НИИ фундаментальной и клинической иммунологии
630099, г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, 14

² НИИ экспериментальной и клинической медицины
630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2

Воспалительные (элиситированные различными агентами) перитонеальные макрофаги имеют более высокую функциональную активность по сравнению с резидентными макрофагами. В работе выяснялась динамика активации (деактивации) этих клеток макрофаг-активирующим фактором в процессе многодневного культивирования. В результате проведенных экспериментов установлено, что свежевыделенные воспалительные макрофаги в ответ на действие макрофаг-активирующего фактора реагируют подавлением секреции активных форм кислорода и Fc-рецептор-зависимого фагоцитоза, а по истечении нескольких суток в условиях *in vitro* происходит реверсия эффекта на воздействие упомянутого лимфокина, что послужило основой для разработки метода получения функционально интактных макрофагов с целью использования их в скрининговых исследованиях при тестировании иммуномодулирующих свойств препаратов.

Ключевые слова: перитонеальные макрофаги, спленоциты, макрофаг-активирующий фактор, активация, деактивация, дыхательный взрыв, фагоцитоз.

Для изучения различных функций макрофагов в экспериментах часто используют модель стерильного воспаления – элиситирование (привлечение, вызывание) клеток в брюшную полость с помощью какого-либо неинфекционного агента, например, тиюгликолята [19], протеозопептона, казеина [18], минерального масла [10], крахмала [5]. Их неоспоримое преимущество состоит в меньшей трудоемкости процедуры выделения, поскольку из одной мыши можно получать 5–25 миллионов клеток, что примерно в 5–25 раз больше, чем при получении резидентных перитонеальных макрофагов. Однако элиситированные макрофаги имеют измененное функциональное состояние, которое при этом варьирует в зависимости от вида применяемого агента, что неминуемо скажется на конечном результате при их использовании в качестве тест-системы для анализа иммуномодулирующих свойств соединений и препаратов.

Показано, что выраженность эффекта всегда обратно пропорциональна исходным значениям исследуемой функции, т.е. чем меньше ее первоначальные показатели, тем большими оказываются величины после воздействия исследуемого агента [1]. Ранее также установлено, что по целому ряду функциональных и биохимических показателей элиситированные (воспалительные) макрофаги значительно превосходят резидентные [4, 7, 12, 15, 17, 18]. В связи с этим мы предположили, что вызванные крахмалом перитонеальные макрофаги (ПМВК) уже изначально в процессе элиситации приобретают довольно высокий уровень функциональной активности, однако в дальнейшем, после многодневного культивирования, переварив гранулы инкорпорированного крахмала, переходят в состояние покоя (деактивируются). Полученные таким способом макрофаги могут стать более адекватной моделью для скрининга новых иммуномодуляторов.

Любимов Г.Ю. – к.м.н., научный сотрудник лаборатории регуляции иммунорезиса, e-mail: glubimov@rambler.ru

Меньщикова Е.Б. – д.м.н., зав. лабораторией молекулярных механизмов свободнорадикальных процессов, e-mail: lemen@centercem.ru

Козлов В.А. – д.м.н., проф., академик РАН, зав. лабораторией клинической иммунопатологии, e-mail: niiki01@online.nsk.su

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Животные. Для выделения перитонеальных макрофагов использовали самцов мышей (СВА × С57В1/6)F1 в возрасте 8 недель, полученных из экспериментально-биологической клиники лабораторных животных НИИ фундаментальной и клинической иммунологии (г. Новосибирск). Спленоциты получали из селезенок самцов мышей СВА и С57В1/6. Все работы с лабораторными животными выполнялись в соответствии с положениями Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации о гуманном отношении к животным (ред. 2000 г.) и с принципами гуманности, изложенными в директиве Европейского Сообщества № 86/609 ЕС.

Получение перитонеальных макрофагов. За 4 дня до выделения макрофагов в брюшную полость мыши вводили 1 мл гомогенизированного 4%-го раствора крахмала либо 1 мл 10%-го раствора протеозопептона (DIFCO, Нидерланды). Мышей обезглавливали, затем в брюшную полость вводили 8–10 мл охлажденной среды RPMI 1640 (Биолот, Россия). После непродолжительного (1 мин) интенсивного массажа брюшка перитонеальную жидкость забирали шприцем и центрифугировали (7 мин, 1500 об/мин), надосадочную жидкость декантировали. В полученной таким образом суспензии клеток содержалось не менее 95 % макрофагов.

Оценка Fc-рецептор-опосредованного фагоцитоза. Эритроциты барана трижды отмывали в бесцветной среде Хенкса (Биолот; 10 мин, 3000 об/мин) и ресуспендировали до концентрации 5 %. В кроличьей гемолитической сыворотке (ЭКОлаб, Россия) определяли субагглютинирующее разведение, опсонизировали эритроциты (30 мин, 37 °С), дважды отмывали в среде Хенкса и ресуспендировали до концентрации 1 %. В лунки 24-луночных полистироловых планшетов для культур клеток заливали по 1 мл суспензии ПМВК в среде RPMI 1640 (Биолот), концентрация 8×10^5 клеток/мл инкубировали в течение 2 ч при 37 °С, 95%-й влажности и 5 % CO₂, образовавшийся монослой отмывали от неприлипших клеток. К монослою добавляли 1 мл 1%-й суспензии IgG-опсонизированных эритроцитов барана и инкубировали в течение 30 мин при 37 °С, после чего супернатант с нефагоцитированными эритроцитами сливали, остатки эритроцитов лизировали, добавляя по 1,5 мл 0,09%-го раствора NaCl. Гемолизат удаляли, лунки трижды промывали 0,9%-м раствором NaCl и заполняли 0,5 мл 1%-го раствора детергента (додецилсульфат натрия, ThermoFisher Scientific, США) для разрушения макрофагов и фагоцитированных ими

эритроцитов, количество вышедшего гемоглобина определяли на спектрофотометре «Multiskan» (ThermoFisher Scientific) при длине волны 405 нм.

Продукцию супероксидного анион-радикала определяли по восстановлению *n*-нитросинего тетразолия (Sigma-Aldrich, США) до формазана с помощью модифицированного нами спектрофотометрического метода [8]. К монослою ПМВК, полученному как описано выше, добавляли 500 мкл бесцветной среды Хенкса, содержащей 1 мг/мл *n*-нитросинего тетразолия и 2 мг/мл опсонизированного зимозана, и термостатировали в течение 30 мин при 37 °С. Реакцию останавливали добавлением в лунку 50 мкл 5N HCl, содержимое лунок пипетировали и переносили в пробирки, которые центрифугировали в течение 5 мин при 3000 об/мин. Супернатант удаляли, осадок ресуспендировали в 1 мл диметилсульфоксида. Поскольку на дне лунок остается еще много макрофагов с гранулами формазана, в них также добавляли по 1 мл диметилсульфоксида, перемешивали и переносили в те же пробирки. Для лучшего растворения гранул формазана пробирки помещали в кипящую водяную баню на 10 мин. Спектрофотометрию проводили при длине волны 540 нм.

Приготовление опсонизированного зимозана. Суспензию зимозана (Биолар, Латвия) в бесцветном растворе Хенкса (20 мг/мл) гомогенизировали в кипящей водяной бане в течение 45 мин, после чего многократно пропускали через иглу 25 G, добавляли равный объем нативной сыворотки крови мышей и термостатировали в течение 30 мин при 37 °С, периодически перемешивая. Затем гранулы зимозана осаждали центрифугированием (45 мин, 3000 об/мин), супернатант удаляли, к осадку добавляли изначальное количество бесцветного раствора Хенкса и ресуспендировали. Полученную суспензию делили на аликвоты и хранили при –20 °С.

Получение макрофаг-активирующего фактора (МАФ). В стерильных условиях из брюшной полости мышей линии СВА извлекали селезенку, которую помещали в стеклянный гомогенизатор конической формы с находящимся в нем 0,85%-м раствором хлористого аммония, вращательными движениями пестика выдавливали спленоциты из капсулы селезенки, полученный гомогенат процеживали, центрифугировали (10 мин, 1000 об/мин) и отмывали в среде RPMI 1640. Суспензию спленоцитов доводили до концентрации 5×10^6 клеток средой RPMI 1640, содержащей 5 % инактивированной эмбриональной телячьей сыворотки, 2 мМ L-глутамина, 10 мМ буфера HEPES, 50 мкМ 2-меркаптоэтанола и 80 мкг/мл гентамицина (Биолот), и добавляли по 1 мл в лун-

ки 24-луночного планшета. Затем в эти же лунки заливали суспензию спленоцитов, полученных от мышей линии С57В1/6. Смешанную культуру лимфоцитов инкубировали в течение 48 ч при 37 °С в CO₂-инкубаторе, пропускали через стерильный фильтр с диаметром пор 22 мкм, аликвоты хранили при –20 °С. МАФ тестировали с помощью теста на противоопухолевую цитотоксичность макрофагов либо с помощью хемиллюминесцентного анализа [3].

Статистическая обработка. В каждой группе эксперимента использовалась пулированная суспензия макрофагов, полученных от 6–8 мышей, повтор эксперимента осуществлялся 3-кратно. При проведении статистической обработки результатов исследования вычисляли среднее арифметическое значение (M), ошибку среднего арифметического значения (m). Различия между группами оценивали с помощью критерия Стьюдента, достоверными считались результаты при $p < 0,05$. Данные представлены в процентах от контроля, принятого за 100 %.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

После первых 48 ч культивирования ПМВК с 10 % МАФ (объем/объем) проявилось его выраженное ингибирующее влияние на Fc-рецептор-зависимый фагоцитоз эритроцитов (рис. 1, а), что согласуется с данными других авторов [16]. Однако уже через 96 ч ингибирующий эффект МАФ сменился на противоположный: уровень Fc-рецептор-зависимого фагоцитоза увеличился в 1,28 раза, а через 120 ч он был в 1,71 раза выше контрольных значений. Аналогичное действие

МАФ оказывал на продукцию ПМВК супероксид-аниона (рис. 1, б): если через 48 ч она была меньше, чем в контроле, то спустя 144 ч культивирования клеток эффект МАФ инвертировался и интенсивность дыхательного взрыва ПМВК существенно превышала контрольные значения.

Чтобы выяснить, насколько полученные закономерности специфичны для данного вида воспалительных макрофагов, мы провели серию экспериментов, в которых использовали макрофаги, вызванные в брюшную полость 10%-м раствором пептона (Sigma-Aldrich). Обнаружено, что после их 48-часовой экспозиции с 10 % МАФ, так же как и в случае с ПМВК, выявлялось ингибирующее влияние МАФ как на Fc-рецептор-зависимый фагоцитоз, так и на продукцию супероксид-аниона (рис. 2), в то время как через 144 ч культивирования эффект сменялся на противоположный, однако статистически значимым он был лишь при исследовании продукции супероксид-аниона.

Необходимо отметить, что в серии экспериментов, в которых исследовалось влияние МАФ на Fc-рецептор-зависимый фагоцитоз ПМВК, предварительно прокультивированных в интактных условиях в течение 96 ч, 48-часовое воздействие МАФ не сопровождалось статистически значимым изменением величины показателя. Очевидно, к этому времени макрофаги становятся рефрактерными к воздействию МАФ.

В литературе существуют многочисленные свидетельства увеличения под действием интерферона γ продукции активных форм кислорода и фагоцитарной активности элиситированных (в том числе пептоном) макрофагов [12, 13]. На первый взгляд, им противоречат полученные

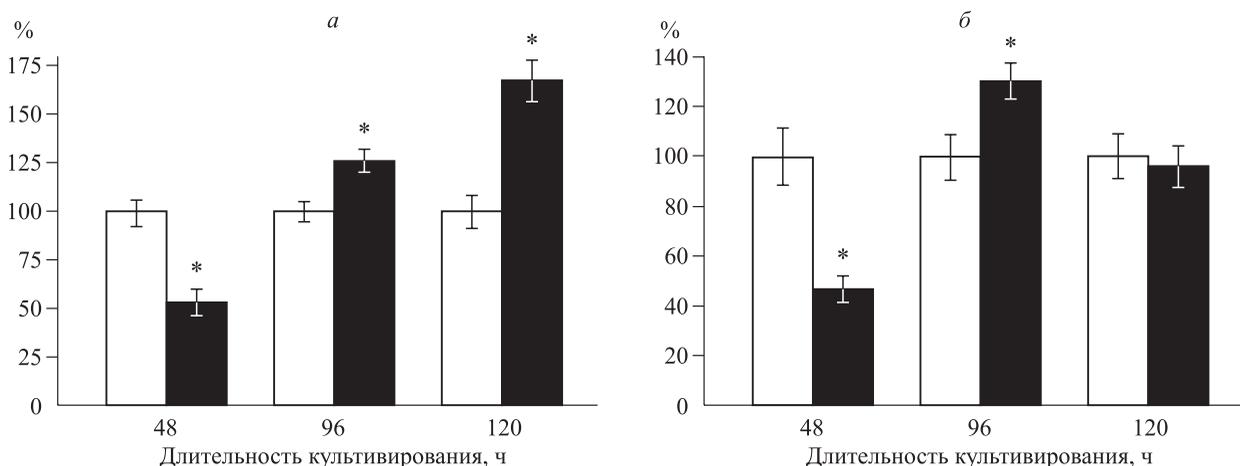


Рис. 1. Действие МАФ на Fc-рецептор-опосредованный фагоцитоз (а) и продукцию супероксидного анион-радикала (б) перитонеальными макрофагами, элиситированными крахмалом, в условиях длительного культивирования. Здесь и на рис. 2 белые столбики – контроль, черные – инкубирование в присутствии МАФ; * – отличие от величины соответствующего показателя контроля статистически значимо при $p < 0,001$

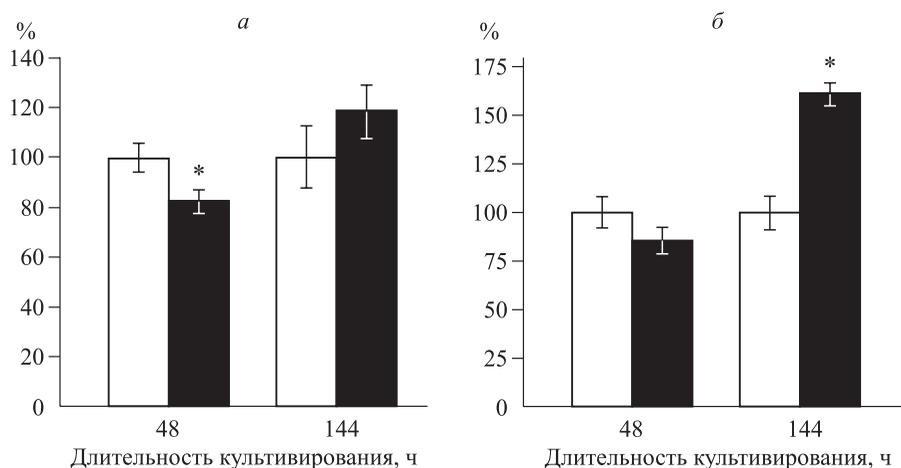


Рис. 2. Действие МАФ на Fc-рецептор-опосредованный фагоцитоз (а) и продукцию супероксидного анион-радикала (б) перитонеальными макрофагами, элиситированными пептоном, в условиях длительного культивирования. * – отличие от величины соответствующего показателя контроля статистически значимо при $p < 0,01$

нами данные о влиянии 48-часового культивирования с МАФ на генерацию элиситированными макрофагами супероксид-аниона и Fc-рецептор-опосредованный фагоцитоз. Однако в ранее проведенных исследованиях мы показали, что наряду со снижением продукции O_2^- вызванные тиогликолятом макрофаги отвечают на инкубирование с МАФ усилением синтеза других видов активных форм кислорода [1]. Что же касается влияния МАФ на фагоцитоз, то аналогичных результатов в литературе мы не встречали.

Давно известно, что МАФ и его действующее начало интерферон γ [11] вызывают однозначный усиливающий эффект на фагоцитоз. Макрофаги отличаются от других иммунокомпетентных клеток полифункциональностью, в силу этого они по праву именуется «дирижерами» иммунного ответа и воспаления. Многочисленные функции макрофагов тесно взаимодействуют между собой и постоянно находятся под влиянием различных ауто- и паракринных механизмов. Кроме того, макрофаг, принимая участие в различных типовых патологических процессах, может динамично переходить из одного функционального состояния в другое (начиная от состояния покоя, переходя в состояние активации и заканчивая состоянием деактивации). Полученные нами и представленные в настоящей статье данные дополняют и укрепляют аспект пластичности в современной парадигме существования M1- и M2-фенотипов макрофагов [14]. Функциональное состояние макрофага контролируется на всех ее этапах, поскольку известно, что «крен» в любое из этих состояний может привести к различным патологическим исходам (от некроза до фиброза).

Представленные результаты еще раз указывают на всю сложность механизмов изменения макрофагальных функций. Исследуемый цитокин – интерферон γ – является для макрофага одним из главных модуляторов его многочисленных функций [2, 6, 8, 9], а с учетом универсального характера выявленных механизмов ему также нужно приписать свойство универсальности, которое заключается в способности цитокина изменять свое действие в зависимости от функционального состояния клетки вплоть до противоположного. Биологический смысл такого бимодального эффекта интерферона γ , очевидно, заключается в том, что поскольку этот цитокин является одним из самых мощных активаторов макрофагов (M1-поляризация), то его действие не может продолжаться бесконтрольно долго, поскольку длительная гиперактивация макрофагов может привести к различным негативным последствиям для организма хозяина. Для этого в процессе эволюции сформировался целый ряд защитных механизмов биологической отрицательной обратной связи, к числу которых, видимо, и относится представленный выше механизм влияния МАФ (интерферона γ) на макрофаги.

Таким образом, в настоящем исследовании показано, что процесс многодневного культивирования воспалительных (элиситированных) макрофагов возвращает их функциональное состояние к исходному уровню, что придает фагоциту способность вновь адекватно реагировать на внешние стимулы. Предлагаемый способ получения функционально интактных макрофагов является менее трудоемким по сравнению с выделением резидентных перитонеальных макро-

фагов и может быть полезен исследователям, занимающимся скринингом новейших иммуномодуляторов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Громыкина Н.Ю., Маркова Е.В., Любимов Г.Ю. и др. Продукция интерлейкина-1 и простагландина E2 макрофагами мышей в условиях индукции Р-448-зависимой монооксигеназной активности // Иммунология. 1992. (1). 37–40.
2. Душкин М.И. Макрофаг. Многоликий и вездесущий // Наука из первых рук. 2012. (5). 26–33.
3. Любимов Г.Ю., Зенков Н.К., Вольский Н.Н., Козлов В.А. Хемилюминесценция перитонеальных макрофагов при действии макрофаг-активирующего фактора // Иммунология. 1992. (1). 40–43.
4. Маянский А.Н., Маянский Д.Н. Очерки о нейтрофиле и макрофаге // Новосибирск: Наука, 1989. 344 с.
5. Мирошниченко С.М., Коваленко Г.А., Цирельников Н.И., Панин Л.Е. Сравнительный анализ морфофункциональных показателей перитонеальных макрофагов мышей онкологической линии А/SN и белых беспородных // Вопр. онкологии. 2013. 59. (6). 771–776.
6. Оноприенко Л.В. Молекулярные механизмы регуляции активности макрофагов (обзорная статья) // Биоорг. химия. 2011. 37. (4). 437–451.
7. Фрейдлин И.С. Система мононуклеарных фагоцитов. М.: Медицина, 1984. 272 с.
8. Avau A., Matthys P. Therapeutic potential of interferon-gamma and its antagonists in autoinflammation: Lessons from murine models of systemic juvenile idiopathic arthritis and macrophage activation syndrome // Pharmaceuticals. 2015. 8. (4). 793–815.
9. Boshuizen M.C., de Winther M.P. Interferons as essential modulators of atherosclerosis // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 2015. 35. (7). 1579–1588.
10. Brand C., da Costa T.P., Bernardes E.S. et al. Differential development of oil granulomas induced by pristane injection in galectin-3 deficient mice // BMC Immunol. 2015. 16. 68.
11. Fukazawa Y., Kagaya K., Miura H. et al. Biological and biochemical characterization of macrophage activating factor (MAF) in murine lymphocytes: physicochemical similarity of MAF to gamma interferon (IFN-gamma) // Microbiol. Immunol. 1984. 28. (6). 691–702.
12. Higginbotham J.N., Lin T.L., Pruett S.B. Effect of macrophage activation on killing of *Listeria monocytogenes*. Roles of reactive oxygen or nitrogen intermediates, rate of phagocytosis, and retention of bacteria in endosomes // Clin. Exp. Immunol. 1992. 88. (3). 492–498.
13. Marcatto L.G., Ferlini A.P., Bonfim R.C. et al. The role of Toll-like receptors 2 and 4 on reactive oxygen species and nitric oxide production by macrophage cells stimulated with root canal pathogens // Oral Microbiol. Immunol. 2008. 23. (5). 353–359.
14. Mills C. M1 and M2 macrophages: Oracles of health and disease // Crit. Rev. Immunol. 2012. 32. (6). 463–488.
15. Olivo Rdo A., Teixeira Cde F., Silveira P.F. Representative aminopeptidases and prolyl endopeptidase from murine macrophages: comparative activity levels in resident and elicited cells // Biochem. Pharmacol. 2005. 69. (10). 1441–1450.
16. Rollag H., Degre M., Sonnenfeld G. Effects of interferon-alpha/beta and interferon-gamma preparations on phagocytosis by mouse peritoneal macrophages // Scand. J. Immunol. 1984. 20. (2). 149–155.
17. Schneider M. Collecting resident or thioglycollate-elicited peritoneal macrophages // Methods Mol. Biol. 2013. 1031. 37–40.
18. Turchyn L.R., Baginski T.J., Renkiewicz R.R. et al. Phenotypic and functional analysis of murine resident and induced peritoneal macrophages // Comp. Med. 2007. 57. (6). 574–580.
19. Weber K., Schilling J.D. Distinct lysosome phenotypes influence inflammatory function in peritoneal and bone marrow-derived macrophages // Int. J. Inflamm. 2014. 2014. 154936.

OBTAINING OF FUNCTIONAL INTACT STATE IN ELICITED (INFLAMMATORY) MACROPHAGES BY DAYS-LONG CULTIVATION

**Gennadiy Yur'evich LYUBIMOV¹, Elena Bronislavovna MENSCHIKOVA²,
Vladimir Aleksandrovich KOZLOV¹**

¹ *Research Institute of Fundamental and Clinical Immunology
630099, Novosibirsk, Yadrintsevskaya str., 14*

² *Research Institute of Experimental and Clinical Medicine
630117, Novosibirsk, Timakov str., 2*

Inflammatory (elicited by various agents) peritoneal macrophages have a higher functional activity as compared to resident macrophages. The dynamics of these cells activation (deactivation) by macrophage-activating factor in days-long cultivation has been elucidated. The experiments revealed that freshly isolated inflammatory macrophages respond to macrophage-activating factor by decrease of reactive oxygen species generation and Fc-receptor-dependent phagocytosis, but after a few days in the in vitro conditions the effect of lymphokine is reversed. This has served as the basis for developing the method for functionally intact macrophages obtaining for the purpose of their use in screening studies for drugs immunomodulatory properties testing.

Key words: peritoneal macrophages, splenocytes, macrophage-activating factor, activation, deactivation, respiratory burst, phagocytosis.

Lyubimov G. Yu. – candidate of medical sciences, researcher of laboratory of immunopoiesis regulation,
e-mail: glubimov@rambler.ru

Menshchikova E. B. – doctor of medical sciences, head of the laboratory for molecular mechanisms
of free-radical processes, e-mail: lemen@centercem.ru

Kozlov V. A. – doctor of medical sciences, professor, academician of RAS, head of the laboratory
of clinical immunopathology, e-mail: niiki01@online.nsk.su

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ МОДИФИКАЦИЯ КОРОНАРНЫХ СТЕНТОВ

**Игорь Олегович МАРИНКИН, Павел Геннадьевич МАДОНОВ,
Светлана Владимировна МИШЕНИНА, Андрей Владимирович ДУБРОВИН,
Павел Николаевич МИРОШНИКОВ, Константин Игоревич Ершов,
Светлана Васильевна ПОЗДНЯКОВА**

*Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России
630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52*

В статье приведены материалы по созданию инновационных лекарственных покрытий для коронарных стентов, используемых при лечении острого инфаркта миокарда. **Цель исследования:** определение параметров кинетики полиаргининового комплекса из полимерной матрицы коронарных стентов. **Материал и методы:** коронарный стент, полимерная матрица «полилактид-гликолид», аргининовый полипептидный комплекс. **Результаты и их обсуждение:** создано новое лекарственное покрытие для коронарного стента с замедленной экстракцией полиаргинина из полимерной матрицы.

Ключевые слова: коронарный стент, лекарственное покрытие для коронарных стентов, полиаргинин, острый инфаркт миокарда.

Во внутренней политике РФ большое внимание уделено здравоохранению. Президентом России В.В. Путиным 2015 г. был объявлен Национальным годом борьбы с сердечно-сосудистыми заболеваниями (ССЗ), которые составляют более половины всех смертей в РФ. На сегодняшний день в РФ реализованы самые современные медицинские технологии лечения острого инфаркта миокарда и постоянно ведутся работы по их усовершенствованию и созданию новых методологических подходов и медицинских изделий. В XXI в. чрескожное коронарное вмешательство (ЧКВ) с установкой коронарного стента является рутинной практикой лечения острого инфаркта миокарда (ОИМ) не только в высокоспециализированных учреждениях, но и сельской местности в условиях первичного сосудистого отделения. «Золотым стандартом» ЧКВ при ОИМ является установка в просвете инфаркт-связанной коронарной артерии стента с лекарственным покрытием (СЛП) [3]. В РФ среднегодовой прирост операций ЧКВ с установкой стента при ОИМ составляет около 20 %. В 2015 г. в региональных со-

судистых центрах Новосибирской области было установлено 2383 стента (не менее 6 стентов в сутки).

Основной вектор инноваций при разработке коронарных стентов направлен на создание СЛП, среди которых большую часть занимают стенты с антипролиферативным лекарственным покрытием. Схема их производства достаточно проста: на стент наносится полимерная матрица из биodeградируемого полимера (элютинг-система) с включением антипролиферативного средства, например рапамицина, которое после установки стента в коронарной артерии высвобождается и диффундирует как в просвет, так и в интиму сосуда, блокируя пролиферативный компонент воспаления. Основная и труднорешаемая проблема заключается в истощении антипролиферативного действия ввиду быстрой элиминации лекарственного вещества из толщи полимерного покрытия. При уплотнении элютинг-системы снижается функциональная емкость для лекарственного средства и, соответственно, снижается клиническая эффективность. Были предприняты попытки

Маринкин И.О. – д.м.н., проф., ректор

Мадонов П.Г. – д.м.н., проф., зав. кафедрой фармакологии, клинической фармакологии и доказательной медицины, e-mail: madonov@scpb.ru

Мишенина С.В. – к.м.н., доцент кафедры фармакологии, клинической фармакологии и доказательной медицины

Дубровин А.В. – научный сотрудник центральной научно-исследовательской лаборатории

Мирошников П.Н. – научный сотрудник центральной научно-исследовательской лаборатории

Ершов К.И. – к.м.н., ассистент кафедры фармакологии, клинической фармакологии и доказательной медицины

Позднякова С.В. – д.б.н., проф. кафедры фармакологии, клинической фармакологии и доказательной медицины

модификации элютинг-системы с целью нарастить внутримономерный кросслинкинг и, сохраняя плотность матрицы, повысить период полувыведения лекарственного средства.

В исследовании [1] показана возможность модификации элютинг-системы посредством облучения стентов с лекарственным покрытием потоком ускоренных электронов, для того чтобы антипролиферативное лекарственное средство пролонгированно высвобождалось из всей массы сополимерной матрицы. Показано, что с помощью технологии электронно-лучевой модификации можно улучшить кинетические параметры экстрагирования рапамицина (сиролимуса) из коронарных стентов. Профили хроматограмм свидетельствуют о химической целостности рапамицина и об отсутствии в растворе дополнительных включений, что, в свою очередь, указывает на сохранность полимерного покрытия после радиационного воздействия на него.

По нашим представлениям, весьма интересными могут быть разработка и изготовление многокомпонентного лекарственного покрытия стента с целью не только исключить пролиферативный компонент воспаления, но и обеспечить полноценное функционирование кровеносного русла в зоне скомпрометированного инфарктом коронарного кровотока. В качестве лекарственного покрытия можно использовать доноры оксида азота, фактор роста эндотелия и другие фармакологические агенты для восстановления гемодинамики и микроциркуляции в бассейне инфаркт-связанной коронарной артерии.

В РФ разработан инновационный аргининовый пептидный комплекс (АПК) [2], весьма перспективный для внедрения в элютинг-систему коронарных стентов. АПК представляет собой регулярный поликатионный полимер, содержащий аргинин и другие природные аминокислоты. Комплекс хорошо растворяется в воде и образует соли и полиэлектролитные комплексы с различными анионами. АПК легко проникает в ткани через физиологические барьеры и далее быстро распадается под действием тканевых ферментов и восстановительной среды на составляющие его аминокислоты. Основным продуктом распада комплекса является природный L-аргинин (более половины от общей массы) – ключевой предшественник биосинтеза такого важнейшего паракринного фактора, как оксид азота (NO), регулирующий тканевое дыхание и сосудистый тонус и обладающий цитопротективным и противовоспалительным действием, а также других аминокислот (цитруллин, орнитин, пролин) и полиаминов. Созданный АПК является эффективным средством локальной доставки аргинина и ликви-

дации его дефицита в тканях и клетках и может рассматриваться в качестве лекарственного средства для модификации коронарных стентов.

Цель исследования – определение параметров кинетики АПК из полимерной матрицы коронарных стентов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В качестве прототипа выбран коронарный стент российской компании «Ангиолайн» (г. Новосибирск). Конструктивно он представляет собой многозубцовую «корону» диаметром 2,75–3,5 мм. Материал стента гибкий и прочный за счет соединения соседних коронок двумя перемычками с тангенциальным сдвигом их расположения по спирали на 2,5 зубца между соседними коронами. Матрицей для лекарственного покрытия служит биodeградируемая композиция сополимеров полилактида с гликолидом (ПЛГА).

ПЛГА широко применяется для создания систем пролонгированного действия и представляет собой термопластичный сложный полиэфир. Свойства и области применения ПЛГА могут изменяться в широких пределах не только благодаря варьированию молекулярной массы полимера, но и за счет изменения соотношения мономерных звеньев в полимере. Как и гомополимеры полилактида и гликолида, сополимеры молочной и гликолевой кислот обладают низкой токсичностью, превосходной биологической совместимостью и характеризуются практическим отсутствием воспалений при контакте *in vivo* и *in vitro*. Все это в сочетании с регулируемыми механическими свойствами делает ПЛГА основным полимером для создания пролонгированных систем. В нашем исследовании полилактид представлял собой рацемат D- и L-изомеров молочной кислоты.

Биodeградируемый АПК получен в результате многостадийного химического синтеза. Продукт выделяют в виде порошка белого или желтоватого цвета, хорошо растворимого в воде. Расчет, проведенный исходя из данных масс-спектрометрического анализа, показывает, что молекулярная масса одного звена полимерной цепи составляет 721 Да. По данным гелеэлектрофореза в полиакриламидном геле массы полимерных молекул в конечной субстанции варьируют в пределах от 1,5 до 40 кДа.

Содержание аргинина в пробах рассчитывают по результатам не менее трех измерений при помощи калибровочного графика (рис. 1). Для построения графика использованы значения оптической плотности калибровочных растворов. Содержание аргинина ($m_{\text{АПК}}$) в препарате (мг/г)

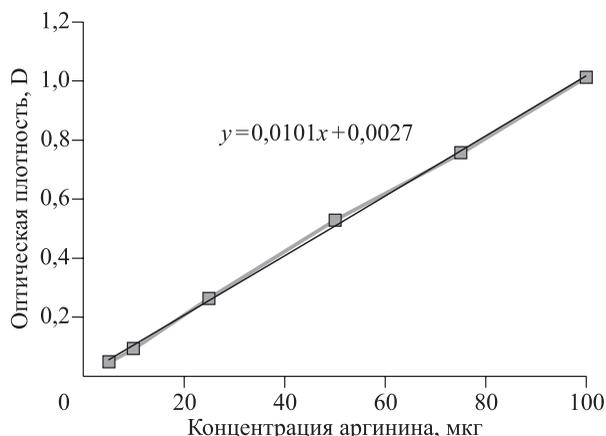


Рис. 1. Калибровочный график концентраций аргинина

рассчитаны по формуле: $m_{\text{АПК}} = m_{\text{калиб}} \times 4$, где $m_{\text{калиб}}$ – масса аргинина, определенная по калибровочному графику (мг), 4 – коэффициент, учитывающий содержание аргинина в АПК.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Модельная смесь полимерной матрицы для нанесения на стент изготавливалась *ex tempore*. На аналитических весах отweighивали 2 мг АПК, навеску переносили в пластиковую пробирку типа Eppendorf и добавляли 1 мл этилового спирта, содержимое пробирки перемешивали до полного растворения навески. Затем на аналитических весах отweighивали 2,5 мг ПЛГА, навеску переносили в пластиковую пробирку типа Eppendorf и добавляли 1,25 мл хлороформа, содержимое пробирки перемешивали до полного растворения навески. Покрытие на стент готовилось в весовых соотношениях АПК к ПЛГА 1:2; 1:3; 1:4, для этого в три стеклянные емкости объемом 20 мл добавляли по 0,1 мл раствора АПК и по 0,2, 0,3 и 0,4 мл раствора ПЛГА соответственно, полученные растворы перемешивали и высушивали под вакуумом, в результате на дне емкости образовывалась пленка полимерной матрицы из АПК и ПЛГА.

Скорость высвобождения АПК из покрытия определяли следующим способом. В стеклянные емкости с покрытием добавляли по 5 мл 1 мМ натрий-фосфатного буфера с рН 7,4. Емкости помещали в термостатированный при 37 °С шкаф на шейкер с рабочей скоростью вращения 120 об/мин. Через заданный промежуток времени из емкости отбирали пробу для анализа. Каждый раз после отбора пробы буферный раствор в емкости заменяли на свежий. Анализ проб проводили по методике, представленной выше.

Проведенные исследования показали, что практически весь полиаргинин АПК высвобождается из покрытия за первые 6 часов эксперимен-

та и при дальнейшем наблюдении определяются лишь его следовые количества. Соотношение АПК и ПЛГА практически никак не влияет на результат скорости высвобождения. Это можно объяснить тем, что покрытия на основе сополимеров ПЛГА имеют структуру в виде губки, с достаточно большими порами, что в сочетании с хорошей растворимостью в воде АПК приводит к быстрому вымыванию полиаргинина из покрытия.

Одним из путей понижения скорости выхода полиаргинина из полимерной матрицы на основе ПЛГА является уменьшение растворимости полиаргинина. Для этого предлагалось использовать АПК в виде соли с жирной кислотой. В экспериментах в качестве жирной кислоты использовали пальмитиновую кислоту. Образующийся комплекс очень плохо растворим в воде. В этой связи был изменен способ приготовления полимерной матрицы.

На аналитических весах отweighивали 10 мг АПК и 7 мг пальмитиновой кислоты. Навеску переносили в стеклянную емкость 10 см³ и добавили 1 мл этилового спирта. К полученному мутному раствору добавляли 3 мл хлороформа, осадок растворялся. Раствор ПЛГА готовится аналогичным образом в концентрации 2 мг/мл.

Полимерная матрица готовилась в следующих весовых соотношениях: АПК – пальмитиновая кислота (масса пальмитиновой кислоты не учитывалась) к ПЛГА – 1:2; 1:3; 1:4. Для этого в три стеклянные емкости объемом 20 мл добавляли по 0,08 мл раствора АПК – пальмитиновая кислота и по 0,2; 0,3; 0,4 мл раствора ПЛГА соответственно. Полученные растворы перемешивали и высушивали под вакуумом. В результате на дне емкости образовывалась пленка полимерной матрицы из АПК – пальмитиновая кислота – ПЛГА.

Наибольшая скорость выхода АПК отмечается в первые сутки эксперимента (рис. 2). За первые 24 ч экскретируется примерно 50 % полиар-

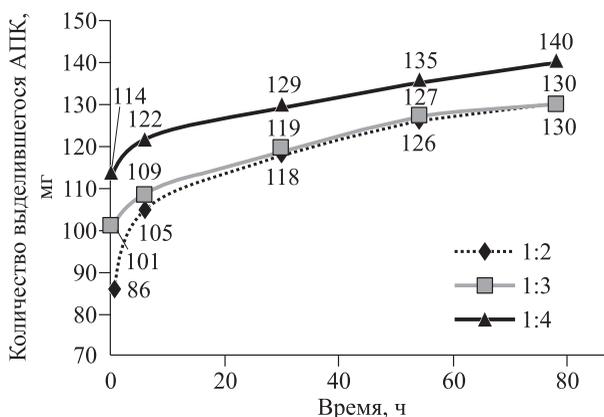


Рис. 2. Кинетика выхода АПК из полимерной матрицы

Параметры кинетики АПК из полимерной матрицы

Соотношение АПК и ПЛГА	Количество выделившегося АПК из покрытия в момент времени, мг					
	0	30 мин	6 ч	30 ч	54 ч	78 ч
1:2	200	86	105	118	126	130
1:3	200	101	109	119	127	130
1:4	200	114	122	129	135	140

гина (таблица). Это обстоятельство является чрезвычайно интересным и важным, поскольку NO-обусловленная вазодилатация необходима сразу после коронарного вмешательства. Она обеспечивает устранение посттравматического вазоспазма и адекватную перфузию бассейна инфаркт-связанной коронарной артерии. Последующая кинетика выхода АПК позволяет рассчитывать на пролонгированную дотацию клеток эндотелия предшественниками NO. После трех суток наблюдения около 40 % АПК остается в полимерной матрице (см. таблицу). Очевидно, что в данном эксперименте удалось создать пролонгированную элютинг-систему для АПК. Таким образом, проведенные исследования позволяют рассматривать комплекс «АПК–пальмитиновая кислота–ПЛГА» как перспективное лекарственное покрытие для коронарных стентов.

Представленная экспериментальная работа выполнена в рамках исполнения Новосибирским государственным медицинским университетом

Минздрава России Государственного задания по теме: «Создание медицинских изделий для рентгенхирургического лечения инфаркта миокарда и тромбозмембранных осложнений», Рег. № 115060410034 (2015-2017).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Мадонов П.Г., Дубровин А.В., Мирошников П.Н. и др. Электронно-лучевая модификация коронарных стентов с лекарственным покрытием // Мед. и образ. в Сибири. 2015. (5). http://ngmu.ru/cozo/mos/article/text_full.php?id=1923. Дата обращения 13.10.2016.
2. Пат. 2549908 РФ. Биodeградируемые аргинин-содержащие полимеры / В.В. Самуков, Д.В. Ярославцев, А.В. Артамонов и др.; Опубл. 12.03.2014.
3. Jaffery Z., Prasad A., Lee J.H., White C.J. Drug-eluting coronary stents – focus on improved patient outcomes // Patient Relat. Outcome Meas. 2011. 2. 161–174.

PHARMACOLOGICAL MODIFICATION OF CORONARY STENTS

**Igor Olegovich MARINKIN, Pavel Gennad'evich MADONOV,
Svetlana Vladimirovna MISHENINA, Andrey Vladimirovich DUBROVIN,
Pavel Nikolaevich MIROSHNIKOV, Konstantin Igorevich Yershov,
Svetlana Vasil'evna POZDNYAKOVA**

*Novosibirsk State Medical University of Minzdrav of Russia
630091, Novosibirsk, Krasny av., 52*

The article presents data on the creation of innovative drug covering for coronary stents, which are used in the treatment of acute myocardial infarction. Objective: to determine kinetic parameters of polyarginine complex extraction from the coronary stents polymer matrix. Material and Methods: coronary stent, polymer matrix polylactide-glycolide, arginine polypeptide complex. Results: the new drug covering for a coronary stent which possesses delayed polyarginine release from polymeric matrix is created.

Key words: coronary stent, the drug coverings for coronary stents, polyarginine, acute myocardial infarction.

Marinkin I.O. – doctor of medical sciences, professor, rector

Madonov P.G. – doctor of medical sciences, professor, head of the chair for pharmacology, clinical pharmacology and evidentiary medicine, e-mail: madonov@scpb.ru

Mishenina S.V. – candidate of medical sciences, associated professor of the chair for pharmacology, clinical pharmacology and evidentiary medicine

Dubrovin A.V. – researcher of central research laboratory

Miroshnikov P.N. – researcher of central research laboratory

Yershov K.I. – candidate of medical sciences, assistant of the chair for pharmacology, clinical pharmacology and evidentiary medicine

Pozdnyakova S.V. – doctor of medical sciences, professor of the chair for pharmacology, clinical pharmacology and evidentiary medicine

РОСТ СУСТАВНОГО ХРЯЩА: ИЗМЕНЕНИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПУЛОВ И СОСТАВА ПРОТЕОГЛИКАНОВ ХРЯЩА КОЛЕННОГО СУСТАВА МИНИ-СВИНЕЙ В ОНТОГЕНЕЗЕ

Татьяна Васильевна РУСОВА, Анастасия Александровна ВОРОПАЕВА,
Владислав Сергеевич БАИТОВ

Новосибирский НИИ травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна Минздрава России
630091, г. Новосибирск, ул. Фрунзе, 17

Биохимическими методами исследовали состав и связи протеогликанов/гликозаминогликанов (ГАГ) с компонентами матрикса хряща коленного сустава мини-поросят в динамике постнатального роста. Использовали животных новорожденных, в возрасте 14 дней, 1, 2 и 6 месяцев. Протеогликаны выделяли последовательно 0,14 М NaCl, раствором 4 М гуанидин-HCl и папаина. Определяли количество сульфатированных ГАГ, уроновых кислот, галактозы. В процессе роста в ткани накапливается кератансульфат, существенно меняется количество протеогликанов, соотношение свободных и прочно связанных с сетью коллагена молекул. Эти изменения отражают процессы экспансивного роста ткани и укрепления сети коллагена с возрастом.

Ключевые слова: суставной хрящ, коленный сустав, мини-свиньи, рост, протеогликаны, гликозаминогликаны.

Уникальные физиологические и биомеханические свойства суставного хряща зависят от структуры ткани, основу которой составляют протеогликаны (ПГ) и коллаген. Структурно и функционально эти молекулы тесно связаны: большие ПГ формируют гелеобразные структуры и, будучи встроенными в сеть коллагена, создают сопротивление сжимающим нагрузкам, а также определяют скольжение поверхностей суставного хряща. Основной большой ПГ хряща, агрекан, представляет собой сложную макромолекулу, состоящую из центральной нити белка и многочисленных боковых ковалентно присоединенных к ней цепей – гликозаминогликанов (ГАГ) – хондроитинсульфата и кератансульфата. Высокий отрицательный заряд ГАГ, удерживающих вокруг себя катионы и воду, обеспечивает обратимую деформацию ткани под нагрузкой. Малые ПГ участвуют в формировании коллагеновых фибрилл. Волокна коллагена образуют своеобразную сеть и обеспечивают хрящевой ткани устойчивость к растяжению.

Как и во многих тканях опорно-двигательного аппарата [1], биохимический состав хряща претерпевает существенные изменения в процес-

се роста организма, в частности, качественного состава и пространственной организации коллагена и ГАГ [4, 16]. В соответствии с биохимическими сдвигами во время постнатального созревания тканей меняются механические свойства суставного хряща [9, 13, 23, 24]. На современном уровне знаний о молекулярном строении хряща специалисты по тканевой инженерии стремятся воспроизвести процесс образования суставного хряща *in vitro* [18]. Поэтому знание сборки матрикса в процессах развития необходимо для понимания патологических процессов в суставах, таких как остеоартроз, поисков способов эффективного восстановления хряща и создания искусственных тканей методом тканевой инженерии.

Цель нашего исследования заключалась в изучении изменения состава и структуры ПГ хряща коленного сустава в динамике роста мини-свиней. Для этого мы применили стратегию исследования эффективности связей ПГ и их агрегатов с компонентами внеклеточного матрикса хряща с возрастом *in situ*, используя протоколы дифференциальной экстракции, разработанные с учетом специфических взаимодействий ПГ с компонентами матрикса хряща.

Русова Т.В. – к.б.н., старший научный сотрудник лабораторно-экспериментального отдела,
e-mail: TRusova@niito.ru

Воропаева А.А. – к.б.н., научный сотрудник Отдела инноваций и интеллектуальной собственности,
e-mail: Voropaeva2011@rambler.ru

Байтов В.С. – старший научный сотрудник отделения эндопротезирования, e-mail: VBaitov@I.st.ru

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В эксперименте использовали 21 мини-свинью в возрасте от новорожденных до 6 месяцев по 4–5 животных в группе из экспериментального хозяйства Института Цитологии и генетики СО РАН. Животных выводили из эксперимента в утренние часы в соответствии с положениями Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации, рекомендациями, содержащимися в директивах ЕС (86/609ЕС), и «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» передозировкой наркоза (введением кетамина 5 %, трехкратной разовой дозы). Хрящ забирали с нагружаемой поверхности латерального и медиального мыщелков бедренной кости. Нарезанные кусочки хряща последовательно экстрагировали 10 объемами следующих растворителей в течение 24 ч при +4 °С в присутствии ингибиторов протеаз: 1 – 0,14 М NaCl в растворе фосфатного буфера (phosphate buffer solution – PBS), рН 7,0, обеспечивает выделение из ткани свободных молекул и агрегатов ПГ; 2 – 4 М гуанидин-НСl в 50 мМ ацетате натрия рН 6,8, который извлекает большие ПГ хряща и их комплексы, встроенные в функционально активный матрикс; 3 – оставшуюся нерастворенную ткань обрабатывали раствором папаина (2 мг/г сырой ткани) в 0,2 М ацетате натрия рН 5,8, который позволяет разрушить сеть коллагеновых фибрилл и выделить ПГ, прочно связанные с этой сетью. После экстракции каждым из растворителей отбирали аликвоту раствора, в которой определяли количество сульфатированных ГАГ (СГАГ) [3]. ПГ очищали ионообменной хроматографией на сефадексе ДЕАЕ А-25, осаждали спиртом в присутствии 2,5 % ацетата калия, высушивали и растворяли в воде.

В ткани определяли содержание воды путем взвешивания кусочков до и после высушивания при +120 °С до постоянного веса. Количественные результаты рассчитаны в микрограммах

хондроитинсульфата-С, уроновых кислот и галактозы на миллиграмм сухого веса ткани. Количество ПГ определяли по содержанию в их углеводной части сульфатированных ГАГ (СГАГ) с 1,9-диметилметиленовым голубым и гексуроновых кислот карбазоловым методом, гексоз (галактоза) антроновым методом, как описано в [3].

Статистическую обработку результатов исследования проводили, вычисляя среднее арифметическое значение (M), ошибку среднего арифметического значения (m), и представляли в виде $M \pm m$. Различия между группами оценивали с помощью критерия Манна–Уитни, достоверными считались результаты при $p < 0,05$. Связь между различными признаками в исследуемой выборке определялась с помощью корреляционного анализа величиной коэффициента корреляции Спирмена (r).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

С возрастом меняется содержание воды в ткани суставного хряща (таблица). Наибольшее ее количество обнаружено у новорожденных и двухнедельных животных. К первому месяцу жизни мини-свиней выявляется достоверная разница этого показателя по сравнению с новорожденными мини-свиньями. Ко второму месяцу жизни содержание воды в хряще снижается далее на 15 % относительно первого месяца. В 6 месяцев содержание воды в хряще мини-свиней увеличивается и достигает значений 1-месячных животных. Примечательно, что содержание воды в хряще 6-месячных мини-свиней совпадает с уровнем жидкости в суставном хряще у взрослых людей [2]. Во все отмеченные периоды роста количество воды в ткани хорошо коррелирует с общим содержанием ГАГ ($r = 0,68$) (см. таблицу), поэтому мы предполагаем, что у 6-месячных животных в ткани присутствует значительное количество больших ПГ, обладающих высокой осмотической активностью.

Таблица

Общее количество химических компонентов ГАГ в протеогликанах суставного хряща мини-поросят разного возраста

Возраст	H ₂ O, %	СГАГ	Уроновые кислоты	Галактоза
1 сут	76,2 ± 7,28	23,1 ± 6,25	9,5 ± 4,78	0,9 ± 0,11
2 нед	70,5 ± 8,56	15,1 ± 5,23*	11,4 ± 5,06	2,9 ± 0,81*
1 мес	64,3 ± 4,56*	8,3 ± 2,89*#	4,8 ± 2,09*#	3,5 ± 1,07*
2 мес	48,3 ± 8,68*#	5,5 ± 1,95*	3,5 ± 1,21*	2,4 ± 1,03*
6 мес	61,4 ± 6,89*#	21,8 ± 8,26#	25,6 ± 7,13*#	14,3 ± 5,87*#

Примечание. Количество химических компонентов ГАГ рассчитано в мкг чистого вещества на мг сухого веса ткани. Здесь и на рисунке данные представлены как $M \pm m$; обозначены статистически значимые отличия от величин соответствующих показателей новорожденных (* – при $p < 0,05$, ** – при $p < 0,01$) и предыдущего периода (# – при $p < 0,05$, ## – при $p < 0,01$).

Общее количество ГАГ, определяемое по содержанию СГАГ, максимально у новорожденных животных (см. таблицу). Далее, по мере роста, оно снижается, а затем увеличивается. Так, у 2-недельных животных отмечена тенденция к снижению количества СГАГ по сравнению с новорожденными, а достоверное снижение – приблизительно в 2 раза – в возрасте первого месяца жизни. К возрасту двух месяцев происходит дальнейшее снижение этого показателя на треть по сравнению с предыдущим периодом, что в 3 раза меньше по сравнению с 2-недельными и в 4 раза – по сравнению с новорожденными животными. К шести месяцам количество СГАГ в хряще поднимается до уровня новорожденных мини-свиней.

В динамике роста суставного хряща мини-свиней количество уроновых кислот претерпевает сначала спад, а затем увеличение и повторяет возрастную динамику СГАГ вплоть до кратности снижения/увеличения их количества. В возрасте 1 и 2 месяца количество уроновых кислот в хряще мини-поросят снижено в 2–3 раза относительно уровня новорожденных и двухнедельных животных соответственно и достигает максимальных значений у полугодовалых. Такая же кратность снижения в эти же периоды была и у СГАГ. Поскольку уроновые кислоты входят в состав как хондроитинсульфата, так и гиалуроновой кислоты, их количество отражает изменение качественного состава ГАГ и ПГ, обладающих большой осмотической активностью, такими как агрекан и гиалуроновая кислота.

Количество галактозы в структуре ГАГ уже через 2 недели жизни мини-поросят выше, чем у новорожденных в 3 раза. С двух недель до двух месяцев значение этого показателя не изменяется, а к полугоду жизни увеличивается в 7 раз относительно более молодых животных, что отражает накопление кератансульфата, где этот углевод является структурной единицей дисахаридов ГАГ. Этот факт согласуется с увеличением содержания кератансульфата в тканях опорно-двигательного аппарата с возрастом [1]. Таким образом, у мини-свиней в период становления функции коленного сустава и последующего увеличения объема хряща изменяется количество и качественные характеристики ГАГ.

Чтобы приблизиться к выявлению динамики структурной перестройки ткани хряща и вовлеченности в этот процесс ПГ/ГАГ, мы использовали схему последовательной экстракции соединений разными растворителями, что позволяет выделять молекулы ПГ, взаимодействующие с разной силой с компонентами матрикса хряща.

Молекулы ПГ, экстрагируемые 0,14 М NaCl в PBS, свободно выделяются из ткани, поскольку

ку их связи с другими компонентами матрикса еще не установлены, и они могут перемещаться в пространстве суставного хряща *in vivo*. Показано, что существует доля синтезированных молекул агрекана (основного ПГ хряща), имеющих низкое сродство к гиалуроновой кислоте, которые созревают спустя некоторое время до формы с высоким сродством и только тогда участвуют в формировании агрегатов [7, 17, 19]. Время преобразования синтезированного агрекана от свободной молекулы до составной части агрегатов в незрелом хряще кролика оценивается в 12 часов, у взрослых людей – 24 часа [8, 19]. Увеличение времени созревания позволяет синтезированным молекулам диффундировать через плотные слои ткани, прежде чем стать частью агрегата [22]. 4 М гуанидин-HCl позволяет выделить ПГ, включенные посредством различных связей в функционально активный внеклеточный матрикс. Оставшиеся ПГ, доступные только после полного разрушения белковых структур матрикса папаином, участвуют в формировании «базовых» структур, в которых преобладают белковые образования с прочными поперечными связями.

Результаты наших исследований приведены на рисунке, где показано относительное содержание каждого из пулов ПГ в ткани в процентах от общего количества ПГ (за основу взят универсальный тест количества СГАГ). Структурная организация хряща на супрамолекулярном уровне, судя по силе связывания ПГ с компонентами внеклеточного матрикса, в период роста существенно изменяется. Так, относительное количество свободных ПГ, выделяемых 0,14 М NaCl в PBS, наибольшего значения достигает у новорожденных животных – до трети всего количества. В возрасте двух недель оно уменьшается с 30 до 20 %, когда намечается тенденции к уменьшению содержания воды и СГАГ (см. таблицу). Это может свидетельствовать о начале процесса расширения сети коллагена, что отражается на относительном увеличении пула прочно связанных с этой сетью ПГ (см. рисунок).

В возрасте одного-двух месяцев доля пула свободных ПГ достигает наименьшего значения – десятой части всех экстрагируемых ПГ, что на 63 % меньше по сравнению с новорожденными и на 35 % – по сравнению с 2-недельными животными (см. рисунок). При этом в возрасте одного месяца значительно увеличивается доля ПГ, встроенных в функциональный матрикс ткани, и снижается доля ПГ, прочно связанных с сетью коллагена. Такие изменения функциональных пулов ПГ в этом возрасте могут быть связаны с периодами созревания хрящевого матрикса и экспансивного роста хряща,

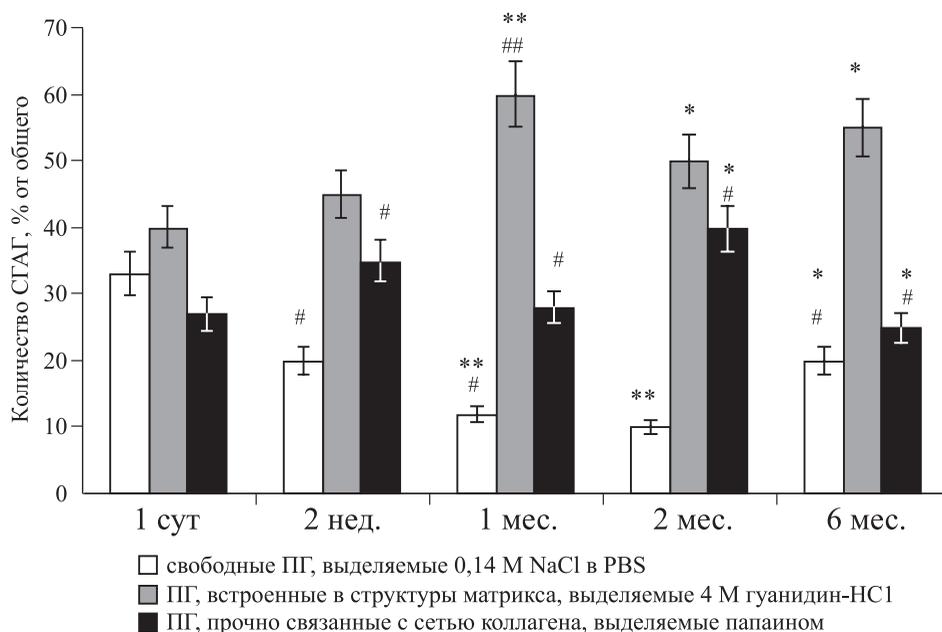


Рис. Распределение сульфатированных ГАГ из разных пулов ПГ, выделяемых последовательно 0,9 % NaCl в PBS, 4 М гуанидина гидрохлоридом и раствором папаина из хряща коленного сустава мини-поросят разного возраста

что отражается на относительном количестве ПГ, встроенных в структуру матрикса и выделяемых гуанидин-НСl.

В возрасте двух месяцев увеличивается доля ПГ, прочно связанных с сетью коллагена (см. рисунок), а значит, как и в возрасте двух недель, вновь наступает период усиленного синтеза коллагена и упорядочивания его фибрилл, связанный с ростом и необходимостью укрепления ткани сустава. На это также указывает снижение содержания воды.

К шести месяцам молекулярная структура суставного хряща мини-поросят вновь претерпевает изменения, на этот раз – снова в сторону экспансивного увеличения объема, о чем свидетельствует увеличение содержания воды, урановых кислот, галактозы, СГАГ (см. таблицу) и доли новосинтезированных ПГ, с одновременным относительным уменьшением доли ПГ, прочно связанных с сетью коллагена (см. рисунок).

Таким образом, в процессе роста мини-свиной значительно изменяется структура и стехиометрия молекул ПГ. Наши данные свидетельствуют о том, что у мини-свиной в процессе роста довольно быстро происходит молекулярная перестройка матрикса в направлении формирования прочной ткани, максимально соответствующей потребностям функции сустава.

В наших исследованиях высокая доля свободных ПГ, выделяемых 0,14 М NaCl в PBS, найдена у новорожденных животных (около 35 % общего количества СГАГ). В последующую половину

года жизни относительный объем свободных ПГ суставного хряща меняется – то снижаясь, то возрастая, что, вероятно, отражает активность синтеза молекул ПГ и их вовлеченность в формирование агрегатов.

Молекулы ПГ, участвующие в формировании волокон коллагена, не доступны для выделения 4 М гуанидин-НСl и обнаруживаются только после разрушения самих волокон. В экспериментах *in vitro* показано, что формирование сети коллагена происходит на фоне низкого содержания ГАГ и низкого гидростатического давления [5, 12, 14, 15, 18, 20, 25]. Эти условия необходимы для нивелирования функциональной напряженности сети коллагена, создаваемой свойством ПГ удерживать воду. В ослабленной сети, лишенной избытка ПГ, накапливаются новые молекулы коллагена, тем самым упрочняется и расширяется фибриллярная сеть хряща. Нами отмечено, что снижение общего количества ГАГ в ткани хряща совпадает по времени с его относительным увеличением в экстрактах раствором папаина, т. е. развитие сети коллагена сопровождается накоплением так называемых малых ПГ, связанных с сетью коллагена и участвующих в ее формировании (см. таблицу, рисунок). Напротив, увеличение объема ткани ассоциируется с повышением количества общих ПГ/ГАГ, с преобладанием хондроитинсульфата и относительно низким количеством ПГ, связанных с сетью коллагена. Такое соотношение обнаружено в хряще новорожденных и 6-месячных животных.

Таким образом, наши результаты отражают своеобразное чередование увеличения объема ткани и прочности суставного хряща за счет развития сети коллагена в процессе роста. Экспансивный рост ткани происходит в условиях накопления общих и относительно высокого уровня свободных ПГ/ГАГ. «Созревание» матрикса – образование прочной сети коллагена – происходит на фоне относительно низкого содержания общих ПГ и повышенного уровня молекул, связанных с сетью коллагена. Изменения с возрастом состава ПГ/ГАГ проявляются в повышении механических свойств хряща – увеличивается сопротивление силам сжатия и растяжения [23, 24].

Наши данные свидетельствуют о чередовании периодов роста и «созревания» ткани хряща мини-свиней. В первые две недели жизни отмечено сокращение пула свободных ПГ, тенденция к снижению общего количества ПГ/ГАГ и накопление кератансульфата, а также увеличение пула ПГ, прочно связанных с сетью коллагена. Уменьшение содержания в хряще СГАГ, уоновых кислот и свободных ПГ к первому месяцу жизни также происходит в течение двух недель. Вероятно, перестройка супрамолекулярной структуры матрикса хряща, связанная с чередованием периодов экспансивного роста и укрепления коллагеновой сети, может происходить довольно быстро.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Рост суставного хряща вместе с ростом животных и адаптация ткани к механическим нагрузкам выражается в модуляции обмена количественного и качественного состава протеогликанов/гликозаминогликанов. Одним из важных аспектов «созревания» ткани является расширение и укрепление сети коллагена, которое происходит на фоне снижения в ткани общего количества гликозаминогликанов и увеличения их доли, прочно связанной с коллагеном. Доступность протеогликанов хряща для выделения разными растворителями определяется специфичностью связей этих молекул с компонентами матрикса и отражает процессы ремоделирования ткани, связанные с экспансивным ростом и взаимодействием протеогликанов с сетью коллагена. Периодичность роста выражается в смене периодов увеличения объема ткани и расширения и укрепления сети коллагена, изменении качественного и количественного состава гликозаминогликанов матрикса и формировании специфических связей протеогликанов с компонентами внеклеточного матрикса хряща.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Ершов К.И., Русова Т.В., Фаламеева О.В. и др. Гликозаминогликаны костного матрикса при развитии остеопороза у преждевременно стареющих крыс OXYS // Успехи геронтологии. 2009. (2). 285–291.
2. Николаева С.С., Чхол К.З., Быков В.А. и др. Биохимические и влагообменные характеристики поверхностного слоя суставного хряща человека // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 2002. (5). 390–393.
3. Русова Т.В., Строчкова Е.Л., Воронаева А.А., Щелкунова Е.И. Особенности метаболизма протеогликанов из разных топографических зон коленного сустава у больных остеоартрозом: вариабельность фенотипа хондроцитов // Сиб. науч. мед. журн. 2013. (33). 379–383.
4. Archer C.W., Morrison E.H., Bayliss M.T., Ferguson M.W. The development of articular cartilage: II. The spatial and temporal patterns of glycosaminoglycans and small leucine-rich proteoglycans // J. Anat. 1996. 189. (Pt. 1). 23–35.
5. Asanbaeva A., Masuda K., Thonar E.J. et al. Mechanisms of cartilage growth: modulation of balance between proteoglycan and collagen in vitro using chondroitinase ABC // Arthritis Rheum. 2007. (56). 188–198.
6. Bastiaansen-Jenniskens Y.M., Koevoet J.L.M., Feijt C. et al. Proteoglycan production is required in initial stages of new cartilage matrix formation but inhibits integrative cartilage repair // J. Tissue Eng. Regen. Med. 2009. 3. 117–123.
7. Bayliss M.T., Ridgway G.D., Ali S.Y. Differences in the rates of aggregation of proteoglycans from human articular cartilage and chondrosarcoma // Biochem. J. 1983. 215. 705–708.
8. Bayliss M.T., Howat S., Davidson C. et al. The organization of aggrecan in human articular cartilage. Evidence for age-related changes in the rate of aggregation of newly synthesized molecules // J. Biol. Chem. 2000. 275. 6321–6327.
9. Craig F.M., Bentley G., Archer C.W. The spatial and temporal pattern of collagens I and II and keratan sulphate in the developing chick metatarsophalangeal joint // Development. 1987. 99. 383–391.
10. Hunziker E.B., Kapfinger E., Geiss J. The structural architecture of adult mammalian articular cartilage evolves by a synchronized process of tissue resorption and neof ormation during postnatal development // Osteoarthritis Cartilage. 2007. 15. 403–413.
11. Jadin K.D., Bae W.C., Schumacher B.L. et al. Three-dimensional (3-D) imaging of chondrocytes in articular cartilage: growth-associated changes in cell organization // Biomaterials. 2007. 28. 230–239.
12. Karsdal M.A., Madsen S.H. Cartilage degradation is fully reversible in the presence of aggrecanase

but not matrix metalloproteinase activity // *Arthritis Res. Ther.* 2008. 10. R63.

13. *Kempson G.E.* Relationship between the tensile properties of articular cartilage from the human knee and age // *Ann. Rheum. Dis.* 1982. 41. 508–511.

14. *Khan I.M., Gonzalez L.G., Francis L. et al.* Interleukin-1 β enhances cartilage-to-cartilage integration // *Eur. Cell Mater.* 2011. 22. 190–201.

15. *Klisch S.M., Chen S.S., Sah R.L. et al.* A growth mixture theory for cartilage with applications to growth-related experiments on cartilage explants // *J. Biomech. Eng.* 2003. 125. 169–179.

16. *Morrison E.H., Ferguson M.W., Bayliss M.T., Archer C.W.* The development of articular cartilage: The spatial and temporal patterns of collagen types // *J. Anat.* 1996. 189. 9–22.

17. *Oegema T.R.* Delayed formation of proteoglycan aggregate structures in human articular cartilage disease states // *Nature.* 1980. 288. 583–585.

18. *Ofek G., Revell C.M., Hu J.C. et al.* Matrix development in self-assembly of articular cartilage // *PLoS ONE.* 2008. 3. (7). e2795.

19. *Sandy J.D., O'Neill J.R., Ratzlaff L.C.* Acquisition of hyaluronate binding affinity *in vivo* by newly synthesized cartilage proteoglycans // *Biochem. J.* 1989. 258. 875–880.

20. *Siczkowski M., Watt F.M.* Subpopulations of chondrocytes from different zones of pig articular Cartilage Isolation, growth and proteoglycan synthesis in culture // *J. Cell Sci.* 1990. 97. 349–360.

21. *Thonar E.J., Buckwalter J.A., Kuettner K.E.* Maturation-related differences in the structure and composition of proteoglycans synthesized by chondrocytes from bovine articular cartilage // *J. Biol. Chem.* 1986. 261. 2467–2474.

22. *Wells T., Davidson C., Mörgelein M. et al.* Age-related changes in the composition, the molecular stoichiometry and the stability of proteoglycan aggregates extracted from human articular cartilage // *Biochem. J.* 2003. 370. 69–79.

23. *Williamson A.K., Chen A.C., Sah R.L.* Compressive properties and function-composition relationships of developing bovine articular cartilage // *J. Orthop. Res.* 2001. 19. 1113–1121.

24. *Williamson A.K., Chen A.C., Masuda K. et al.* Tensile mechanical properties of bovine articular cartilage: variations with growth and relationships to collagen network components // *J. Orthop. Res.* 2003. 21. 872–880.

25. *Williams G.M., Klisch S.M., Sah R.L.* Bioengineering cartilage growth, maturation, and form // *Pediatr. Res.* 2008. 63. 527–534.

ARTICULAR CARTILAGE GROWTH: CHANGES IN COMPOSITION AND FUNCTIONAL POOL OF PROTEOGLYCANS OF KNEE JOINT CARTILAGE OF MINI-PIGS IN AN ONTOGENESIS

Tatyana Vasil'evna RUSOVA, Anastasiya Aleksandrovna VOROPAeva,
Vladislav Sergeevich BAITOV

*Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopaedics n.a. Ya.L. Tsyvjan
630091, Novosibirsk, Frunze str., 17*

Composition and links between proteoglycans/glycosaminoglycans (GAGs) and matrix components of knee cartilage in mini-pigs were studied using biomedical methods in dynamics of postnatal growth. Newborns and animals at the age of 14 days, 1, 2 and 6 months were used. Proteoglycans were extracted sequentially with 0,14 M NaCl, solution of 4M guanidine hydrochloride and papain. The amounts of sulfated GAGs, uronic acids, and galactose were determined. The accumulation of keratan sulfate, and the dynamical changes in the amount of proteoglycans and in the ratio of free molecules and those associated with collagen network were revealed in the tissue during the growth process. These changes reflect the expansive growth of tissue and strengthening of the collagen network with age.

Key words: articular cartilage, knee joint, mini-pigs, growth, proteoglycans, glycosaminoglycans.

Rusova T.V. – candidate of biological sciences, senior researcher of the laboratory experimental department,
e-mail: TRusova@niito.ru

Voropaeva A.A. – candidate of biological sciences, researcher of laboratory experimental department,
e-mail: Voropaeva2011@rambler.ru

Baitov V.S. – candidate of medical sciences, senior researcher of arthroplasty department, e-mail:
e-mail: VBaitov@1st.ru

ЭНДОПРОТЕЗИРОВАНИЕ ПЕРВОГО ПЛЮСНЕФАЛАНГОВОГО СУСТАВА КАК АЛЬТЕРНАТИВА АРТРОПЛАСТИЧЕСКОЙ РЕЗЕКЦИИ ПО ШЕДЕ–БРАНДЕСУ В КОМПЛЕКСЕ ЛЕЧЕНИЯ HALLUX RIGIDUS

**Игорь Анатольевич ПАХОМОВ, Василий Викторович КУЗНЕЦОВ,
Андрей Васильевич РЕПИН, Сергей Борисович КОРОЧКИН,
Валерий Михайлович ПРОХОРЕНКО, Михаил Анатольевич САДОВОЙ**

*Новосибирский НИИ травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна Минздрава России
630091, Новосибирск, ул. Фрунзе, 17*

Высокая заболеваемость hallux rigidus (HR), выраженность нарушений анатомии и функции стопы при HR, несовершенство существующих методов его лечения, закономерно приводящее к неудовлетворительным результатам лечения, являются причиной неудовлетворенности пациентов и врачей. Поэтому продолжают поиски оптимального метода лечения данного заболевания. Основными методами лечения в наше время являются артропластическая резекция (операция Шеде–Брандеса) и артродез первого плюснефалангового сустава, но в последние годы приобретает особое значение эндопротезирование первого плюснефалангового сустава, к которому сохраняется скептическое отношение у ряда исследователей. Для формирования собственного мнения по данному вопросу проведено исследование, в котором сравнивались результаты артропластической резекции и эндопротезирования первого плюснефалангового сустава керамическим эндопротезом. Эндопротезирование продемонстрировало преимущества в виде лучших функциональных результатов, хотя и сопровождалось несколько большим количеством осложнений.

Ключевые слова: hallux rigidus, эндопротезирование первого плюснефалангового сустава, операция Шеде–Брандеса, большой палец ноги, артропластическая резекция.

Первое описание данного заболевания под названием hallux flexus сделано Davies-Colley в докладе для Лондонского клинического общества в 1887 г. [6]. Четыре месяца спустя Cotterill предложил термин «hallux rigidus», который оказался наиболее удобным для обозначения деформирующего артроза первого плюснефалангового сустава (ППФС) несмотря на существование множества синонимов, таких как hallux limitus, hallux dolorosus, metatarsus non extensus, дорзальный костно-хрящевой экзостоз, болезнь «сборщика мидий» (winkle-picker) и metatarsus primus elevatus [4, 6]. История и терминология были подытожены выдающимся исследователем стопы Kelikian в 1965 г. По системе МКБ-10 определение заболевания звучит как «Ригидный большой палец стопы» и обозначено шифром M20.2 [1], заболеваемость высокая – у 1 из 45 лиц старше

50 лет, это помимо возникновения HR при системных поражениях, исходах травм и т. д. [6]. Большинство исследователей указывают на превалирование мужчин в общем количестве заболевших и 2-стороннее поражение стоп, из которых один ППФС больше затронут дегенеративным процессом и более болезнен. Хирургия дегенеративных поражений ППФС прошла то же развитие, что и хирургия тазобедренного и коленного сустава (а именно: артропластическая резекция – артродез ППФС – эндопротезирование ППФС), и в настоящее время мы наблюдаем развитие эндопротезирования ППФС [4, 11, 12, 16].

Предложены, оценены и отвергнуты разнообразные имплантаты и хирургические приемы. Так, для эндопротезирования ППФС оказалось полностью неприемлемыми как цементная фиксация, так и конструкции из силикона [14, 15, 17].

*Пахомов И.А. – д.м.н., ведущий научный сотрудник, зав. травматологическим отделением № 5,
e-mail: pahomovigor@inbox.ru*

Кузнецов В.В. – врач-травматолог-ортопед ТО № 5

Репин А.В. – врач-травматолог-ортопед ТО № 5

Корочкин С.Б. – к.м.н., врач-травматолог-ортопед ТО № 5

Прохоренко В.М. – д.м.н., проф., зам. директора по научно-лечебной работе, руководитель клиники эндопротезирования и эндоскопической хирургии суставов, зав. кафедрой травматологии и ортопедии

Садовой М.А. – д.м.н., проф., директор, зав. кафедрой организации здравоохранения и общественного здоровья ФПК и ППВ, e-mail: niito@niito.ru

За прошедшие годы в качестве материалов для эндопротеза использовались нержавеющая сталь, хром-кобальтовые сплавы, титан и др. [5–9, 18]. На сегодняшний день перспективными представляются двухкомпонентные пресс-фит эндопротезы ППФС с парой трения «керамика-керамика» [2]. Собственные результаты их использования оставили благоприятное впечатление, и в связи с этим возник вопрос: что же лучше – эндопротезирование или широко распространенная в среде ортопедов-травматологов «артропластическая резекция по Шеде–Брандесу» (операция Keller в англоязычной литературе) [6]? Нами сделана попытка ответить на данный вопрос в ходе представленного клинического ретроспективного исследования в клинике Новосибирского НИИ травматологии и ортопедии.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Проанализированы отдаленные результаты лечения 220 пациентов, страдающих HR третьей степени по Н.С. Косинской [3] (79 (35,7 %) мужчин и 141 (64,3 %) женщина), оперированных в клинике Новосибирского НИИ травматологии и ортопедии с 2001 по 2015 г. Больные были разделены на 2 группы (основная и контрольная) в зависимости от применявшегося метода хирургического лечения. У всех пациентов проведена оценка результатов лечения через 1–1,5 года после операции, во время которой фиксировались динамика болевого синдрома, объем движений в ППФС (измерялся угломером). В контрольную группу вошли 52 человека (31 (60 %) женщина и 21 (40 %) мужчина), средний возраст $52,0 \pm 8,5$ года, средний срок заболевания $12,6 \pm 6,7$ года до обращения за помощью. Во вторую группу включены 168 пациентов (104 (62 %) женщины и 64 (38 %) мужчины), средний возраст $49,0 \pm 1,5$ года, средний срок заболевания $12,6 \pm 6,5$ года до обращения за помощью.

Перед операцией всем пациентам проводилась рентгенография обеих стоп в прямой и боковой проекциях в положении опоры (функциональные снимки первого ПФ не выполняли ввиду «качательного» характера пассивных и активных движений в ППФС или полного их отсутствия). Для контроля правильности положения компонентов эндопротеза во время операции всем проведен интраоперационный рентгенографический контроль (с помощью электронно-оптического преобразователя) стоп в двух проекциях. Через 12 месяцев после операции проведена рентгенография обеих стоп в прямой и боковой проекциях в положении опоры, а также функциональная рентгенография плюснефаланговых суставов в боковой проекции

в положении сгибания, разгибания первого пальца для окончательной оценки результатов лечения.

Всем пациентам контрольной группы проведено оперативное лечение по классической методике – артропластическая резекция по Шеде–Брандесу, в основной группе – эндопротезирование ППФС керамическим эндопротезом. В послеоперационном периоде пациентам обеих групп рекомендовался ортопедический режим, состоявший в исключении нагрузки на передний отдел стопы в течение четырех недель, перевязки до полного заживления операционной раны, физиолечение. С пятой недели пациенты начинали дозированную опору на всю поверхность стопы, для восстановления движения в ППФС проводилась ЛФК специализированным циклом. Трудоспособность восстанавливалась через 4–4,5 месяца.

Через 1 год после операции исследованы ее клинические, рентгенологические, функциональные результаты: динамика боли по VAS, функциональные показатели по адаптированной к переднему отделу стопы шкале AOFAS, объем движений в первом плюснефаланговом суставе с помощью гониометра.

Обработку полученных результатов исследования проводили с использованием описательной статистики и путем сравнения качественных и количественных признаков в исследуемых группах пациентов. Данные представлены в виде среднего арифметического (M) и его стандартной ошибки (m). Достоверность различий между сравниваемыми средними величинами исследуемых параметров в группах пациентов оценивали с помощью непараметрического U-критерия Манна–Уитни. Уровень пороговой статистической значимости (p) при этом принимали равным 0,01. Анализ качественных признаков проводили с помощью точного критерия Фишера, различия сравниваемых величин считали достоверными при значениях, не превышающих порогового уровня, определенного в 0,01 ($p < 0,01$).

РЕЗУЛЬТАТЫ

У пациентов основной группы получен 151 (90 %) хороший и удовлетворительный результат, больные отмечали значительное снижение болевого синдрома, восстановление опоры на внутреннюю сторону стопы, повышение комфортности ношения обуви (рис. 1). Увеличился объем движений в ППФС (табл. 1). В контрольной группе количество хороших и удовлетворительных результатов было значительно меньше – 30 (58,7 %) (табл. 2). Причиной неудовлетворительных результатов в основной группе стали 8 осложнений (табл. 3.), из которых наиболее тяжелыми были



Рис. 1. Рентгенограммы больного Г., 50 лет. Рентгенография обеих стоп до операции эндопротезирования первого плюснефалангового сустава (а, б) и через 7,5 года после операции (в, г). Хороший результат

Таблица 1

Клинические и функциональные результаты хирургического лечения *hallux rigidus* в группах сравнения

Результат	Основная группа (n = 168)		Контрольная группа (n = 52)	
	До операции	Через 12 мес. после операции	До операции	Через 12 мес. после операции
Тыльная флексия, °	5,4 ± 6,2	25,6 ± 5,3 *,**	5,9 ± 4,3	8,5 ± 3,7
Подошвенная флексия, °	-0,2 ± 5,6	12,4 ± 3,2*,**	0,6 ± 4,5	6,2 ± 3,8
Объем движений в ППФС, °	4,6 ± 3,8	37,2 ± 4,1*,**	6,5 ± 1,8	9,3 ± 1,5
Оценка по шкале AOFAS, баллы	34,0 ± 5,2	80,2 ± 5,5*	43,7 ± 2,6	67,7 ± 6,4*
Оценка по шкале VAS, баллы	78,5 ± 7,1	29,3 ± 5,8*,**	76,7 ± 6,9	48,3 ± 4,5*

Примечание. Здесь и в табл. 2 обозначены статистически значимые ($p < 0,01$) отличия от величин соответствующих показателей: * – до хирургического лечения, ** – пациентов контрольной группы.

Таблица 2

Окончательные результаты хирургического лечения в группах сравнения

Результат	Основная группа (n = 168)	Контрольная группа (n = 52)
Хороший	109* (64,7 %)	6 (11,5 %)
Удовлетворительный	42* (25 %)	24 (47,2 %)
Неудовлетворительный	17* (10,3 %)	22 (42,3 %)

Таблица 3

Осложнения хирургического лечения в группах исследования.

Вид осложнения	Основная группа (n = 68)	Контрольная группа (n = 52)
Инфекция области хирургического вмешательства	3 (4,4 %)	0 (0 %)
Варусная деформация первого пальца	1 (1,5 %)	0 (0 %)
Нестабильность эндопротеза	2 (1,5 %)	0 (0 %)
Остаточная вальгусная деформация первого пальца	2 (3 %)	4 (7,7 %)
Всего	8 (10,3 %)	4 (7,7 %)



Рис. 2. Рентгенограммы больного Г., 48 лет. Прямая рентгенография стопы до операции артропластической резекции по Шеде–Брандесу (а, отмечается выраженный НР), после операции (б), результат через 1,5 года (в, отмечается рецидив фиброза, укорочение первого пальца стопы). Результат неудовлетворительный

инфекции области хирургического вмешательства. По характеру два нагноения были поздними, одно ранним. В одном случае причиной плохого результата была сформировавшаяся варусная деформация первого пальца. Причинами плохих результатов в контрольной группе стали неизбежные последствия артропластической резекции по Шеде–Брандесу в виде фиброза, тугоподвижности ППФС, болевого синдрома (рис. 2). Тяжелых осложнений в контрольной группе не встретилось, однако отмечены гипестезия кожи внутренней поверхности первого пальца как раздражения *pervus cutaneus dorsalis medialis*. Окончательная оценка функциональных, рентгенологических, клинических показателей лечения и осложнений представлена в табл. 2 и 3.

ОБСУЖДЕНИЕ

Методы хирургического лечения при НР проделали большой эволюционный путь со времени, когда Davies-Kolley в 1887 г. предложил резекцию основания основной фаланги первого пальца стопы. В наше время арсенал вмешательств значительно расширился, появились новые методы хирургического вмешательства. Также в профессиональной среде отмечается тенденция к дифференциации подходов к лечению в зависимости от особенностей морфологического субстрата поражения. Так, для молодых людей с высоким уровнем активности (включая спортсменов) предлага-

ется операция артродеза ППФС [12]. Для юных пациентов представляется более целесообразной клиновидная остеотомия основной фаланги первого пальца или шейки первой плюсневой кости [12]. В популяции пожилых лиц общепринятым вмешательством является артропластическая резекция первого плюснефалангового сустава по Keller [6, 12].

Однако низкий потенциал перечисленных методов (особенно артропластической резекции первого плюснефалангового сустава) для восстановления объема движений в ППФС привели к активному поиску в течение ряда лет более эффективных способов лечения. Многообещающим методом стало предложенное в начале 50-х годов XX столетия эндопротезирование ППФС. Наш опыт указывает на значительные преимущества эндопротезирования ППФС для увеличения объема движений и функции стопы по сравнению с принятыми методами. Все чаще в профессиональном сообществе звучат голоса, подтверждающие эту позицию [12], однако веским аргументом является относительно большее количество осложнений эндопротезирования, что подтвердилось и в нашем исследовании. Конечно, в контрольной группе не встретилось тяжелых осложнений, но количество неудовлетворительных результатов оказалось неприемлемо высоким. По данным литературы не все благополучно обстоит с прочностью конструкций для эндопротезирования. В нашей практике их разрушений не встретилось,

но настороженность к этим процессам присутствует в профессиональном сообществе. Много говорится о преимуществах операции артродеза ППФС [13], но для получения убедительных доказательств этого утверждения необходимо произвести отдельное исследование, что является нашей задачей на будущее.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Ретроспективное исследование показало, что операция эндопротезирования ППФС имеет значительные преимущества перед артропластической резекцией с точки зрения большего количества положительных результатов лечения. Так, после эндопротезирования надежнее снижается болевой синдром, в большей степени сохраняется и (или) увеличивается объем движений в замещенном суставе, что и является целью лечения. Отмеченное несколько более высокое количество осложнений не встанет на пути эндопротезирования и может быть нивелировано за счет накопления хирургического опыта, усовершенствования как конструкций, так и инструментария для имплантации.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Байтингер В.Ф., Хадыко Ю.А., Цуканов А.И. и др. МКБ-10 для хирургии голеностопного сустава и стопы // *Вопр. реконструктив. и пласт. хирургии*. 2003. (4). 51–67.
2. Корышков Н.А., Платонов С.М., Корышков А.Н., Яснев Д.С. Эндопротезирование мелких суставов стопы // *Вестн. травматологии и ортопедии*. 2005. (3). 74–76.
3. Косинская Н.С. Дегенеративно-дистрофические поражения костно-суставного аппарата. Клиническая рентгенодиагностика и экспертиза трудоспособности Л.: Медгиз, 1961. 245 с.
4. Пахомов И.А., Прохоренко В.М., Садовой М.А. Хирургическое лечение hallux rigidus // *Гений ортопедии*. 2008. (3). 86–90.
5. Broughton N., Doran A., Megitt B. Silastic ball spacer in the first metatarsophalangeal joint // *Foot Ankle*. 1989. 10. (2). 61–64.
6. Disorders of the foot and ankle: Medical and surgical management / Ed. M. Jahss. Saunders, 1991. 3274 p.
7. Giannini S., Ceccarelli F., Faldini C. et al. What's new in surgical options for hallux rigidus? // *J. Bone Joint Surg. Am.* 2004. 86-A. (Suppl. 2). 72–83.
8. Gordon M., Bullough P.G. Synovial and osseous inflammation in failed silicone-rubber prostheses // *J. Bone Joint Surg. Am.* 1982. 64. (4). 574–580.
9. Kitaoka H.B., Holiday A.D., Chao E.Y.S., Cahalan T.D. Salvage of failed first metatarsophalangeal joint implant arthroplasty by implant removal and synovectomy: clinical and biomechanical evaluation // *Foot Ankle*. 1992. 13. (5). 243–250.
10. Kline A.J., Hasselman C.T. Metatarsal head resurfacing for advanced hallux rigidus // *Foot Ankle Int.* 2013. 34. (5). 716–725.
11. Kumpner S.L. Total joint prosthetic arthroplasty of the great toe – a 12 year experience // *Foot Ankle*. 1984. 4. (5). 249–261.
12. Lin J., Murphy G.A. Treatment of hallux rigidus with cheilectomy using a dorsolateral approach // *Foot Ankle Int.* 2009. 30. (2). 115–119.
13. Mann R.A., Clanton T.O. Hallux rigidus: treatment by cheilectomy // *J. Bone Joint Surg. Am.* 1988. 70. (3). 400–406.
14. McKeever D.C. Arthrodesis of the first metatarsophalangeal joint for hallux valgus, hallux rigidus, and metatarsus primus varus // *J. Bone Joint Surg. Am.* 1952. 34-A. (1). 129–134.
15. Ronconi P., Martinelli N., Cancilleri F. et al. Hemiarthroplasty and distal oblique first metatarsal osteotomy for hallux rigidus // *Foot Ankle Int.* 2011. 32. (2). 148–152.
16. Sethu A., D'Netto D.C., Ramakrishna B. Swanson's silastic implants in great toes // *J. Bone Joint Surg. Am.* 1982. 64-B. (1). 183–185.
17. Shereff M.J., Baumhauer J.F. Hallux rigidus and osteoarthritis of the first metatarsophalangeal joint // *J. Bone Joint Surg. Am.* 1998. 80. (6). 898–908.
18. Vlatis G., Anderson E.G. Swanson silastic spacer in hallux rigidus and valgus // *J. Bone Joint Surg. Am.* 1987. 69-B. (4). 678–679.

FIRST METATARSOPHALANGEAL JOINT REPLACEMENT AS AN ALTERNATIVE TO THE SCHEDE–BRANDES RESECTION ARTROPLASTY IN THE COMPLEX TREATMENT OF HALLUX RIGIDUS

**Igor Anatol'evich PAKHOMOV, Vasilii Viktorovich KUZNETSOV,
Andrei Vasil'evich REPIN, Sergey Borisovich KOROCHKIN,
Valeriy Mikhailovich PROKHORENKO, Mikhail Anatol'evich SADOVOY**

*Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopedics n.a. Ya.L. Tsivyan
630091 Novosibirsk, Frunze str., 17*

In the case of Hallux Rigidus, not only the high incidence of the disease and severity of impaired foot anatomy and function, but also the existing imperfect treatment techniques cause dissatisfaction among patients and physicians. Therefore, the search for the optimal treatment for the disease continues. At present, main treatment modes include resection arthroplasty (Schede-Brandes procedure) and the first metatarsophalangeal joint fusion; the first metatarsophalangeal joint replacement holds a special place among treatment techniques. In the control and study groups, the outcomes of resection arthroplasty and the first metatarsophalangeal joint replacement using a ceramic endoprosthesis were compared to assess the treatment effectiveness of these techniques. The joint replacement technique showed advantages in terms of better functional outcomes, but was followed by a significant number of complications.

Key words: hallux rigidus, first metatarsophalangeal joint replacement, Schede–Brandes surgery, stiff big toe, resection arthroplasty.

*Pakhomov I.A. – doctor of medical sciences, leading researcher, head of department for foot and ankle-joint surgery,
e-mail: pahomovigor@inbox.ru*

Kuznetsov V.V. – traumatologist, e-mail: vkuznecovniito@gmail.com

Repin A.V. – traumatologist

Korochkin S.B. – candidate of medical sciences, traumatologist

*Prokhorenko V.M. – doctor of medical sciences, professor, deputy director on scientific-clinical work,
e-mail: VProhorenko@niito.ru*

Sadovoy M.A. – doctor of medical sciences, professor, director, e-mail: niito@niito.ru

ДИВЕРТИКУЛ ТРАХЕИ КАК ПРИЧИНА ОСЛОЖНЕНИЯ ОРОТРАХЕАЛЬНОЙ ИНТУБАЦИИ

Роман Игоревич ГОЛИКОВ, Майя Николаевна ЛЕБЕДЕВА,
Сергей Александрович ПЕРВУХИН, Александр Михайлович АГЕЕНКО

Новосибирский НИИ травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна Минздрава России
630091, г. Новосибирск, ул. Фрунзе, 17

Дивертикул трахеи представляет собой достаточно редкую патологию, которая связана с врожденной или приобретенной слабостью трахеальной стенки и, как правило, является случайной находкой при инструментальных исследованиях или аутопсии. В представленной статье описан клинический случай ятрогенного постинтубационного повреждения трахеи при эндопротезировании локтевого сустава в условиях ингаляционной анестезии. С помощью компьютерной томографии органов грудной клетки диагностирован дефект стенки дивертикула трахеи с развитием пневмомедиастинума и подкожной эмфиземы. Лечение консервативное. На 12 сутки после операции пациентка была выписана из стационара.

Ключевые слова: дивертикул трахеи, повреждение трахеи, подкожная эмфизема, пневмомедиастинум, диагностика, лечение.

Разрыв трахеи является достаточно редким, но угрожающим жизни пациента осложнением, которое наиболее часто развивается при тупой травме грудной клетки, но также может возникнуть при проведении анестезии с искусственной вентиляцией легких через эндотрахеальную трубку (ЭТ). По данным ряда авторов, такие повреждения составляют от 0,05 до 0,37 % всех интубаций [3, 8, 10, 11, 25]. Однако судить об истинной частоте изолированного ятрогенного разрыва трахеи достаточно сложно ввиду отсутствия достоверной статистики данного осложнения, а имеющиеся публикации отражают лишь сведения об единичных наблюдениях. Травма трахеи встречается как у молодых анестезиологов-реаниматологов, так и у опытных специалистов, выполняющих данную манипуляцию ежедневно на протяжении многих лет [4]. Риск повреждения трахеи возрастает до 29 % в экстренной ситуации в условиях лимита времени и гипоксии пациента [4, 16].

К предполагаемым факторам риска ятрогенного повреждения трахеи относятся особенности пациента, тип используемой ЭТ и техника ин-

тубации (прямая механическая травма трахеи и бронхов или нарушение кровообращения слизистой трахеи). Как правило, причиной травмы трахеи является сочетание перечисленных факторов [2–4, 8, 12, 16, 23]. К наиболее значимым факторам риска можно отнести женский пол (ввиду более тонкой мембранозной части трахеи), возраст старше 50 лет, небольшой рост, короткую шею, хронические обструктивные заболевания легких, лучевую и стероидную терапию в анамнезе [3, 4, 11, 23]. К прямой травме трахеи обычно приводят ее сложная интубация, использование жестких проводников без страховочного ограничителя, значительное перераздувание герметизирующей манжеты ЭТ, несоответствие размера ЭТ и диаметра трахеи [4, 7, 14]. Причина же нарушения кровообращения в слизистой оболочке трахеи кроется в отсутствии контроля давления в манжетке ЭТ и длительности ее пребывания в трахее. Известно, что систолическое давление в сосудах слизистой оболочки трахеи составляет 30 мм рт. ст., раздувание манжеты ЭТ даже до 20 мм рт. ст. уменьшает кровоток в слизистой оболочке трахеи на 75 %, а большее ее раздувание может

Голиков Р.И. – младший научный сотрудник отделения анестезиологии и реанимации, врач-анестезиолог-реаниматолог отделения реанимации и интенсивной терапии, e-mail: Roman87@mail.ru
Лебедева М.Н. – д.м.н., ведущий научный сотрудник отделения анестезиологии и реанимации, заместитель главного врача по анестезиологическому обеспечению, e-mail: MLebedeva@niito.ru
Первухин С.А. – к.м.н., старший научный сотрудник, зав. отделением реанимации и интенсивной терапии, e-mail: SPervuhin@mail.ru
Агеенко А.М. – к.м.н., старший научный сотрудник, зав. отделением анестезиологии и реанимации, e-mail: AAgeenko@niito.ru

привести к полному прекращению кровообращения с развитием тубулярных повреждений и присоединению вторичной инфекции. Иногда к развитию травмы приводят кашель, движение головой при недостаточной глубине анестезии и релаксации [1, 3, 4, 7, 22–24].

Время манифестации постинтубационного повреждения трахеи может быть различным – от появления симптомов тотчас после травмы до отсрочки на несколько часов и даже дней. В последнем случае поступление воздуха через дефект трахеи в окружающие ткани происходит лишь после экстубации. Установленная до этого времени ЭТ может герметично изолировать разрыв от паратрахеального пространства. Симптомокомплекс при повреждении трахеи разнообразен и, в зависимости от уровня повреждения, величины дефекта, наличия связи с плевральной полостью, нарушения целостности артериальных и венозных сосудов, может сопровождаться одышкой, кашлем, кровохарканьем, подкожной эмфиземой, пневмомедиастинумом, нарушением проходимости дыхательных путей. При прогрессировании процесса возникают медиастинит, пневмоторакс, в более тяжелых случаях – полиорганная недостаточность и сепсис [4, 8, 23].

Диагностика ятрогенных постинтубационных повреждений трахеи основывается на данных клинических и инструментальных исследований: ранней фибробронхоскопии и компьютерной томографии [3, 4, 24].

ОПИСАНИЕ СЛУЧАЯ

Больная К., 74 лет, поступила в плановом порядке в Новосибирский НИИ травматологии и ортопедии с диагнозом: консолидированный в положении смещения оскольчатый внутрисуставной перелом дистального метаэпифиза правой плечевой кости; комбинированная контрактура правого локтевого сустава; нейропатия срединного нерва. Сопутствующий диагноз: ИБС; диффузный кардиосклероз; хроническая сердечная недостаточность 1-й степени; синдром артериальной гипертензии; недостаточность кровообращения 0 степени; хронический атрофический гастрит вне обострения; хроническая анемия легкой степени тяжести, сложного генеза; цереброваскулярное заболевание на фоне церебрального атеросклероза; хроническая ишемия головного мозга II ст.; сенсоневральная тугоухость. Был определен объем хирургического вмешательства: ортопедическое эндопротезирование локтевого сустава. Из анамнеза – общие анестезии с искусственной вентиляцией легких (ИВЛ) через ЭТ в возрасте 28 лет без осложнений. В качестве ане-

стезиологического обеспечения выбран метод ингаляционной анестезии с ИВЛ через ЭТ. Прогнозируемая интубация трахеи по классификации Mallampati – II степень сложности.

В условиях предоперационной установлен периферический венозный катетер, в который начата капельная инфузия полиионного раствора, подключен мониторинг – неинвазивное измерение артериального давления (АД), частоты сердечных сокращений (ЧСС), процентного содержания оксигемоглобина в артериальной крови (SpO₂), электрокардиография.

Индукция анестезии проведена пропофолом 150 мг в сочетании с фентанилом 100 мкг. Через 1 минуту после введения 60 мг рокурония бромида осуществлена интубация трахеи без проводника с первой попытки без технических трудностей термопластической трубкой № 7,0 с манжетой низкого давления большого объема типа Мерфи. Раздувание манжеты ЭТ до 20 мм рт. ст. под контролем манометра для измерения внутриманжеточного давления (Portex, Германия). Положение больного на операционном столе – на животе. Поддержание анестезии проводили супраном (десфлуран, Baxter) (et 5,1–5,8 об. %, «P-Varog», Dräger, Германия) в потоке 1 л свежего газа (воздух : кислород – 1:1), болюсными введениями фентанила 100 мкг. ИВЛ осуществляли вентиляцией по объему наркотко-дыхательным аппаратом «Fabius» (Dräger) с Fet CO₂ 30–33 мм рт. ст.

Интраоперационно нарушений гемодинамики и газообмена не отмечалось. По окончании операции внутривенно введен селективный антидот рокурония бромида сугаммадекс 100 мг (брайдан, Шеринг-Плау), экстубация через 5 минут без технических трудностей. Длительность анестезии составила 2 часа 35 минут. Для динамического наблюдения больная переведена в палату пробуждения, где проводилась оксигенотерапия увлажненным кислородом 5 литров в минуту через лицевую маску, обезболивание ненаркотическими анальгетиками, мониторинг гемодинамических показателей и газообмена. Через два часа после завершения операции на фоне стабильной гемодинамики и адекватного газообмена пациентка была переведена в профильное отделение под наблюдение лечащего врача.

На вторые сутки при плановом утреннем осмотре лечащим врачом больная предъявляет жалобы на осиплость голоса, чувство распирания в области шеи с последующим нарастанием симптомов. При пальпации отмечается крепитация по передней поверхности шеи и верхней половины грудной клетки. Объективно: частота дыхательных движений 16 в 1 мин, SpO₂ 99 %, ЧСС 66 в 1 мин, АД 153/70 мм рт. ст. С подозрением

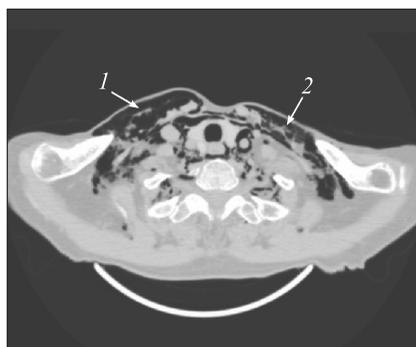


Рис. 1. Компьютерная томография шейного отдела позвоночника, аксиальный срез. Стрелками обозначена эмфизема мягких тканей шеи

на травму трахеи для динамического наблюдения и дальнейшего лечения была переведена в отделение реанимации и интенсивной терапии: начата противоотечная терапия, респираторная поддержка (инсуфляция увлажненного кислорода через лицевую маску) в условиях непрерывного мониторинга. Решено в экстренном порядке провести мультиспиральную компьютерную томографию (МСКТ) шейного отдела позвоночника и органов грудной клетки.

По данным МСКТ шейного отдела позвоночника: эмфизема мягких тканей шеи. Убедительно видимых повреждений гортани и начального отдела трахеи не выявлено (рис. 1). МСКТ органов грудной клетки: пневмомедиастинум. Мешотчатое полушаровидное выпячивание задней стенки трахеи на уровне мембранозной части, на 7,5 мм краниальнее карины. Истончение стенки трахеи на уровне выпячивания, нельзя исключить наличие дефекта на этом уровне. Убедительно видимого повреждения стенок пищевода не выявлено. Очаговых и инфильтративных изменений легких, а также булл не выявлено (рис. 2). Больная была консультирована торакальным хирургом.

Установлен диагноз: дивертикул задней стенки в нижней трети трахеи, перфорация на уровне дивертикула; пневмомедиастинум; эмфизема средостения. Учитывая наличие повреждения трахеи, для дальнейшего наблюдения и определения тактики лечения больная переведена в торакальное отделение Городской клинической больницы.

В условиях специализированного отделения многопрофильного стационара, учитывая небольшой дефект целостности трахеи и отсутствие признаков нарастания симптомов, решено воздержаться от хирургического лечения в сторону консервативной тактики ведения пациентки. На третьи сутки подкожная эмфизема регрессировала. Больная выписана на 12 сутки домой в удовлетворительном состоянии.

ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ литературных источников показал, что дивертикулы трахеи (ДТ) являются достаточно редкой патологией, связанной с врожденной или приобретенной слабостью трахеальной стенки, встречаются в 1–2 % вскрытий или является случайной находкой при инструментальных исследованиях. В частности, при выполнении компьютерной томографии ДТ выявляются у 2,0–3,7 % всех обследованных. ДТ представляют собой воздушное или воздушно-жидкостное паратрахеальное полостное образование, которое сообщается с ее просветом. Как правило, ДТ располагаются в правой заднебоковой стенке трахеи, что рядом автором объясняется протекторным контактированием дуги аорты и пищевода в области левой заднебоковой стенки трахеи [9, 17, 20, 26].

Врожденные ДТ могут возникать из сверхкомплектного трахеального бронха или при недоразвитии отдельных хрящей трахеи, когда слизистая оболочка пролабирует в местах нару-

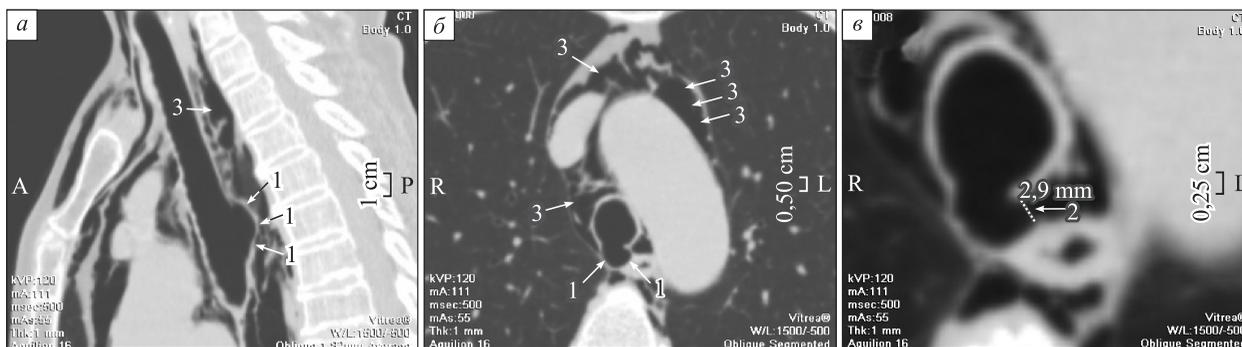


Рис. 2. Компьютерная томография органов грудной клетки, сагиттальный (а) и аксиальный (б, в) срезы. Стрелками указаны дивертикул трахеи (1), нарушение целостности стенки дивертикула (2), пневмомедиастинум (3)

шенного хрящевого каркаса. К врожденным ДТ, кроме рудиментарного бронха, относят кисту слизистой железы, трахеоцеле и дивертикул при трахеобронхомегалии (синдром Манье–Куна). Чаще всего встречаются у мужчин, обычно небольшого размера (1,5–2,0 см) и по расположению находятся на 4–5 см ниже уровня голосовых связок на уровне Th1–Th2 позвонков, гистологическая структура стенки сходна со структурой трахеи [15, 20, 25].

Приобретенные ДТ чаще всего образуются вследствие повышения внутритрахеального давления при хроническом кашле на фоне хронической обструктивной болезни легких в сочетании со слабостью трахеальной стенки в мембранозной ее части, кистозной трансформацией трахеальных желез или их гнойным расплавлением. По месту расположения могут встречаться на любом уровне трахеи, но чаще выявляются на границе шейного и грудного ее отделов. Гистологически имеют достаточно тонкую стенку, которая в основном состоит из эпителия воздухоносных путей (респираторный эпителий) и не имеют в своем составе мышечно-хрящевых элементов [13, 25].

В анестезиологическо-реанимационной практике наличие ДТ больших размеров может быть причиной трудной интубации, развития эмфиземы средостения или неэффективной ИВЛ [4, 9, 17, 25]. В зарубежной литературе нам встретились две статьи, посвященные описанию клинических случаев у больных геронтологического возраста, зарегистрированных при проведении ИВЛ: в одном случае регистрировалась необъяснимая утечка из контура дыхательного аппарата [18], в другом – присутствие прожилок крови в бронхиальном секрете [13]. В обоих случаях при проведении дополнительного обследования как случайная находка выявлен ДТ без признаков повреждения стенок дивертикула.

Описанный клинический случай является достаточно редким ятрогенным осложнением. В нашем случае наличие ингаляционных анестезий с ИВЛ через ЭТ в анамнезе, протекавших без осложнений, истончение стенки трахеи на уровне выпячивания и расположение ДТ на 7,5 мм краниальнее карины (по данным МСКТ органов грудной клетки), а также возраст больной могут свидетельствовать о его приобретенном характере. Судить о том, на каком из этапов произошло повреждение стенки дивертикула, достаточно сложно. Однако время манифестации постинтубационного повреждения (появление первых симптомов через 15 ч после операции) может свидетельствовать о том, что поступление воздуха через дефект трахеи в окружающие ткани ста-

ло происходить лишь после экстубации. До этого времени установленная ЭТ, вероятнее всего, герметично изолировала разрыв стенки дивертикула от паратрахеального пространства. ДТ как случайная находка был выявлен по данным МСКТ органов грудной клетки. При этом фибробронхоскопию решено было не проводить ввиду высокого риска усугубления повреждения трахеи.

Учитывая наличие небольшого дефекта целостности стенки ДТ и отсутствие признаков нарастания клинических проявлений полученной травмы, было решено отказаться от хирургического лечения и выбрать консервативную тактику ведения пациентки, что вполне согласуется с возросшим количеством публикаций, в которых отдается предпочтение консервативной терапии [4, 6, 8, 19, 21, 22]. Показаниями к консервативному лечению можно отнести стабильное состояние пациента, малые (до 2 см) повреждения трахеи без признаков развития медиастинита, возможность проведения манжетки ЭТ ниже уровня повреждения в случае обнаружения симптомов во время проведения у пациента ИВЛ, отсутствие трахеопищеводного соустья, отсутствие прогрессирования пневмомедиастинума и подкожной эмфиземы, высокий операционно-анестезиологический риск и отказ пациента от операции. Основные принципы консервативного лечения: антибактериальная, противовоспалительная и муколитическая терапия, физиопроцедуры и динамическое наблюдение, постоянный контроль инструментальными методами диагностики в динамике [5, 14, 16]. Хирургическое вмешательство показано при прогрессировании пневмоторакса, пневмомедиастинума и подкожной эмфиземы с нарушением газообмена, трансмуральном повреждении бронха длиной более 2 см, ранении пищевода, кровотечении в дыхательные пути, связанном, возможно, с ранением крупного сосуда, невозможности проведения ЭТ ниже уровня разрыва и, как следствие, неадекватное проведение ИВЛ [4, 8, 19, 22].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Дивертикул трахеи является достаточно редкой, но, в случае нарушения его целостности, угрожающей жизни пациента патологией, связанной с развитием эмфиземы средостения. Диагностика основывается на данных клинических проявлений и инструментальных исследований: ранняя фибробронхоскопия и компьютерная томография. Определить тактику лечения должен специалист, владеющий как хирургическим, так и консервативным методами лечения. Методом выбора лечения все чаще становится консерва-

тивный вариант. Хирургическое лечение показано только в случае наличия стойких проявлений трахеоцеле, нарастания «газового синдрома» и сдавления окружающих органов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Вартанова Н.А. Ятрогенные повреждения трахеи в практике анестезиолога // Мед. неотлож. состояний. 2013. (7). 150–152.
2. Глумчер Ф.С. Интубационные повреждения трахеи // Біль, знеболювання і інтенсивна терапія. 1998. (4). 48–52.
3. Голуб И.Е., Пинский С.Б., Нетесин Е.С. Постинтубационные повреждения трахеи // Сиб. мед. журн. 2009. (4). 124–128.
4. Зенгер В.Г., Наседкин А.Н., Паршин В.Д. Хирургия повреждений гортани и трахеи. М., 2007. 364 с.
5. Иванов А.М., Новиков С.Д., Новиков Д.С. Благоприятный исход хирургического лечения искусственного разрыва трахеи // Вестн. хирургии. 2008. (1). 105–106.
6. Лазарев С.М., Трунина Т.В. Успешное консервативное лечение повреждений трахеи во время ее интубации // Вестн. хирургии. 2008. (1). 107–108.
7. Морган Э.Дж., Михаил М.С. Клиническая анестезиология: книга 1-я. М., 2009. 400 с.
8. Паршин В.Д., Погодина А.Н., Выжигина М.А. и др. Ятрогенные постинтубационные разрывы трахеи // Анестезиология и реаниматология. 2006. (2). 9–13.
9. Перельман М.И. Хирургия трахеи. М., 1972. 208 с.
10. Скворцов М.Б., Анганов Т.Ф. Интраоперационные повреждения трахеи // Бюл. Вост.-Сиб. науч. центра СО РАМН. 2009. (3). 112–114.
11. Bertrand P., Guillaume L., Yves A. et al. Iatrogenic post-intubation tracheal rupture treated conservatively without intubation: a case report. // Cases Journal. 2008. (1). 259–261.
12. Carbognani P., Bobbio A., Cattelani L. et al. Management of postintubation membranous tracheal rupture // The Annals of Thoracic Surgery. 2004. (77). 406–409.
13. Carmona Soto P., Congregado M., Loscertales J. Acquired Tracheal Diverticulum as the Cause of Complicated Orotracheal Intubation // The Journal of Critical Care Medicine. 2015. (1). 171–173.
14. Chen E., Logman Z., Glass P. et al. A case of tracheal injury after emergent endotracheal intubation: a review of the literature and causalities // Anesthesia & Analgesia. 2001. (93). 1270–1271.
15. Chennuri R., Dissanayake P., Urjeet A. Patel et al. Tracheal Diverticulum: A Unique Case with Intraoperative Morphologic Assessment // Case Reports in Pathology. 2015. (3). 12–15.
16. Conti M., Pougeoise M., Wurtz A. et al. Management of postintubation tracheobronchial ruptures // Chest. 2006. (130). 412–418.
17. Dinner M., Ward R., Yun E. Ventilation difficulty secondary to a tracheal diverticulum // Anesthesiology. 1992. (77). 586–587.
18. Flores-Franco R.A., Silva-Alcaraz J. Acquired Tracheal Diverticulum as an Unexpected Cause of Endotracheal Tube Cuff Leak // The Journal of Critical Care Medicine. 2015. (1). 171–173.
19. Gabor S., Renner H., Pinter H. et al. Indications for surgery in tracheobronchial ruptures // European Journal of Cardio-Thoracic Surgery. 2001. (20). 399–404.
20. Han S. Tracheal diverticulum: a rare cause of dysphagia // European Journal of Cardio-Thoracic Surgery. 2008. (34). 916–917.
21. Jougon J., Ballester M., Choukroun E., et al. Conservative treatment for postintubation tracheobronchial rupture // The Annals of Thoracic Surgery. 2000. Vol. 69. 216–220.
22. Lampl L. Tracheobronchial injuries. Conservative treatment // Int. Cardiovascular Thoracic Surg. 2004. (3). 401–405.
23. Marty-Ane C.H., Picard E., Jonquet O. et al. Membranous tracheal rupture after endotracheal intubation // The Annals of Thoracic Surgery. 1995. (60). 1367–1371.
24. Meyer M. Iatrogenic tracheobronchial lesions: a report on 13 cases // J. Thoracic Cardiovascular Surg. 2001. (49). 115–119.
25. Soto-Hurtado E.J. Tracheal diverticulum: a review of the literature // Lung. 2006. (184). 303–307.
26. Waite S, Sharma A, Machnicki S. Right paratracheal air cyst (tracheal diverticulum) // Applied Radiology. 2003. (1). 2–8.

TRACHEAL DIVERTICULUM AS A CAUSE OF THE COMPLICATIONS OF OROTRACHEAL INTUBATION

**Roman Igorevich GOLIKOV, Maya Nikolaevna LEBEDEVA,
Sergey Aleksandrovich PERVUKHIN, Aleksandr Mikhaylovich AGEENKO**

*Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopedics n.a. Ya.I. Tsivyan
630091, Novosibirsk, Frunze str., 17*

Tracheal diverticulum is a relatively rare pathology, which is associated with congenital or acquired weakness of the tracheal wall and usually is a random finding at instrumental studies or autopsy. The article describes a clinical case of postintubation iatrogenic damage of the trachea at the endoprosthesis of the elbow joint under general anesthesia. The defect of the trachea diverticulum wall with the development of pneumomediastinum and subcutaneous emphysema was diagnosed with the help of chest computer tomography. The treatment was conservative. The patient was discharged from the hospital on the 12th day after operation.

Key words: tracheal diverticulum, windpipe, subcutaneous emphysema, pneumomediastinum, diagnosis, treatment.

***Golikov R.I.** – junior researcher of anesthesiology and reanimation department, anesthesiologist-intensivist of the intensive care unit, e-mail: Roman87@mail.ru*

***Lebedeva M.N.** – doctor of medical sciences, leading researcher of anesthesiology and reanimation department, deputy chief of anesthesiology maintenance, e-mail: MLebedeva@niito.ru*

***Pervukhin S.A.** – candidate of medical sciences, senior researcher of anesthesiology and reanimation department, head of the intensive care unit, e-mail: SPervuhin@mail.ru*

***Ageenko A.M.** – candidate of medical sciences, senior researcher of anesthesiology and reanimation department, head of anesthesiology and intensive care department, e-mail: AAgeenko@niito.ru*

ОШИБКИ И ОСЛОЖНЕНИЯ СТЕНТИРОВАНИЯ ПИЩЕВОДА И ПИЩЕВОДНЫХ АНАСТОМОЗОВ

Евгений Александрович ДРОБЯЗГИН^{1,2,3}, Юрий Владимирович ЧИКИНЕВ^{1,3}, Ирина Евгеньевна СУДОВЫХ³, Александр Александрович ЖЕРАВИН², Сергей Валерьевич ЯРМОЩУК², Александр Сергеевич КУДРЯВЦЕВ²

¹ Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России 630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52

² Новосибирский НИИ патологии кровообращения им. акад. Е.Н. Мешалкина 630055, г. Новосибирск, ул. Речуновская, 15, корп. 1

³ Государственная Новосибирская областная клиническая больница 630097, г. Новосибирск, ул. Немировича-Данченко, 130

Цель исследования – анализ ошибок и осложнений во время и после установки металлических саморасправляющихся стентов при злокачественной дисфагии. **Материал и методы:** стентирование пищевода, пищеводных анастомозов и кардии выполнено у 172 пациентов. **Результаты:** осложнения возникли у 38 пациентов. Полученные данные говорят о необходимости динамического наблюдения пациентов после стентирования.

Ключевые слова: стентирование пищевода и пищеводных анастомозов, рак пищевода, паллиативные вмешательства, осложнения установки пищеводных стентов.

Стентирование пищевода является достаточно широко распространенным вмешательством при дисфагии злокачественного генеза [1, 8, 10, 14, 16, 17, 20–22]. Восстановление перорального приема пищи позитивно отражается на состоянии пациента и позволяет проводить последующее специализированное лечение, направленное на уменьшение роста опухоли или ее регресс (лучевая терапия, химиотерапия, фотодинамическая терапия) [2–7, 9, 11–13, 16, 18, 19]. Кроме этого установка стента может применяться как метод предоперационной подготовки (бридж-терапия) [1, 9, 10, 13, 17].

На смену пластиковым трубчатым стентам пришли металлические саморасправляющиеся стенты, применение которых позволило сделать процедуру стентирования более безопасной, лучше купировать дисфагию и улучшить общее состояние пациентов [1, 2, 5, 10–12, 16–19]. По мере

накопления опыта их применения отмечены осложнения, которые не отмечались при установке трубчатых стентов [3–5, 15, 21].

Цель исследования – анализ и характеристика осложнений использования металлических саморасправляющихся стентов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

На базе клиники кафедры госпитальной и детской хирургии Новосибирского государственного медицинского университета, в отделении торакальной хирургии Государственной Новосибирской областной клинической больницы с 2006 по 2016 г. и в отделении радиологии Новосибирского НИИ патологии кровообращения им. акад. Е.Н. Мешалкина металлические саморасправляющиеся стенты установлены при дисфагии злокачественного генеза 172 пациентам (108 мужчин

Дробязгин Е.А. – д.м.н., проф. кафедры госпитальной и детской хирургии лечебного факультета, ведущий научный сотрудник центра онкологии и радиохирургии, врач-торакальный хирург, эндоскопист отделения торакальной хирургии, e-mail: evgenyidrob@inbox.ru

Чикинев Ю.В. – д.м.н., проф., зав. кафедрой госпитальной и детской хирургии лечебного факультета, главный торакальный хирург МЗ НСО, врач-хирург отделения торакальной хирургии, e-mail: chikinev@inbox.ru

Судовых И.Е. – к.м.н., врач-эндоскопист эндоскопического отделения, e-mail: isudovykh@gmail.com

Жеравин А.А. – к.м.н., зав. центром онкологии и радиохирургии, e-mail: zheravin2010@yandex.ru

Ярмощук С.В. – хирург-онколог отделения радиотерапии, e-mail: kydas@mail.ru

Кудрявцев А.С. – торакальный хирург отделения радиотерапии, e-mail: kydas@mail.ru

Таблица 1

Распределение пациентов в зависимости от опухолевого поражения

Вид опухолевого поражения	n	%
Рак пищевода*	96	55,81
Рак кардиального отдела желудка с переходом на пищевод	42	24,41
Сдавление пищевода извне	10	5,81
Рецидив рака желудка после гастрэктомии	9	5,23
Рецидив рака после операции Lewis	8	4,65
Рецидив рака после экстирпации пищевода и пластики желудочной трубкой	4	2,32
Рак желудка	1	0,58
Рак культи желудка (тотальное поражение) с переходом на пищевод	1	0,58
Нейрофиброматоз средостения	1	0,58
Итого	172	100

* В том числе с прорастанием в трахею (у 9 человек) или бронхи (у 1 пациента), с возникновением трахеопищеводного свища.

и 64 женщины). Возраст больных составил от 35 до 92 лет. Распределение пациентов в зависимости от локализации опухолевого процесса показано в табл. 1.

Рецидив рака в области пищеводных анастомозов возник у большинства пациентов (8) в течение первого года после операции. У 7 оставшихся больных рецидив дисфагии возник в сроки от 1 года до 4 лет после ранее выполненного вмешательства. Сдавление пищевода извне было связано с метастатическим поражением лимфатических узлов средостения при раке легкого (3 человека), шейки матки (1), молочной железы (2), раке легкого (6), раке пищевода с метастатическим поражением средостения (1) или лимфо-ме средостения (1).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Во всех случаях выполнена установка металлического саморасправляющегося стента. У 169 человек использовались стенты M.I. Tech, у двоих – Boubella ELLA-CS, у одного – Wilson-Cook. У большинства пациентов применены полностью покрытые эндопротезы диаметром 22 мм, длиной 120 мм и более. При локализации опухолевого процесса в зоне глоточно-пищеводного перехода или до 3 см ниже него (15 пациентов) вмешательство проводилось под рентгеновским контролем с маркировкой верхней границы стеноза рентгеноконтрастными метками. В остальных случаях стентирование выполнялось под эндоскопическим контролем.

Все осложнения, полученные во время и после стентирования, были классифицированы на 4 группы [2]: осложнения, вызванные неправильным выбором стента, нарушением методики его установки, прогрессированием основного

процесса или преждевременным разрушением стента. Кроме того, мы разделяли осложнения, возникающие в процессе установки и в послеоперационном периоде, в последнем случае выделяли ранние (до 14 дней после установки) и поздние (больше 14 дней после установки). Данное деление не случайно и объясняется частотой возникновения осложнений в указанные сроки [2].

По нашим данным, осложнения в процессе установки стента и в послеоперационном периоде возникли у 41 пациента (при установке – у 7, в послеоперационном периоде – у 34). Осложнений при восстановлении просвета пищевода не отмечено. Непосредственно во время операции в 7 случаях стент был установлен в неправильную позицию (верхний край находился на уровне блостоматозного поражения у 6 пациентов, нижний край на уровне дистального края участка сужения – у 1). Эти осложнения были на этапе освоения методики и корригировались путем подтягивания стента за нить. Структура осложнений в послеоперационном периоде представлена в табл. 2.

Наиболее частой причиной миграции стентов была «мягкость» опухоли или чрезмерное расширение просвета пищевода и (или) пищеводно-желудочного перехода перед имплантацией стента, что согласуется с данными некоторых авторов [2, 3, 15, 21]. Полное расправление стента происходит в течение 2–3 суток – это первый критический период от момента его установки. Во всех наших наблюдениях мигрировали стенты, установленные при раке нижней трети пищевода, когда его дистальная часть расположена в желудке, или при раке кардиального отдела желудка с переходом на пищевод. Считаем необходимым в данных ситуациях использование стентов с антимиграционным механизмом (нитью), которая по-

Таблица 2

Осложнения послеоперационного периода после установки стента*

Срок появления осложнений	Тип осложнения	Количество осложнений
Ранние (до 14 дней), n = 9	Частичная миграция стента	5
	Болевой синдром	3
	Температурная реакция	15
	Миграция стента в кишку	1
Поздние (свыше 14 дней), n = 25	Частичная миграция стента	2
	Миграция стента в желудок	4
	Нарушение целостности покрытия стента и (или) фрагментация	5
	Перелом и дислокация фрагментов стента	3
	Обрастание опухолью и врастание опухоли в стент	11
	Сдавление пищевода выше установленного стента	2

* У части пациентов было несколько осложнений.

Таблица 3

Вмешательства, выполненные пациентам при осложнениях*

Вид вмешательства	n	%
Удаление стента, установка зонда для питания	3	9,4
Удаление стента, рестентирование	1	3,1
Удаление стента, бужирование, рестентирование	4	12,5
Корректировка положения стента	5	15,6
Стентирование по типу «стент в стент»	13	40,6
Удаление фрагментов стента, бужирование суженного участка, рестентирование	3	9,4
Рестентирование без удаления стента из желудка	1	3,1
Стентирование трахеи	2	6,2

* Части пациентов выполнялось несколько вмешательств.

сле установки стента выводится и фиксируется за ушную раковину. Применение данной технологии позволяет избежать этого осложнения.

Температурная реакция, по мнению большинства авторов [2, 4–6, 10, 12, 14, 17–19, 22], является штатной ситуацией, которая возникает в течение первых двух суток после имплантации стента. Для нормализации температуры тела использовались нестероидные противовоспалительные препараты (кетопрофен). Выраженный болевой синдром после установки стентов возник у трех пациентов: у двоих при рецидиве опухоли в области пищеводного анастомоза на шее, у одного при раке верхней трети пищевода. Во всех случаях верхний край стента был установлен в область глоточно-пищеводного перехода. Применение нестероидных противовоспалительных препаратов и наркотических анальгетиков не привело к улучшению состояния пациентов.

Причиной перелома и миграции фрагментов стентов являлось использование полностью покрытых стентов, состоящих из нескольких зве-

ньев, соединенных между собой. Во всех наблюдениях осложнение было у пациентов с опухолью нижней трети пищевода или кардиального отдела желудка с переходом на пищевод (дистальная часть стента расположена в желудке). Такие стенты обладают большей гибкостью и удобны у данной категории пациентов, но при этом менее устойчивы к агрессивным условиям нахождения в желудке. Оптимальным с учетом полученных данных является использование цельноплетенных стентов.

Структура вмешательств, выполненных пациентам при осложнениях, представлена в табл. 3. Все осложнения стентирования пищевода и пищеводных анастомозов, возникшие при установке саморасправляющихся металлических стентов, были устранены с использованием эндоскопических технологий. При выраженном болевом синдроме проведено удаление стента с установкой зонда для питания.

Тактика при частичной дислокации и миграции стентов была различной. При частичной

миграции стентов в раннем послеоперационном периоде потребовалась лишь корректировка его положения (подтягивание за нить). Подтягивание стента вверх было выполнено 4 пациентам, а его смещение вниз – лишь одному. При миграции стентов (в том числе и частичной) (6 пациентов) во всех случаях эндопротез мигрировал ниже верхнего участка сужения. В этой ситуации подтягивание стента в правильную позицию было невозможно из-за рестеноза в зоне опухолевого поражения. Повторная установка стента выполнена всем пациентам, с предварительным бужированием суженного участка у 4 человек. В одном случае, несмотря на проведенное расширение просвета пищевода и кардии, извлечь стент из желудка не удалось из-за особенностей его расположения (в дне и верхней трети тела желудка) и выраженной ригидности участка сужения. Поскольку в данной ситуации риск миграции стента в кишку очень низкий, было решено выполнить стентирование пищевода.

При переломах стентов и миграции их фрагментов проводилось их удаление с бужированием суженного участка и последующим стентированием. Во всех случаях при частичном разрушении полимерного покрытия стента вмешательств не проводилось, поскольку не было прорастания опухоли в просвет стента. Были даны рекомендации по питанию с проведением последующих «плановых» консультаций по телефону.

При продолжающемся росте опухоли и обрастании верхнего (8 случаев) и нижнего (3 пациента) краев стента дисфагия рецидивировала в сроки от 2 мес. до 2 лет. Для восстановления его проходимости применялось стентирование по типу «стент в стент» без предварительного расширения просвета пищевода, причем у двоих пациентов – дважды из-за возникновения трахеопищеводного свища вследствие распада опухоли. Данный вид вмешательств невозможен при использовании силиконовых стентов, что является бесспорным преимуществом металлических саморасправляющихся стентов.

Из представленных данных видно, что частота возникновения осложнений после стентирования пищевода и пищеводных анастомозов с использованием металлических саморасширяющихся стентов составляет 21,5 %. Структура осложнений достаточно разнообразна и связана с особенностями их конструкции и установки (перелом, фрагментация стента, отслойка покрытия стента, частота миграции) и носит специфический характер. С учетом данных, полученных при анализе причин осложнений стентирования пищевода и пищеводных анастомозов у пациентов с дисфагией на фоне злокачественных новообразований,

считаем необходимым дополнить классификацию осложнений стентирования: классифицировать послеоперационные осложнения на ранние (до двух недель после установки) и поздние (более двух недель после установки). Также необходимо выделить специфические осложнения, которые возникают при использовании металлических саморасправляющихся стентов.

ВЫВОДЫ

1. Стентирование пищевода является эффективным способом восстановления приема пищи, но в процессе установки стентов возможно возникновение осложнений, которые зависят от вида и способа установки.

2. Некоторые осложнения, возникшие после стентирования, связаны с типом установленных стентов и являются специфическими.

3. При использовании саморасправляющихся стентов основное число осложнений возникает минимум через 2 недели после установки, что требует динамического наблюдения за пациентами по принципу «пациент–родственник» или «пациент–врач»;

4. Вмешательства по типу «стент в стент» возможны при ранее выполненной операции с использованием металлических саморасправляющихся стентов в случае продолженного роста опухоли, обрастания стента или врастания опухоли в его просвет.

5. Осложнения эзофагеального стентирования при использовании саморасправляющихся металлических стентов корректируются с помощью эндоскопических методик.

6. Необходима систематизация характера и частоты осложнений, возникающих во время установки стента и в послеоперационном периоде.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Годжелло Э.А., Хрусталева М.В., Галлингер Ю.И., Пермьяков Б.В. Выбор способа эндоскопического протезирования blastomatozных поражений пищевода, кардии и пищеводных анастомозов саморасправляющимися стентами // Вестн. хирург. гастроэнтерологии. 2011. (2). 14–26.

2. Королев М.П., Федотов Л.Е., Смирнов А.А. Эндоскопическое эндопротезирование саморасправляющимися металлическими стентами при стенозирующих заболеваниях пищевода // Вестн. хирургии. 2010. 169. (1). 58–64.

3. Кригер А.Г., Казаков И.В. Миграция стента пищевода как причина кишечной непроходимости // Хирургия. 2013. (11). 58–60.

4. Смоляр А.Н., Радченко Ю.А., Нефедова Г.А., Абакумов М.М. Осложнения стентирования пищевода // Хирургия. 2014. (12). 29–35.

5. Федоров А.Г., Давыдова С.В., Климов А.Е., Лебедев Н.В. Результаты эндопротезирования верхних отделов пищеварительного тракта саморасширяющимися стентами // Хирургия. 2013. (9). 34–38.
6. Balázs A., Kokas P., Lukovich P., Kupcsulik P. Palliative management of malignant oesophageal strictures with endoprosthesis implantation – 25 years experience // Magy Seb. 2011. 64. (6). 267–276.
7. Bjerring O.S., Pless T., Fristrup C., Mortensen M.B. Acceptable results after self-expanding metallic stent treatment for dysphagia in non-resectable oesophageal cancer // Dan. Med. J. 2012. 59. A4459.
8. Dubez A., Watson T.J., Raymond D.P., Jones C.E. et al. Esophageal stenting for malignant and benign disease: 133 cases on a thoracic surgical service // Ann. Thorac. Surg. 2011. 92. (6). 2028–2032.
9. Goenka M.K., White R.E. Esophageal stenting in cancer therapy // Ann. N.Y. Acad. Sci. 2014. 1325. (1). 89–95.
10. Freeman R.K., Ascoti A.J., Mahidhara R.J. Palliative therapy for patients with unresectable esophageal carcinoma // Surg. Clin. North. Am. 2012. 92. (5). 1337–1351.
11. Kachaamy T., Pannala R. Esophageal stents: when and how // Minerva Gastroenterol. Dietol. 2016. 62. (2). 155–166.
12. Kim J.Y., Kim S.G., Lim J.H. et al. Clinical outcomes of esophageal stents in patients with malignant esophageal obstruction according to palliative additional treatment // J. Dig. Dis. 2015. 16. (10). 575–584.
13. Konosu M., Kimura Y., Iwaya T. et al. Usefulness of esophageal stenting for esophagorespiratory fistula with esophageal cancer // Gan To Kagaku Ryoho. 2012. 39. (12). 1849–1851.
14. Martinez J.C., Puc M.M., Quiros R.M. Esophageal stenting in the setting of malignancy // ISRN Gastroenterol. 2011. 2011. 719575
15. Martins B.C., Retes F.A., Medrado B.F. et al. Endoscopic management and prevention of migrated esophageal stents // World J. Gastrointest. Endosc. 2014. 6. (2). 49–54.
16. Massey S. Esophageal cancer and palliation of dysphagia // Clin. J. Oncol. Nurs. 2011. 15. (3). 327–329.
17. Mocanu A., Bârla R., Hoara P., Constantinoiu S. Endoscopic palliation of advanced esophageal cancer // J. Med. Life. 2015. 8. (2). 193–201.
18. Rabenstein T. Palliative endoscopic therapy of esophageal cancer // Viszeralmedizin. 2015. 31. (5). 354–359.
19. Ramakrishnaiah V.P., Malage S., Sreenath G.S. et al. Palliation of dysphagia in carcinoma esophagus // Clin. Med. Insights Gastroenterol. 2016. 6. (9). 11–23.
20. Rhee K., Kim J.H., Jung D.H. et al. Self-expandable metal stents for malignant esophageal obstruction: a comparative study between extrinsic and intrinsic compression // Dis. Esophagus. 2016. 29. (3). 224–228.
21. Rueth N.M., Shaw D., D’Cunha J. et al. Esophageal stenting and radiotherapy: a multimodal approach for the palliation of symptomatic malignant dysphagia // Ann. Surg. Oncol. 2012. 19. (13). 4223–4228.
22. Zhang K., Wei S., Wu J. et al. Palliation of malignant esophageal obstruction and fistulas with covered self expandable metallic stents: assessment of a simple fluoroscopic method // Int. J. Clin. Exp. Med. 2015. 15. 8. (6). 8860–8865.

FAILINGS AND COMPLICATIONS OF ESOPHAGEAL AND ESOPHAGEAL ANASTOMOSIS STENTING

**Evgeniy Alexandrovich DROBYAZGIN^{1,2,3}, Yurii Vladimirovich CHIKINEV^{1,3},
Irina Evgenievna SUDOVYCH³, Alexander Alexandrovich ZHERAVIN²,
Sergey Valer'evich YARMOSHCHUK², Alexandr Sergeevich KUDRYAVTSEV²**

¹ *Novosibirsk State Medical University
630091, Novosibirsk, Krasnyi av., 52*

² *Research Institute of Circulation Pathology n.a. Acad. E.N. Meshalkin
630055, Novosibirsk, Rechkunovskaya str., 15, bd. 1*

³ *Novosibirsk State Regional Clinical Hospital
630097, Novosibirsk, Nemirovich-Danchenko srt., 130*

The aim of the study was the analysis of errors and complications during and after the installation of self-expanding metal stents for malignant dysphagia. Materials and Methods: Stenting of the esophagus, esophageal anastomosis and gastric cardia was performed in 172 patients. Results: Complications occurred in 38 patients. The findings suggest the need for dynamic monitoring of patients after stenting.

Key words: stenting of esophagus and esophageal anastomosis, esophageal cancer, palliative treatment of dysphagia, complications of esophageal stenting.

Drobjazgin E.A. – doctor of medical sciences, associate professor of department of hospital and children's surgery, thoracic surgeon, leading researcher, e-mail: evgenyidrob@inbox.ru

Chikinev Yu.V. – doctor of medical sciences, professor, the head of department of hospital and children's surgery, thoracic surgeon of department of thoracic surgery, e-mail: chikinev@inbox.ru

Sudovykh I.E. – candidate of medical sciences, doctor endoscopist of department of endoscopy, e-mail: isudovykh@gmail.com

Zheravin A.A. – candidate of medical sciences, the head of department, e-mail: zheravin2010@yandex.ru

Yarmoshchuk S.V. – oncosurgeon of department of radiotherapy, e-mail: kydas@mail.ru

Kudryavtsev A.S. – thoracic surgeon, oncologist of department of radiotherapy, e-mail: kydas@mail.ru

ЖЕСТКОСТЬ И ЭЛАСТИЧНОСТЬ ВОСХОДЯЩЕЙ И НИСХОДЯЩЕЙ АОРТЫ ПОСЛЕ ХИРУРГИЧЕСКОЙ КОРРЕКЦИИ КОАРКТАЦИИ АОРТЫ

Илья Александрович СОЙНОВ¹, Юрий Семенович СИНЕЛЬНИКОВ²,
Наталья Романовна НИЧАЙ¹, Игорь Анатольевич КОРНИЛОВ¹,
Галина Петровна НАРЦИССОВА¹, Дарья Станиславовна ПРОХОРОВА¹,
Эльнур Новруз-оглы ГАСАНОВ³, Александр Владимирович БОГАЧЕВ-ПРОКОФЬЕВ¹

¹ Новосибирский НИИ патологии кровообращения им. акад. Е.Н. Мешалкина
Минздрава России
630055, г. Новосибирск, ул. Речкуновская, 15

² Федеральный центр сердечно-сосудистой хирургии им. С.Г. Суханова Минздрава России
614013, г. Пермь, ул. Маршала Жукова, 35

³ НИИ клинической и экспериментальной хирургии Минздрава Азербайджанской Республики
AZ1122, г. Баку, ул. Шарифзаде, 196

Цель исследования – оценить изменения эластических свойств аорты в разные сроки наблюдения у пациентов с модифицированной реверсивной пластикой лоскутом левой подключичной артерии и расширенным (extended) анастомозом. **Материал и методы:** В данном проспективном рандомизированном исследовании выполнена оценка результатов хирургического лечения 54 пациентов, которые перенесли оперативное лечение по поводу коарктации аорты. Пациенты были разделены на две группы по методу коррекции порока: реконструкция с использованием модифицированной реверсивной пластики левой подключичной артерии (I группа, 27 человек) и реконструкция с помощью расширенного анастомоза (II группа, 27 человек). Всем пациентам оценивались два показателя: индекс растяжимости и индекс ригидности стенки восходящей и нисходящей аорты. **Результаты.** В I группе через 6, 12 и 24 мес. после операции наблюдались достоверно более высокие показатели эластичности и низкие показатели ригидности стенки аорты, чем в группе II. **Заключение.** Применение модифицированной реверсивной пластики левой подключичной артерии позволяет добиться более высоких эластических свойств дуги аорты, чем в группе расширенного анастомоза, что позволяет снизить частоту артериальной гипертензии в отдаленном послеоперационном периоде.

Ключевые слова: коарктация аорты, ригидность, эластичность.

Коарктация аорты относится к группе часто встречаемых врожденных пороков сердца, среди новорожденных и младенцев составляя 6–10 % случаев [4, 8]. В последние два десятилетия широко обсуждается роль коарктации аорты как одного из важных факторов в развитии отдален-

ных осложнений, таких как артериальная гипертензия, цереброваскулярные аневризмы и аневризмы аорты, ишемическая болезнь сердца. Как правило, такие пациенты имеют морфофункциональные нарушения крупных артерий (патология гладких миоцитов, содержание большого коли-

Сойнов И.А. – врач-сердечно-сосудистый хирург кардиохирургического отделения врожденных пороков сердца, младший научный сотрудник центра новых хирургических технологий, e-mail: i_soynov@mail.ru

Синельников Ю.С. – д.м.н., главный врач

Ничай Н.Р. – врач-сердечно-сосудистый хирург кардиохирургического отделения врожденных пороков сердца, младший научный сотрудник центра новых хирургических технологий

Корнилов И.А. – к.м.н., врач-анестезиолог отделения анестезиологии – реанимации, старший научный сотрудник центра анестезиологии и реаниматологии

Нарциссова Г.П. – д.м.н., проф., врач функциональной диагностики, ведущий научный сотрудник отделения функциональной диагностики

Прохорова Д.С. – к.м.н., врач функциональной диагностики, научный сотрудник отделения функциональной диагностики

Гасанов Э.Н.-оглы – к.м.н., зав. центром детской кардиохирургии

Богачев-Прокофьев А.В. – д.м.н., руководитель центра новых хирургических технологий

чества коллагена и низкого количества эластина) [5, 11, 13]. Изменения в стенке аорты, несмотря на устранение коарктации аорты в раннем детском возрасте или периоде новорожденности, не регрессируют [10]. Однако различные методики коррекции коарктации аорты показывают разную частоту отдаленных осложнений.

Цель исследования – оценить изменения эластических свойств аорты в разные сроки наблюдения у пациентов с модифицированной реверсивной пластикой лоскутом левой подключичной артерии и расширенным анастомозом.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В данном проспективном рандомизированном исследовании выполнена оценка результатов хирургического лечения 54 пациентов, которые перенесли оперативное лечение по поводу коарктации аорты в клинике Новосибирского НИИ патологии кровообращения им. акад. Е.Н. Мешалкина за период с 2013 по 2014 г. Реконструкция дуги выполнялась двумя методами: с использованием модифицированной реверсивной пластики левой подключичной артерии (I группа, 27 человек) и с помощью расширенного анастомоза (II группа, 27 человек). В исследование были включены пациенты до года с коарктацией и гипоплазией дистальной части дуги аорты.

Степень гипоплазии аорты оценивалась по шкале Z score [15]. Диагноз «гипоплазия дуги аорты» устанавливался в том случае, если отклонение Z дистальной дуги аорты было ≤ -2 . Эластические свойства аорты оценивались в M-режиме на двух уровнях: проксимальный отдел восходящей аорты на 5 мм выше синотубулярного гребня и нисходящая брюшная аорта, проксимальнее чревного ствола. Курсор устанавливался строго перпендикулярно линии, пересекающей центральную линию аорты. Измерялись максимальные и минимальные размеры движения стенки аорты, параллельно – давление на правой верхней конечности.

Оценивались два показателя: индекс растяжимости (D) и индекс ригидности стенки аорты (SI) [19] по формулам: $D = ((A_s - A_d) / (A_d \times (P_s - P_d) \times 1333) \times 10^7 (10^{-3} \text{ кПа}^{-1}))$ и $SI = (\ln(P_s/P_d)) / (D_s - D_d) / D_d$, где $A = (D/2)^2 \times \pi$; A_s и A_d – соответственно площадь в систолу и диастолу, мм²; P_s и P_d – соответственно систолическое и диастолическое артериальное давление, мм рт. ст. Индексы определяли на дооперационном этапе, в раннем послеоперационном периоде (через 10–15 сут), в послеоперационном периоде (через 6 мес.), в среднесрочном послеоперационном периоде (че-

рез 12 мес.) и в отдаленном послеоперационном периоде (через 2 года).

После катетеризации с целью мониторинга артериального давления правых лучевой и бедренной артерий пациента укладывали на правый бок. Выполнялась заднебоковая торакотомия по третьему межреберью. Осуществлялась мобилизация нисходящей аорты, дуги аорты до брахиоцефального ствола, а также на протяжении 3–4 см выделялась левая подключичная артерия. Открытый артериальный проток лигировался у легочного конца. Аортальные зажимы накладывались: проксимальный сразу после отхождения брахиоцефального ствола, дистальный на нисходящую аорту на 2–3 см ниже суженного участка аорты. У 27 пациентов выполнялся расширенный анастомоз [7], у 27 человек формирование расширенного косоанастомоза под дугу было дополнено реверсивной пластикой дистальной дуги лоскутом левой подключичной артерии [16].

При статистической обработке полученных данных оценивали нормальность распределения признака с помощью гистограммы распределения признака, а также критериев Колмогорова – Смирнова, Лиллиефорса и Шапиро – Уилка. Для описательной статистики нормально распределенных количественных признаков использовали параметрические методы: вычисление средних значений и средних квадратических отклонений. Количественные переменные представлены в виде медианы (Me) и квартилей (25; 75 перцентиль), если не указаны другие. Качественные переменные представлены в виде чисел (%). При сравнении двух независимых групп использовали t-критерий Стьюдента для признаков с гауссовским распределением и U-критерий Манна–Уитни для признаков с ненормальным распределением. При сравнении трех независимых групп по одному количественному признаку использовались методы непараметрической статистики (ранговый анализ вариаций по Краскелу–Уоллису). При выявлении статистически значимых различий в группах проводилось парное сравнение групп с использованием непараметрического теста Манна–Уитни с поправкой Бонферрони для преодоления проблем множественных сравнений. Различия при $p \leq 0,05$ считали статистически значимыми.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Все дети относились к группе доношенных. Возраст больных колебался от 1 до 281 дня (средний возраст 65,6 (12; 94) дня). В общей когорте пациентов преобладали мальчики 36 (66,6 %), девочек было 18 (33,4 %). Остальные

Таблица 1

Демографические характеристики пациентов до операции, Ме (25; 75 процентиль)

Характеристика	I группа (n = 27)	II группа (n = 27)	p
Возраст до операции, дни	63,61 (9; 96)	67,55 (21; 94)	0,85
Рост до операции, см	55,62 (50; 58)	56,33 (51; 59)	0,91
Масса тела до операции, кг	3,95 (3,2; 4,2)	4,51 (3,2; 5,1)	0,11
Площадь поверхности тела до операции, м ²	0,24 (0,21; 0,26)	0,25 (0,21; 0,29)	0,35
Половое распределение, мужчины/женщины, n (%)	15 (57,7 %)/11 (42,3 %)	20 (76,9 %)/6 (23,1 %)	0,08
Двустворчатый аортальный клапан	15 (55,5 %)	12 (44,4 %)	0,23

Таблица 2

Эластические свойства восходящей и нисходящей аорты, Ме (25; 75 процентиль)

Восходящая аорта						
До операции						
Группа	Систолическое АД, мм рт. ст.	Диастолическое АД, мм рт. ст.	Максимальный размер, мм	Минимальный размер, мм	Индекс ригидности	Индекс растяжимости
I группа	95,5 (84; 112)	57,7 (45; 70)	9,1 (8,1; 10,2)	8,2 (7,2; 9,1)	4,4 (3,9; 4,9)	47,8 (43; 54)
II группа	100,3 (89; 109)	59,9 (55; 65)	9,1 (8,3; 9,8)	8,1 (7,3; 8,7)	4,4 (3,7; 5)	47,0 (40; 54)
Ранний послеоперационный период 10–15 суток						
I группа	92,8 (84; 101)	60,6 (55; 65)	9,3 (8,4; 10,2)	8,0 (7,1; 8,8)	2,5 (2,3; 2,9)	87,5 (70; 97)
II группа	91,4 (86; 98)	61,3 (57; 67)	9,1 (8,4; 9,8)	7,9 (7,3; 8,6)	2,6 (2,3; 3,1)	82,4 (66; 97)
Послеоперационный период (6 мес.)						
I группа	93,5 (84; 100)	60,8 (55; 65)	10,9 (10,1; 11,8)	9,3 (8,7; 10,3)	2,8 (2,2; 3,3)	82,4 (62,5; 100)
II группа	102,7 (97; 105)	63,7 (61; 66)	11,3 (10,6; 11,8)	9,9 (9,2; 10,5)	3,3 (2,8; 3,7)	61,7 (54,5; 73)
Среднесрочный послеоперационный период (12 мес.)						
I группа	95,0 (88; 100)	57,7 (51; 63)	12,8 (12,3; 13,3)	11,1 (10,6; 11,6)	3,4 (3; 3,95)	66,2 (55; 76)
II группа	104,1 (99; 108)	64,5 (62; 67)	12,1 (11,1; 13,1)	10,7 (9,7; 11,4)	3,8 (3,1; 4,3)	53,7 (45; 64)
Отдаленный послеоперационный период (2 года)						
I группа	101 (97; 105)	61,0 (58; 62)	14,1 (13,8; 14,6)	12,4 (12,2; 12,7)	3,55 (3; 4,3)	59,3 (46; 68)
II группа	105,4 (98; 112)	65,7 (61; 69)	13,1 (12,8; 13,7)	11,6 (11,2; 12,1)	4,0 (3,5; 4,4)	49,2 (42; 57)
Нисходящая аорта						
До операции						
I группа	67,5 (58; 77)	41,7 (34; 39)	5,8 (5,2; 6,4)	4,7 (4,1; 5)	2,0 (1,6; 2,3)	165,0 (131; 195)
II группа	71,1 (65; 78)	46,4 (41; 51)	5,8 (5,3; 6,2)	4,8 (4,3; 5,3)	1,9 (1,6; 2,2)	158,0 (138; 187)
Ранний послеоперационный период 10–15 суток						
I группа	92,8 (84; 101)	60,6 (55; 65)	6,0 (5,3; 6,5)	4,9 (4,3; 5,4)	1,9 (1,5; 2,1)	118,5 (96; 136)
II группа	91,4 (86; 98)	61,3 (57; 67)	5,9 (5,4; 6,3)	4,8 (4,3; 5,2)	1,8 (1,6; 2)	125,9 (109; 147)
Послеоперационный период (6 мес.)						
I группа	93,5 (84; 100)	60,8 (55; 65)	7,3 (6,9; 7,8)	6,0 (5,8; 6,4)	2,1 (1,9; 2,4)	108,8 (85; 126)
II группа	102,7 (97; 105)	63,7 (61; 66)	7,1 (6,7; 7,6)	5,8 (5,4; 6,3)	2,2 (2; 2,4)	91,3 (82,5; 99,5)
Среднесрочный послеоперационный период (12 мес.)						
I группа	95,0 (88; 100)	57,7 (51; 63)	8,0 (7,7; 8,2)	6,6 (6,3; 6,8)	2,3 (2; 2,6)	94,5 (85; 102,1)
II группа	104,1 (99; 108)	64,5 (62; 67)	7,4 (6,8; 7,9)	6,15 (5,6; 6,6)	2,6 (2,3; 2,75)	83,5 (71; 95)
Отдаленный послеоперационный период (2 года)						
I группа	101,0 (97; 105)	61 (58; 62)	9,1 (8,8; 9,4)	7,5 (7,3; 7,8)	2,4 (2,2; 2,6)	88,0 (80; 96)
II группа	105,4 (98; 112)	65,7 (61; 69)	8,1 (7,6; 8,5)	6,8 (6,3; 7,2)	2,4 (2,2; 2,6)	83,7 (73; 88)

демографические характеристики пациентов приведены в табл. 1. Основные показатели эластических свойств в различные сроки наблюдения представлены в табл. 2. Анализ основных параметров растяжимости и ригидности восходя-

щей аорты до операции показал высокий индекс ригидности и низкий уровень растяжимости, по величине показателей группы достоверно не различались (соответственно $p = 0,91$ и $p = 0,76$). Противоположные изменения наблюдались в

Таблица 3

Внутригрупповое сравнение параметров эластических свойств аорты, Ме (25; 75 процентиль)

Характеристика	До операции	После операции	6 мес.	12 мес.	24 мес.	<i>p</i>
I группа						
Индекс ригидности восходящей аорты	4,5 (3,9; 4,9)	2,5 (2,3; 2,9)	2,8 (2,2; 3,3)	3,4 (3,0; 4,0)	3,6 (3,0; 4,3)	<0,001
Индекс растяжимости восходящей аорты	47,8 (43; 54)	87,5 (70; 97)	82,4 (62; 100)	66,2 (55; 76)	59,3 (46; 68)	<0,001
Индекс ригидности нисходящей аорты	2,0 (1,6; 2,3)	1,9 (1,5; 2,1)	2,1 (1,9; 2,4)	2,3 (2,0; 2,6)	2,4 (2,2; 2,6)	<0,001
Индекс растяжимости нисходящей аорты	165,0 (131; 195)	118,5 (96; 136)	108,8 (85; 126)	94,5 (85; 102)	88,0 (80; 96)	<0,001
II группа						
Индекс ригидности восходящей аорты	4,4 (3,7; 5,0)	2,6 (2,3; 31,0)	3,3 (2,8; 3,7)	3,8 (3,1; 4,3)	4,0 (3,5; 4,4)	<0,001
Индекс растяжимости восходящей аорты	47,0 (40; 54)	82,4 (66; 97)	61,7 (54; 73)	53,7 (45; 64)	49,2 (42; 57)	<0,001
Индекс ригидности нисходящей аорты	1,9 (1,6; 2,2)	1,8 (1,6; 2,0)	2,2 (2,0; 2,4)	2,6 (2,3; 2,8)	2,4 (2,2; 2,6)	<0,001
Индекс растяжимости нисходящей аорты	158,0 (138; 187)	125,9 (109; 147)	91,3 (82; 100)	83,5 (71; 95)	83,7 (73; 88)	<0,001

нисходящей аорте, где индекс ригидности был низким, а индекс растяжимости – высоким, достоверной разницы между группами также не было (соответственно $p = 0,22$ и $p = 0,54$).

В раннем послеоперационном периоде показатели ригидности и растяжимости восходящей аорты были значительно улучшены, однако не различались достоверно между группами (для индекса ригидности $p = 0,38$, для индекса растяжимости $p = 0,4$). Показатели ригидности и эластичности в нисходящей аорте были снижены за счет подъема артериального давления в нижней половине и не отличались между группами (для индекса ригидности $p = 0,22$, для индекса растяжимости $p = 0,32$).

При обследовании пациентов через 6 месяцев была выявлена тенденция к снижению растяжимости аорты и повышению ригидности в обеих группах как для восходящей, так и для нисходящей аорты. При этом в I группе индекс растяжимости восходящей аорты был достоверно выше ($p < 0,01$), а индекс ригидности – ниже, чем во II группе ($p < 0,01$). Индекс растяжимости нисходящей аорты был выше в I группе ($p = 0,017$), по величине индекса ригидности нисходящей аорты группы достоверно не различались ($p = 0,19$).

Через 1 год после операции также обнаружена тенденция к уменьшению растяжимости и повышению ригидности как восходящей, так и нисходящей аорты в обеих группах. В I группе индекс растяжимости восходящей ($p < 0,01$) и нисходящей аорты ($p = 0,03$) был значительно

выше, а индекс ригидности – ниже ($p = 0,017$ и $p = 0,02$ соответственно), чем во II группе. Через два года показатели ригидности и растяжимости восходящей и нисходящей аорты в обеих группах продолжили тенденцию к снижению; в I группе индекс растяжимости восходящей аорты был достоверно больше, чем во II группе ($p < 0,01$), в то время как индекс ригидности, напротив, был выше во II группе ($p = 0,049$), по растяжимости и ригидности нисходящей аорты группы статистически значимо не различались (для индекса ригидности $p = 0,95$, для индекса растяжимости $p = 0,41$).

Внутригрупповое сравнение при оценке параметров эластических свойств аорты проводилось с использованием дисперсионного анализа и поправки Бонферрони (табл. 3); получена статистически достоверная разница между группами по всем оцениваемым параметрам.

ОБСУЖДЕНИЕ

При коарктации аорты, как и при любой другой врожденной аномалии дуги аорты, происходит нарушение коллагено-эластического каркаса, что приводит к сосудистой дисфункции [1, 18], которая, в свою очередь, у пациентов после хирургической коррекции порока может иметь большое значение с точки зрения долгосрочного прогноза. У 30 % людей с этой патологией имеется риск раннего возникновения артериальной гипертензии, аневризм аорты и брахиоцефальных

сосудов, ишемической болезни сердца и ишемического инсульта [3, 17]. Впервые сосудистая дисфункция описана в 1985 г., что явилось прорывом в понимании патологического процесса [9]. Как правило, такие пациенты имеют морфофункциональные нарушения крупных артерий. До сих пор остается неясной основа вышеуказанных осложнений: патология гладких миоцитов, волокнистых структур или их сочетание, которое влияет на растяжимость и ригидность стенки аорты [4, 8, 13].

Высокая жесткость и низкая эластичность аорты до операции, по мнению многих авторов, у данной когорты пациентов присутствуют с рождения. M. Vogt и соавторы предполагают, что такие дети имеют генетический дефект, который приводит как к возникновению коарктации аорты, так и к нарушению ее эластических свойств [19]. Кроме того, генетическая теория находит объяснения и у морфологов, которые, проведя исследование у новорожденных с данной патологией, обнаружили высокое содержание в их аортах волокон коллагена и низкое содержание волокон эластина и гладких миоцитов в отличие от детей, не имеющих порок [5, 6, 11].

В нашем исследовании мы также видим высокую жесткость и низкую эластичность стенки аорты, однако после операции отмечаем практически двукратное снижение жесткости и двукратное повышение эластичности стенки аорты. Подобные исследования показывают, что устранение обструкции приводит к уменьшению артериального давления на нижних конечностях, что улучшает пульсирующие движения стенки аорты [10, 18, 19]. В то же время сами эластические свойства не улучшаются, и в большинстве случаев с течением времени ригидность стенки аорты повышается, а растяжимость снижается [2, 3]. Наше исследование подтверждает эти данные в обеих группах, однако эластические свойства аорты в отдаленном периоде в группе с расширенным анастомозом была значительно хуже. Артериальное давление также было выше в группе с extended анастомозом, поэтому оценка упругоэластических свойств позволяет заподозрить артериальную гипертензию. Мы считаем, что их ухудшение может быть связано с послеоперационным ремоделированием дуги. P. Ou и соавторы установили, что всех послеоперационных пациентов можно отнести к одной из трех групп по морфологии дуги аорты: готическая, амбразурная и романическая [14]. L. Olivieri и соавторы [12], на основании данных магнитно-резонансной томографии, оценивая эти типы дуг аорты в сравнении с нативной, показали, что напряжение потока крови на стенку аорты во всех

трех ремоделированных дугах аорты значительно выше, чем в нативной дуге, однако максимальное напряжение отмечено у готической дуги. В связи с этим можно отметить, что геометрические неровности или «углы», которые представляют препятствие току крови в ремоделированных дугах, могут напрямую влиять на эластические свойства аорты и, как следствие, на артериальную гипертензию.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выполнение модифицированной реверсивной пластики левой подключичной артерии позволяет добиться более высоких эластических свойств дуги аорты, чем применение расширенного анастомоза, что позволяет снизить частоту артериальной гипертензии в отдаленном послеоперационном периоде.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Авторы не получали финансовой поддержки.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявили об отсутствии потенциально-го конфликта интересов.

БЛАГОДАРНОСТЬ

Авторы выражают благодарность Thomas L. Spray за помощь при написании статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Горбатов Ю.Н., Синельников Ю.С., Сойнов И.А. и др. Хирургическая коррекция аномалий дуги аорты у младенцев в условиях искусственного кровообращения // Хирургия. 2015. (8). 18–21.
2. Прохорова Д.С., Нарциссова Г.П., Горбатов Ю.Н. и др. Сравнительная оценка эластических свойств аорты у новорожденных с коарктацией аорты до и после хирургической коррекции // Патол. кровообращения и кардиохирургия. 2011. (2). 17–20.
3. Синельников Ю.С., Кшановская М.С., Прохорова Д.С. и др. Хирургическая коррекция коарктации аорты, всегда ли оправданы ожидания? // Сиб. мед. журн. 2013. 28. (4). 55–58.
4. Сойнов И.А., Синельников Ю.С., Горбатов А.В. и др. Артериальная гипертензия у пациентов после коррекции коарктации и гипоплазии дуги аорты // Патол. кровообращения и кардиохирургия. 2015. (2). 102–113.
5. Сойнов И.А., Синельников Ю.С., Кливер Е.Э. и др. Морфологические особенности брахице-

фальных артерий у пациентов с гипоплазией дуги аорты // Патол. кровообращения и кардиохирургия. 2015. (4). 14–18.

6. Тодоров С.С. Патоморфологическая характеристика изменений аорты при коарктации у детей первого года жизни // Вестн. ВолгГМУ. 2009. (3). 73–76.

7. Backer C., Mavroudis C., Zias E.A. Repair of coarctation with resection and extended end-to-end anastomosis // Ann. Thorac. Surg. 1998. 66. 1365–1371.

8. Canniffe C., Ou P., Walsh K. et al. Hypertension after repair of aortic coarctation – a systematic review // Int. J. Cardiol. 2013. 167. 2456–2461.

9. Gidding S., Rocchini A., Moorehead C. et al. Increased forearm vascular reactivity in patients with hypertension after repair of coarctation // Circulation. 1985. 71. 495–499.

10. Kuhn A., Baumgartner C., Horer J. et al. Impaired elastic properties of the ascending aorta persist within the first 3 years after neonatal coarctation repair // Pediatr. Cardiol. 2009. 30. 46–51.

11. Machii M., Becker A.E. Morphologic features of the normal aortic arch in neonates, infants, and children pertinent to growth // Ann. Thorac. Surg. 1997. 64. 511–515.

12. Olivieri L., de Zélicourt D., Haggerty C. et al. Hemodynamic modeling of surgically repaired coarctation of the aorta // Cardiovasc. Eng. Technol. 2011. 2. (4). 288–295.

13. O'Sullivan J.J. Late hypertension in patients with repaired aortic coarctation // Curr. Hypertens. Rep. 2014. 16. 421–426.

14. Ou P., Celermajer D., Mousseaux E. et al. Vascular remodelling after successful repair of coarctation // J. Am. Coll. Cardiol. 2007. 49. 883–890.

15. Pettersen M.D., Du W., Skeens M.E., Humes R.A. Regression equations for calculation of z scores of cardiac structures in a large cohort of healthy infants, children, and adolescents: an echocardiographic study // J. Am. Soc. Echocardiogr. 2008. 21. (8). 922–934.

16. Sinelnikov Y.S., Gorbatyh A.V., Ivantsov S.M. et al. Reverse subclavian flap repair and maintenance of antegrade blood flow within the left subclavian artery in neonates with aortic coarctation and distal arch hypoplasia // Heart Surg. Forum. 2013. 16. (1). 52–56.

17. Toro-Salazar O.H., Steinberger J., Thomas W. et al. Long-term follow-up of patients after coarctation of the aorta repair // Am. J. Cardiol. 2002. 89. 541–547.

18. Vitarelli A., Giordano M., Germano G. et al. Assessment of ascending aorta wall stiffness in hypertensive patients by tissue Doppler imaging and strain Doppler echocardiography // Heart. 2010. 96. 1469–1474.

19. Vogt M., Kühn A., Baumgartner D. et al. Impaired elastic properties of the ascending aorta in newborns before and early after successful coarctation repair // Circulation. 2005. 111. 3269–3273.

THE STIFFNESS AND ELASTICITY OF THE ASCENDING AND DESCENDING AORTA AFTER SURGICAL CORRECTION OF COARCTATION OF THE AORTA

Ilya Alexandrovich SOYNOV¹, Yuriy Semenovich SINELNIKOV²,
Nataliya Romanovna NICHAY¹, Igor Anatol'evich KORNILOV¹,
Galina Petrovna NARTISSOVA¹, Darya Stanislavovna PROKHOROVA¹,
Elnur Novruz-ogly GASANOV³, Alexandr Vladimirovich BOGACHEV-PROKOFYEV¹

¹ *Research Institute of Circulation Pathology n.a. E.N. Meshalkin
630055 Novosibirsk, Rechkunovskaya str., 15*

² *Federal Center of Cardiac Surgery n.a. S.G. Sukhanov
614013 Perm, Marshal Zhukov str., 35*

³ *Research Institute for Clinical and Experimental Surgery
AZ1122, Azerbaijan, Baku, Sharifzade str., 196*

Aim: To assess the changes in the elastic properties of the aorta during different follow-up period in patients underwent coarctation repair using a modified reverse left subclavian artery flap plasty and extended end-to-end anastomosis. **Materials and methods:** This was a prospective randomized study of the 54 patients underwent repair of coarctation of the aorta. Patients were divided in 2 groups depending on the correction type: reconstruction using the modified reverse left subclavian artery flap plasty (I group, 27 pts) or extended end-to-end anastomosis (II group, 27 pts). The 2 parameters were assessed in all patients – extensibility of the aortic wall and index of the aortic wall rigidity. **Results:** The statistically significant differences were found between two groups during the follow-up period (6, 12, 24 months). In the I group elastic properties were higher and index of the aortic wall rigidity was lower than in the II group. **Conclusion:** The method of modified reverse left subclavian artery flap plasty has shown higher aortic arch elastic properties than in the group with extended anastomosis technique, that allows reducing an arterial hypertension rate in late post-op period.

Key words: coarctation of the aorta, rigidity, elasticity.

Soynov I.A. – cardiovascular surgeon of congenital heart disease department, researcher of new surgical technologies center, e-mail: i_soynov@mail.ru

Sinelnikov Yu.S. – doctor of medical sciences, chief medical officer

Nichay N.R. – cardiovascular surgeon, junior

Kornilov I.A. – candidate of medical sciences, anesthesiologist, senior researcher

Nartissova G.P. – doctor of medical sciences, professor; doctor of functional diagnostics, leading researcher

Prokhorova D.S. – candidate of medical sciences, doctor of functional diagnostics, researcher

Gasarov E.N.-ogly – candidate of medical sciences, head of center for pediatric cardiac surgery

Bogachev-Prokofyev A.V. – doctor of medical sciences, head of new surgical technologies center

ФОРМИРОВАНИЕ НЕЙТРОФИЛЬНЫХ ВНЕКЛЕТОЧНЫХ ЛОВУШЕК У ПАЦИЕНТОВ С ОСТЕОАРТРОЗОМ И ИСХОДОМ ЭНДОПРОТЕЗИРОВАНИЯ ТАЗОБЕДРЕННОГО СУСТАВА

Елена Ивановна КУЗНЕЦОВА, Марина Владимировна ЧЕПЕЛЕВА, Олег Константинович ЧЕГУРОВ, Николай Михайлович КЛЮШИН, Наталья Владимировна САЗОНОВА, Андрей Владимирович КАМИНСКИЙ, Артем Михайлович ЕРМАКОВ, Юрий Владимирович АБАБКОВ, Борис Викторович КАМШИЛОВ

*Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия» им. акад. Г.А. Илизарова Минздрава России
640014, г. Курган, ул. Марии Ульяновой, 6*

На клиническом материале проведен сравнительный анализ способности нейтрофилов к формированию внеклеточных ловушек (NET) у пациентов с первичным остеоартрозом (ОА) тазобедренного сустава III стадии, с асептической нестабильностью, с перипротезной инфекцией и у пациентов с неосложненным течением послеоперационного периода в отдаленные сроки после первичного эндопротезирования тазобедренного сустава. Для подсчета NET использовали мазки периферической крови, окрашенные по Романовскому–Гимзе. Согласно полученным данным, наибольшей способностью к формированию NET отличались нейтрофильные фагоциты у больных с перипротезной инфекцией, а также с асептической нестабильностью эндопротеза, что свидетельствует о том, что индуцировать внешний фагоцитоз у пациентов с осложнениями после эндопротезирования способны не только бактериальные агенты, но и факторы немикробной природы (продукты деградаци хряща при ОА и дебрис в случае развития асептической нестабильности эндопротеза).

Ключевые слова: нейтрофильные внеклеточные ловушки, остеоартроз, перипротезная инфекция, асептическая нестабильность эндопротеза.

В последнее время активно обсуждается способность нейтрофилов образовывать внеклеточные нейтрофильные ловушки (neutrophil extracellular traps – NET). NET представляют собой один из базовых механизмов противоинфекционной защиты, биологическая функция которого не менее важна, чем фагоцитоз и секреция медиаторов [1, 11].

С одной стороны, NET функционируют как эффективный антимикробный барьер. С другой

стороны, в случае неполноценности противодействующих регуляторных механизмов, чрезмерное образование сетей ДНК, содержащих медиаторы воспаления, может вызвать локальные аутоиммунные реакции с повреждением тканей, усиление воспалительной реакции, гемодинамические расстройства [13, 16]. Большинство существующих методик обнаружения NET требует наличия специального оборудования и дорогостоящих реагентов. Мы выбрали наиболее доступный ме-

Кузнецова Е.И. – младший научный сотрудник научно-клинической лаборатории микробиологии и иммунологии, e-mail: citoz@mail.ru

Чепелева М.В. – к.м.н., старший научный сотрудник научно-клинической лаборатории микробиологии и иммунологии, e-mail: Vladi_2000@hotmail.ru

Чегуров О.К. – д.м.н., зав. травматолого-ортопедическим отделением № 16, зав. лабораторией реконструктивного эндопротезирования и артроскопии

Клюшин Н.М. – д.м.н., зав. лабораторией гнойной остеологии и замещения дефектов конечностей, врач-травматолог-ортопед, e-mail: elenka_kgn@mail.ru

Сазонова Н.В. – д.м.н., зав. консультативно-диагностическим отделением, e-mail: nv.sazonova@yandex.ru

Каминский А.В. – к.м.н., старший научный сотрудник, врач-травматолог-ортопед, зав. травматолого-ортопедическим отделением № 8

Ермаков А.М. – к.м.н., врач-травматолог-ортопед

Абабков Ю.В. – зав. гнойным травматолого-ортопедическим отделением № 1, врач-травматолог-ортопед

Камшилов Б.В. – к.м.н., зав. травматолого-ортопедическим отделением № 7, врач-травматолог-ортопед

год с использованием красителей азура и эозина и световой микроскопии, который может широко использоваться в клинической практике для проведения скрининговых и рутинных лабораторных исследований [6].

Несмотря на многочисленные исследования и интерес к относительно недавно открытому механизму защиты, осуществляемому нейтрофильными гранулоцитами, многие вопросы остаются не раскрытыми. В частности, убедительно доказано участие NET в патогенезе многих аутоиммунных, онкологических, инфекционных, аллергических, паразитарных заболеваний [5]. В то же время практически не встречаются сведения об их роли в этиопатогенезе первичного остеоартроза (ОА), а также в развитии осложнений эндопротезирования. Между тем, согласно данным статистики, в Российской Федерации распространенность ОА за последние годы возросла на 48 %, а ежегодная первичная заболеваемость – более чем на 20 %. ОА встречается у каждого третьего человека в возрасте от 45 до 64 лет и у 60–70 % людей старше 65 лет [8].

Наиболее оправданным методом хирургического лечения поздних стадий ОА является эндопротезирование. Несмотря на весьма значимые успехи современной ортопедии, процент осложнений эндопротезирования высок. Среди всех причин ревизионных операций на долю асептического расшатывания приходится от 60 до 73,8 %. Частота инфекционных осложнений после первичной артропластики составляет 0,2–3 %, а при повторных операциях риск инфицирования возрастает до 33 % [12, 15]. Исход имплантации зависит от многих факторов, в том числе от состояния и реактивности иммунной системы [3, 7].

Цель исследования – провести сравнительный анализ уровня NET у пациентов с первичным ОА тазобедренного сустава, асептической нестабильностью, перипротезной инфекцией, а также в отдаленные сроки после имплантации при благоприятном исходе эндопротезирования.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Обследовано 26 пациентов (12 мужчин и 14 женщин) с первичным ОА тазобедренного сустава III стадии, 25 пациентов (12 мужчин и 13 женщин) через 12–24 месяца после первичного эндопротезирования тазобедренного сустава, 26 пациентов (12 мужчин и 14 женщин) с асептической нестабильностью, развившейся через 12–24 месяца после имплантации и 24 пациента (12 мужчин и 12 женщин) с перипротезной инфекцией тазобедренного сустава, развившейся через 12–36 месяцев после эндопротезирования.

Средний возраст обследованных пациентов составил $46,0 \pm 5,0$ года. В обследуемую выборку не входили пациенты с аутоиммунными заболеваниями, носители HCV, HBsAg, HIV. В контрольную группу вошли 35 относительно здоровых добровольцев (20 женщин и 15 мужчин), средний возраст которых составил $46,5 \pm 5,0$ года.

Для подсчета NET использовали мазки периферической крови на предметном стекле, зафиксированные 96%-м этиловым спиртом и окрашенные по Романовскому–Гимзе в течение 30 минут. Учет NET производился при помощи светового микроскопа Axio Lab.A 1 (Karl Zeiss MicroImaging GmbH, Германия; объектив $\times 100$, окуляр $\times 12,5$) с использованием масляной иммерсии. Подсчитывали процент нейтрофилов, прошедших стадию трансформации ядра и выбросивших во внеклеточное пространство свободный хроматин в виде сетеподобных структур [6].

Все лица, участвовавшие в исследовании, дали информированное добровольное согласие на медицинское вмешательство и публикацию данных, полученных в результате исследования, без идентификации личности.

Полученные результаты обработаны с помощью методов непараметрической статистики с использованием U-критерия Вилкоксона и представлены в виде медиан и интерквартильных размахов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При подсчете NET мы учитывали стадии развития ловушек, которые в соответствии с морфологическими признаками были разделены на три группы. На самой ранней стадии образования NET, обозначенной как 1а, внутри нейтрофила визуализировались отдельные вакуоли на фоне хроматина, имеющего плотную структуру и распределенного по всей внутренней поверхности клетки. Хроматин начинал приобретать сетчатую структуру, при этом оболочка клетки все еще оставалась плотной (рисунок, а). На стадии 1б хроматин занимал всю внутреннюю поверхность клетки, приобретая сетчатую структуру, сетка становилась нитевидной, утонченной, вакуоли не просматривались, клетка теряла округлую форму, оболочка нейтрофила истончалась, ее толщина становилась неравномерной, на поверхности оболочки визуально определялись выпячивания, однако выхода волокон ДНК на данной стадии NET еще не наблюдалось (рисунок, б). Стадия 2 определялась как зрелая ловушка. На данной стадии хроматин в виде сети выбрасывался во внеклеточное пространство (рисунок, в).

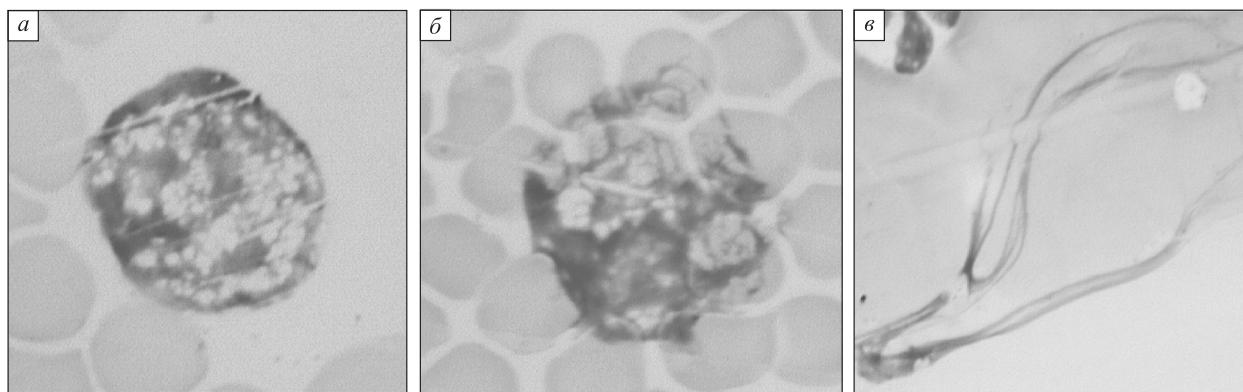


Рис. Стадии развития NET в соответствии с морфологическими признаками: 1а (а), 1б (б) и зрелая (в)

Согласно полученным данным, абсолютное содержание нейтрофилов у пациентов с ОА и в отдаленные сроки после эндопротезирования при отсутствии осложнений не имело статистически значимых отличий от контрольной группы, а у пациентов с асептической нестабильностью и перипротезной инфекцией достоверно превышало значения контроля (таблица).

В контрольной группе ранние стадии NET не определялись, а единичные ловушки были представлены зрелыми формами. У пациентов с ОА и благоприятным течением эндопротезирования количество NET было достоверно выше, чем в

контроле. В обеих группах выявлены NET на ранних стадиях развития. Количество зрелых ловушек у пациентов с ОА практически не отличалось от значений контрольной группы, а у пациентов в отдаленные сроки после эндопротезирования, при условии отсутствия осложнений, даже имело тенденцию к снижению. Еще большее содержание NET определялось в группе с асептической нестабильностью имплантата. Увеличение числа NET происходило преимущественно за счет ранних стадий (1а, 1б). Относительное содержание зрелых ловушек достоверно не отличалось от контрольной группы, а абсолютное количество

Таблица

Содержание нейтрофилов и NET в периферической крови у пациентов с суставной патологией

Содержание	Контрольная группа	ОА	Отдаленные результаты эндопротезирования без осложнений	Асептическая нестабильность	Перипротезная инфекция
Нейтрофилы, 10 ⁹ /л	3,31 (2,9–4,1)	3,4 (2,0–5,1)	3,2 (2,6–4,1)	4,0* (3,2–5,0)	4,3* (3,5–5,3)
NET, %	1,0 (0,0–2,0)	2,5* (1,5–4,5)	2,0* (1,0–3,0)	4,5* (2,0–7,0)	8,0** (4,0–15,0)
NET, 10 ⁹ /л	0,03 (0,00–0,08)	0,08* (0,04–0,18)	0,08* (0,03–0,18)	0,20* (0,06–0,38)	0,36** (0,13–0,90)
В том числе: стадия 1а, %	0	1,0 (0,0–1,5)	1,0 (0,0–1,0)	1,0* (0,0–2,0)	2,0* (0,0–4,0)
стадия 1а, 10 ⁹ /л	0	0,03 (0,00–0,06)	0,04 (0,00–0,05)	0,04* (0,00–0,11)	0,09* (0,00–0,24)
стадия 1б, %	0	1,0* (0,5–1,5)	1,0* (1,0–1,0)	2,0* (1,0–3,5)	2,0* (1,0–4,0)
стадия 1б, 10 ⁹ /л	0	0,03* (0,02–0,06)	0,04* (0,03–0,10)	0,08* (0,03–0,19)	0,09* (0,03–0,24)
зрелая NET, %	1,0 (0,0–2,0)	1,0 (0–2,0)	0,0 (0,0–1,0)	1,5 (1,0–2,0)	4,0** (3,0–7,0)
зрелая NET, 10 ⁹ /л	0,03 (0,00–0,08)	0,03 (0,00–0,08)	0,00 (0,00–0,06)	0,06* (0,03–0,11)	0,18** (0,10–0,41)

Примечание. Обозначены статистически значимые отличия от величин соответствующих показателей контрольной группы: * – при $p < 0,05$, ** – при $p < 0,01$.

зрелых NET превышало значения контроля. Наиболее высокое содержание NET было выявлено у пациентов с перипротезной инфекцией. В этой группе наблюдалось существенное повышение как ранних, так и зрелых форм NET.

Как известно, дегенерация хряща сопровождается поступлением в синовиальную жидкость продуктов деградации (фрагментов молекул протеогликанов и коллагена, мембран хондроцитов), которые, обладая антигенными свойствами, индуцируют выработку аутоантител [10, 14]. Возможно, воспринимаясь как чужеродный материал, продукты деградации тканей хряща провоцируют образование NET, чем и объясняется появление ранних стадий NET у пациентов с ОА. Согласно современным представлениям, реакция костной ткани на имплантат, известная как стрессовое ремоделирование, проявляется первоначальным усилением резорбции и рассматривается как адаптация к новым условиям, при этом она вызывает расшатывание эндопротеза. Асептическая нестабильность и околопротезный остеолитизис являются результатом биологического ответа на продукты изнашивания эндопротеза (дебрис) [9]. По нашему мнению, именно дебрис является причиной умеренного повышения количества NET у пациентов с асептической нестабильностью.

Наиболее высокое содержание NET выявлено у пациентов с перипротезной инфекцией. В этой группе наблюдалось существенное увеличение числа как ранних, так и зрелых форм NET, что объясняется стимулирующим влиянием патогенной микрофлоры, а также усиливающейся при этом кислородзависимой метаболической активностью нейтрофилов [4]. Доказано, что эти факторы участвуют в механизме подключения внешнего фагоцитоза у нейтрофилоцитов [2].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, учитывая, что NET функционируют как эффективный антимикробный барьер, можно предположить важную роль нетоза в элиминации патогенной микрофлоры при развитии перипротезной инфекции. В то же время, согласно полученным данным, индуцировать образование NET у пациентов ортопедотравматологического профиля способны не только бактериальные агенты, но и факторы немикробной природы. В качестве таких факторов могут выступать продукты деградации хряща при ОА и дебрис при имплантации сустава. Можно предположить, что в случае неполноценности противодействующих регуляторных механизмов чрезмерное образование сетей ДНК, содержащих медиаторы воспаления, может вызвать локальные

аутоиммунные реакции с повреждением тканей, гемодинамические расстройства, а следовательно, способствовать к дальнейшему расшатыванию имплантата при асептической нестабильности, усилению активности воспалительного процесса у больных с перипротезной инфекцией.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Долгушин И.И., Андреева Ю.С., Савочкина А.Ю. Нейтрофильные внеклеточные ловушки и методы оценки функционального статуса нейтрофилов. М., 2009. 208 с.
2. Коротина О.Л., Генералов И.И. Нейтрофильные внеклеточные ловушки: механизмы образования, функции // Иммунопатология, аллергология, инфектология. 2012. (4). 23–32.
3. Кузнецова Е.И., Чепелева М.В., Камшилов Б.В. Показатели фагоцитарной активности нейтрофилов периферической крови у больных с развившейся нестабильностью эндопротеза в отдаленные сроки после имплантации крупных суставов // Гений ортопедии. 2011. (4). 82–84.
4. Кузнецова Е.И., Розова Л.В. Особенности врожденного иммунного ответа у больных с хроническим остеомиелитом в зависимости от микробного пейзажа // Междунар. журн. прикл. и фундамент. исслед. 2015. 7. (2). 234–237.
5. Нестерова И.В., Колесникова Н.В., Чудилова Г.А. и др. Нейтрофильные гранулоциты: новый взгляд на «старых игроков» на иммунологическом поле // Иммунология. 2015. (4). 257–266.
6. Савочкина А.Ю. Нейтрофильные внеклеточные ловушки: механизмы образования, методы обнаружения, биологическая роль: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Челябинск, 2012.
7. Чепелева М.В., Ключин Н.М., Ермаков А.М. и др. Интерлейкин-6 в прогнозировании течения послеоперационного периода у пациентов с перипротезной инфекцией тазобедренного сустава // Сиб. науч. мед. журн. 2015. 35. (4). 45–48.
8. Шостак Н.А. Остеоартроз: актуальные вопросы диагностики и лечения // Рус. мед. журн. 2014. 22. (4). 278–281.
9. Схемы назначения препаратов, регулирующих интенсивность стрессового ремоделирования вокруг имплантата, при эндопротезировании тазобедренного сустава: пособие для врачей / ЦНИИТО им. Н.Н. Приорова; сост.: С.П. Миронов, С.С. Родионова, А.Ф. Колондаев и др. М., 2002. 14 с.
10. Athanasou N.A. The pathobiology and pathology of aseptic implant failure // Bone Joint Res. 2016. 5. (5). 162–168.
11. Brinkmann V., Reichard U., Goosmann C. et al. Neutrophil extracellular traps kill bacteria // Science. 2004. 303. (5663). 1532–1535.
12. Darwiche H., Barsoum W.K., Klika A. et al. Retrospective analysis of infection rate after early

reoperation in total hip arthroplasty // *Clin. Orthop. Relat. Res.* 2010. 468. (9). 2392–2396.

13. *Grayson P.C., Carmona-Rivera C., Xu L. et. al.* Neutrophil-related gene expression and low-density granulocytes associated with disease activity and response to treatment in antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis // *Arthritis Rheumatol.* 2015. 67. (7). 1922–1932.

14. *Lohmander L.S., Felson D.T.* Defining the role of molecular markers to monitor disease, intervention,

and cartilage breakdown in osteoarthritis // *J. Rheumatol.* 1997. 24. (4). 782–785.

15. *Springer B.D., Scuderi G.R.* Evaluation and management of the infected total knee arthroplasty // *Instr. Course Lect.* 2013. 62. 349–361.

16. *Wright H.J., Matthews J.B., Chapple I.L. et. al.* Periodontitis associates with a type 1 IFN signature in peripheral blood neutrophils // *J. Immunol.* 2008. 181. (8). 5775–5784.

FORMATION OF NEUTROPHILIC EXTRACELLULAR TRAPS IN PATIENTS WITH OSTEOARTHRITIS AND THE HIP REPLACEMENT OUTCOME

**Elena Ivanovna KUZNETSOVA, Marina Vladimirovna CHEPELEVA,
Oleg Konstantinovich CHEGUROV, Nikolay Mikhaylovich KLYUSHIN,
Natal'ya Vladimirovna SAZONOVA, Andrey Vladimirovich KAMINSKIY,
Artem Mikhaylovich ERMAKOV, Yuriy Vladimirovich ABABKOV,
Boris Viktorovich KAMSHILOV**

*Russian Ilizarov Scientific Center for Restorative Traumatology and Orthopaedics of Minzdrav of Russia
640014, Kurgan, Mariya Ulyanova str., 6*

Using the clinical material the authors carried out the comparative analysis of neutrophilocyte ability to form extracellular traps in patients with Stage III primary osteoarthritis (OA) of the hip, with aseptic instability, with periprosthetic infection, as well as in patients with uncomplicated postoperative course in the long-term periods after primary replacement of the hip. Peripheral blood smears stained by Romanovsky–Gimza used for neutrophil extracellular trap (NET) counting. According to the obtained data, neutrophil phagocytes in patients with periprosthetic infection, as well as in those with implant aseptic instability were characterized by the greatest ability to form NET thereby indicating that not only bacterial agents, but non-bacterial factors as well (cartilage degradation products in case of OA and debris in case of implant aseptic instability) can induce external phagocytosis in patients with post-replacement complications.

Key words: neutrophil extracellular traps, osteoarthritis, periprosthetic infection, implant aseptic instability.

Kuznetsova E.I. – junior researcher; e-mail: citoz@mail.ru

Chepeleva M.V. – candidate of medical sciences, senior researcher; e-mail: Vladi_2000@hotmail.ru

*Chegurov O.K. – doctor of medical sciences, head of department of traumatology and orthopedics,
head of the laboratory of reconstructive arthroplasty and arthroscopy*

*Klyushin N.M. – doctor of medical sciences, head of the laboratory of pyogenic osteology and limb defect filling,
traumatologist-orthopedist, e-mail: elenka_kgn@mail.ru*

*Sazonova N.V. – doctor of medical sciences, head of consultative diagnostic department,
e-mail: nv.sazonova@yandex.ru*

*Kaminskiy A.V. – candidate of medical sciences, head of department of traumatology and orthopedics,
senior researcher, traumatologist-orthopedist*

Ermakov A.M. – traumatologist

Ababkov Yu.V. – head of purulent department of traumatology and orthopedics, traumatologist-orthopedist

*Kamshilov B.V. – candidate of medical sciences, head of department of traumatology and orthopedics,
traumatologist-orthopedist*

ПЕРСПЕКТИВЫ ТЕРАПЕВТИЧЕСКОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ВЕЩЕСТВ ИЗ ГРИБА *GANODERMA LUCIDUM*

Екатерина Сергеевна ПЕТРОВА, Ольга Михайловна ДОЛГАНОВА,
Яков Шмульевич ШВАРЦ

НИИ терапии и профилактической медицины
630089, г. Новосибирск, ул. Бориса Богаткова, 175/1

В обзоре представлены данные литературы преимущественно за последние десять лет, касающиеся лечебно-профилактического действия веществ из гриба *Ganoderma lucidum* в отношении заболеваний терапевтического профиля. Описаны антидиабетические и антиатерогенные эффекты компонентов *G. lucidum*, охарактеризованы их гепато-, рено-, гастро- и церебропротективная, а также противоастматическая активность. Обсуждены перспективы терапевтического применения веществ из данного гриба.

Ключевые слова: *Ganoderma lucidum*, полисахариды, тритерпены, антидиабетическое, антиатерогенное, органопротективное, противоастматическое действие.

Ganoderma lucidum – трутовик лакированный (встречается также под названиями «рейши», «линьджи», «линчи») представляет собой высший базидиальный гриб, чрезвычайно широко применяемый в традиционной восточной медицине. К настоящему времени из *G. lucidum* (далее по тексту – ганодерма) выделено и идентифицировано 240 вторичных метаболитов, среди которых наиболее изучены и биологически активны ганодеровые (ГК) и люцидиновые кислоты (ЛК), относящиеся к тритерпенам, и полисахариды [1]. Коммерческие препараты из *G. lucidum* получают из различных частей гриба, в том числе мицелия, спор и плодовых тел, и изготавливают в форме порошков и различных экстрактов.

Широкое применение ганодермы в восточно-азиатских странах в значительной степени основано на традициях и научно не обоснованных данных. Однако результаты исследований последних десятилетий показали наличие широкого спектра биологического действия веществ из данного гриба и позволили сформировать научные представления о его лечебно-профилактических свойствах. В литературе описаны противоопухолевая, противомикробная, антиоксидантная и противовоспалительная активности различных компонентов и фракций из ганодермы. В рамках настоящего обзора нами освещены данные ли-

тературы за последние десять лет, касающиеся антидиабетических, антиатерогенных и противоастматических эффектов, а также гепато-, рено-, гастро- и церебропротективного действия веществ из *G. lucidum*.

Антидиабетическое действие. К настоящему времени существует ряд работ, доказывающих антидиабетический эффект веществ из *G. lucidum in vivo* [23, 27, 35, 37, 38, 48]. На модели сахарного диабета 2 типа, индуцированного стрептозотоцином у крыс T2DM, исследовали гипогликемическое действие протеогликанового экстракта из плодового тела ганодермы, названного FYGL (Fudan – Yueyang – *G. lucidum*). В сыворотке крови определяли содержание глюкозы и инсулина, а в печени и мышцах – экспрессию и активность тирозинфосфатазы РТР1В, участвующей в ингибировании инсулинового рецептора. В результате у животных, получавших FYGL, показано дозо- и времязависимое снижение уровня глюкозы и увеличение концентрации инсулина, более выраженное, чем у животных, получавших антидиабетические препараты метформин и розиглитазон. При этом экспрессия и активность РТР1В снижались, а уровень фосфорилирования тирозина субъединицы инсулинового рецептора повышался. Кроме того, FYGL значительно уменьшал содержание в крови свободных жир-

Петрова Е.С. – к.т.н., научный сотрудник лаборатории молекулярно-клеточных механизмов терапевтических заболеваний, e-mail: ekato9@yandex.ru

Долганова О.М. – к.м.н., научный сотрудник лаборатории молекулярно-клеточных механизмов терапевтических заболеваний, e-mail: kh_olgam@mail.ru

Шварц Я.Ш. – д.м.н., зав. лабораторией молекулярно-клеточных механизмов терапевтических заболеваний, e-mail: yshschwartz@mail.ru

ных кислот, триглицеридов, общего холестерина и холестерина липопротеинов низкой плотности и повышал уровень холестерина липопротеинов высокой плотности [35]. Аналогичные результаты получены на мышах C57BL/6 db/db. Используемая для достижения гипогликемического эффекта относительно высокая дозировка FYGL (75 и 225 мг/кг веса) была безопасной, так как летальная доза FYGL крайне высока (LD50 = 6 г/кг) [37].

Дальнейшее изучение биологического действия FYGL показало, что препарат способен снижать уровень гликозилированного гемоглобина в крови, увеличивать концентрации инсулина и С-пептида, уменьшать количество глюкогона, а также восстанавливать функционирование панкреатических островков у диабетических мышей с ожирением линии db/db. Под действием FYGL увеличивается активность глюкокиназы и одновременно снижается активность фосфоенолпируват-карбоксикиназы, уменьшается экспрессия трансмембранного переносчика глюкозы GLUT-2 в печени и возрастает экспрессия переносчика глюкозы GLUT-4 в жировой и костной тканях. Поэтому даже на поздней стадии диабета FYGL является эффективным противодиабетическим средством, обеспечивая усиление секреции инсулина, уменьшая выход глюкозы из печени и увеличивая ее содержание в жировой ткани и скелетных мышцах [27]. Таким образом, можно предположить, что FYGL является перспективным сырьем для создания сенситизатора к инсулину в терапии сахарного диабета 2 типа, сопровождающегося дислипидемией.

F. Wang с соавт. на крысах Sprague–Dawley со стрептозотоцин-индуцированным диабетом 2 типа исследовали влияние высокоочищенного порошка из деструктурированных спор ганодермы (ПГ) на экспрессию генов, участвующих в регуляции углеводного и липидного обменов. Показано, что пероральный прием ПГ в течение двух недель уменьшал уровень глюкозы в крови, а в течение четырех недель – подавлял синтез липидов у животных. Кроме того, ПГ значительно снижал выраженность окислительного стресса. Одновременно регистрировалась индукция генов, связанных с липидным метаболизмом (*Acox1*, *ACC*, *Insig-1* и *Insig-2*) и генов, связанных с синтезом гликогена (*GS2* и *GYG1*). Существенных изменений в экспрессии других генов углеводного и липидного метаболизма, таких как *SREBP-1*, *AcyI*, *Fas*, *Fads1*, *Gpam*, *Dgat1*, *PEPCK* и *G6PC1*, не наблюдалось [38].

В литературе приводятся данные по противодиабетической активности низкомолекулярных полисахаридов ганодермы (ПСГ), выделенных из

плодового тела. Механизм их антидиабетического действия изучен на модели стрептозотоцин-индуцированного диабета у крыс Sprague-Dawley. После восьми недель перорального введения ПСГ в дозе 200 мг/кг уровни глюкозы, триглицеридов, общего холестерина и оксида азота значительно снижались, а активность панкреатической супероксиддисмутазы (СОД), каталазы и глутатион пероксидазы существенно возрастала. Результаты гистоморфологического анализа поджелудочной железы показали, что ПСГ могут защищать β -клетки от апоптоза и способствовать их регенерации [48].

Н.Т. Ма с соавт. в обзоре, посвященном антидиабетическим эффектам *G. lucidum*, характеризуют механизмы действия различных веществ ганодермы в условиях эксперимента. Отмечается, что ПСГ увеличивают уровень инсулина и снижают содержание глюкозы в плазме, активируя глюкокиназу, фосфофруктокиназу и глюкозо-6-фосфат дегидрогеназу и ингибируя гликогенфосфорилазу, фруктозо-1,6-бисфосфатазу, фосфоенолпируваткарбоксилазу и глюкозо-6-фосфатазу. Кроме того, ПСГ уменьшают повреждение панкреатических клеток за счет подавления активации транскрипционного фактора NF- κ B и ограничения программируемой гибели клеток. Протеогликаны ганодермы ингибируют тирозинфосфатазу 1B, которая тормозит экспрессию β -субъединицы рецептора к инсулину и ингибирует передачу сигнала с данного рецептора. Также протеогликаны гриба усиливают экспрессию транспортера глюкозы GLUT4 и подавляют экспрессию GLUT2; в результате возрастает потребление глюкозы мышечными клетками и адипоцитами, а в печени угнетается выброс глюкозы в кровоток. Тритерпены *G. lucidum* уменьшают активность альдозоредуктазы, снижая тем самым образование сорбитола и сорбитол-индуцируемых осложнений диабета. Активность α -глюкозидазы под действием тритерпенов гриба также снижается, предотвращая превращение дисахаридов и олигосахаридов в глюкозу в кишечном эпителии и, таким образом, формирование постпрандиальной гипергликемии. Белок Ling Zhi-8 уменьшает лимфоцитарную инфильтрацию в островках Лангерганса у мышей NOD с диабетом, увеличивает содержание инсулина в β -клетках и вызывает гипогликемический эффект [23].

Оценка антидиабетического действия ганодермы проводилась у человека. На больных с сахарным диабетом 2 типа, принимавших перорально препарат ПСГ Ganopoly® (Encore International Co., Окленд, Новая Зеландия) в течение 12 недель, показано значительное снижение уровней гликозилированного гемоглобина и глюкозы в

плазме крови [5]. Вместе с тем требуется существенно большее количество рандомизированных контролируемых клинических испытаний, а пока использование *G. lucidum* для лечения больных с сахарным диабетом 2 типа и факторами риска сердечно-сосудистых заболеваний обосновано недостаточно [13].

Лечебно-профилактическое действие при сосудистой патологии. Одно из традиционных направлений использования *G. lucidum* – профилактика и лечение заболеваний сердечно-сосудистой системы. Показано, что 2-недельное введение фукозосодержащей фракции гликопротеинов (ФСФГ) из ганодермы ЛПС-стимулированным мышам C57BL6 с денудированным артериальным эндотелием в дозе 100 мг/кг в сутки снижает активность клеточной пролиферации в неоинтимае, соотношение площадей неоинтима/медия [40], а также уменьшает неоинтимальную гиперплазию, экспрессию и содержание в неоинтимае и плазме крови межклеточных молекул адгезии ICAM-1 [19], которые ответственны за патологические изменения в сосудах и воспалительные заболевания, такие как атеросклероз, рестеноз и васкулопатия сердечного трансплантата [3].

Кроме того, ФСФГ снижает ЛПС-индуцированную экспрессию ICAM-1 в гладкомышечных клетках аорты человека (HASMC). Эти эффекты ФСФГ могут быть опосредованы ингибированием фосфорилирования киназы ERK и активации NF-κB [19]. При исследовании способности ФСФГ ингибировать в культуре пролиферацию клеток HASMC, вызванную происходящим из тромбоцитов фактором роста BB (PDGF), показано, что ФСФГ подавляет синтез ДНК и уменьшает численность клеток в культуре HASMC, останавливая клеточный цикл в фазе G0/G1. Этот эффект был ассоциирован со снижением экспрессии циклина D1, циклина E, CDK2, CDK4, и p21(Cip1) с одновременным повышением экспрессии ингибитора циклин-зависимой киназы p27(Kip1). Антипролиферативный эффект ФСФГ был частично связан с угнетением PDGF-индуцированного фосфорилирования JNK. Авторы полагают, что применение ФСФГ может стать новым подходом к профилактике и лечению сосудистой патологии, в основе которой лежат избыточные пролиферативные процессы [40].

На крысах Wistar в модели ишемии-реперфузии показаны кардиопротективные свойства коммерческого продукта из ганодермы «Рейши-Кан» (Биолит, Россия). Внутривенное введение «Рейши-Кан» в дозе 400 мг/кг в течение 15 дней уменьшало некротическую гибель кардиомиоцитов и реперфузионную контрактуру. Кардиопротективная активность присуща многим фарма-

кологическим агентам, таким как антагонисты кальция, β-адреноблокаторы и нитровазодилаторы, однако все они ингибируют насосную функцию сердца в отличие от препарата «Рейши-Кан», который не снижает сократительную силу сердца при уменьшении реперфузионной контрактуры миокарда, что весьма важно для клинической практики [17].

Органопротективное действие. Гепатопротективный эффект. Одно из традиционных направлений использования ганодермы – лечение хронических гепатопатий. В результате исследования водного экстракта *G. lucidum* в модели этанол-индуцированного гепатита у мышей ICR показана его гепатопротективная активность. Пероральное введение экстракта в дозах 10, 25 и 50 мг/кг за 30 мин до введения этанола дозозависимо ингибировало образование малонового диальдегида (МДА) в печени и почках, защищая органы от повреждений, вызванных активными метаболитами кислорода [31]. Дальнейшее изучение общего экстракта ганодермы (ЭГ) (этанольный + водный) в модели тиацетамид-индуцированного гепатофиброза, развивавшегося у мышей BALB/c в течение трех месяцев, показало, что 4-недельное пероральное введение ЭГ в дозах 0,5 и 1,0 г/кг значительно снижало содержание коллагена и экспрессию мРНК коллагена (α1), альфа-актина гладких мышц, металлопротеиназы-1 и 13, а также улучшало гистологическую картину в ткани печени. При этом терапия ЭГ отменяла тиацетамид-индуцированное снижение общей коллагенолитической активности, тем самым, очевидно, предотвращая фиброзную трансформацию органа [43].

D.H. Kim с соавт. на крысах Wistar в модели CCl4-гепатита выявили гепатопротективные свойства эфирной фракции водного экстракта *G. lucidum*, содержащую ганодеровую кислоту А (ГК-А). Авторы установили, что ГК-А ингибировала активность β-глюкуронидазы в сыворотке крови, что коррелировало со снижением гепатотоксичности [12]. Y.Q. Li и S.F. Wang в модели гепатопатии, индуцированной у мышей линии KM микобактериями *Mycobacterium bovis* (БЦЖ) с ЛПС *E. coli* 0127:B8, показали, что внутривенные инъекции ГК в дозах 10 и 30 мг/кг в течение 7 дней защищали печень животных от повреждений, что выражалось в уменьшении активности АсАТ и АлАТ в крови животных [18]. Гепатопротективные свойства очищенных пептидов из водного экстракта ганодермы оценивали у мышей Kunming на модели D-галактозамин-индуцированного повреждения печени. Их вводили внутривенно ежедневно в течение двух недель по 60, 120 и 180 мг/кг массы тела. Повреж-

дения печени проявлялись в значительном увеличении активности маркерных ферментов (АсАТ и АлАТ) в сыворотке крови, в повышении уровня МДА, в существенном снижении активности СОД и содержания глутатиона в печени. Предварительное введение мышам пептидов нормализовало данные показатели. Доза пептидов 180 мг/кг массы тела оказывала максимально выраженный эффект [30].

Y.J. Liu с соавт. исследовали противовоспалительные и гепатопротективные эффекты ПСГ на первичной клеточной культуре гепатоцитов сазана *Cyprinus carpio* L., поврежденных четыреххлористым углеродом. ПСГ добавляли к гепатоцитам в концентрациях 0,1, 0,3 и 0,6 мг/мл до, после или и до, и после их инкубации с 8 мМ СС14. Установлено, что ПСГ значительно повышают жизнеспособность гепатоцитов, тормозят выход из клеток трансаминаз и лактатдегидрогеназы, снижают уровень МДА и повышают активность СОД. Одновременно ПСГ приводили к значительному снижению экспрессии СYP1A и СYP3A, подавлению апоптогенеза и уменьшению провоспалительного ответа [21].

In vitro и *in vivo* продемонстрировано влияние ганодерманонтриола – стерола, выделенного из плодового тела *G. lucidum*, на культуру клеток Heralc1c7 и клеток печени мышей ICR после воздействия трет-бутилгидропероксида. Ганодерманонтриол в обоих случаях вызывал транслокацию в ядро (активировал) транскрипционный фактор Nrf2 и, в результате, индуцировал экспрессию гемоксигеназы-1, регулируемую через пути PI3K/Akt и p38. Также под действием стерола *in vitro* и *in vivo* снижалась активность печеночных ферментов (АсАТ, АлАТ) и МДА и повышалась концентрация глутатиона. Полученные данные свидетельствуют о гепатопротективной активности ганодерманонтриола [8].

В специальных экспериментах оценивалась антимутагенная активность ганодермы. Предварительное введение крысам Wistar веществ, полученных метанольной экстракцией плодового тела гриба, предупреждало бензапирен-индуцированный мутагенез, снижало мутагенность мочи животных, предотвращало увеличение активности АсАТ, АлАТ и щелочной фосфатазы в сыворотке крови, повышало в печени уровень восстановленного глутатиона и активность глутатионпероксидазы, глутатион-S-трансферазы, СОД и каталазы [16].

Несмотря на многочисленные работы, доказывающие гепатопротективное действие экстрактов и компонентов из *G. lucidum*, описаны гепатотоксичные свойства порошков из этого гриба. Впервые гепатотоксический эффект порошка

обнаружен в 2004 г. у больного из Гонконга, а в 2005 г. описан случай фатального молниеносного гепатита, связанного с этим продуктом. Оба пациента получали жидкий экстракт ганодермы совместно с другими лекарственными препаратами без каких-либо токсических побочных эффектов. Однако после длительного приема (1–2 мес.) *G. lucidum*, но в виде порошка, произошло токсическое поражение печени у обоих пациентов. Соответственно, употребление *G. lucidum* в таком виде требует тщательного мониторинга в будущем, особенно в сочетании с другими препаратами [41].

Ренопротективный эффект. В финальных стадиях хронического поражения почек самого разного генеза практически всегда развивается тубулоинтерстициальное поражение почечной ткани, заканчивающееся развитием нефросклеротической трансформации. На проксимальном эпителии почечных канальцев в модели альбумин-индуцированного тубулоинтерстициального поражения почек *in vitro* K.N. Lai с соавт. исследовали действие ПСГ. Экстракт был разделен по молекулярному весу на три фракции: общий экстракт, экстракт, содержащий вещества <30 кДа, и экстракт с компонентами <3 кДа. Было показано, что все три фракции обладают сходной способностью осуществлять цитопroteкцию и предотвращать повреждение ДНК почечного эпителия. При этом низкомолекулярный экстракт наиболее эффективно поддерживал целостность эпителия, что проявлялось в снижении выхода растворимой формы межклеточных молекул адгезии sICAM-1, а нефракционированная высокомолекулярная фракция более действенно снижала продукцию ИЛ-8. Эти различия свидетельствуют, что высоко- и низкомолекулярные ПСГ приводят в действие разные механизмы защиты эпителиальных клеток. Тем не менее высокие дозы ПСГ, наоборот, могут индуцировать провоспалительный эффект [15]. Ренопротективные свойства ПСГ также показаны *in vivo* в модели стрептозотоцин-индуцированного диабета с почечной недостаточностью на мышах C57BL/6J, которым в течение восьми недель вводили по 125 и 250 мг/кг массы тела ПСГ. Последние дозозависимо уменьшали экскрецию альбумина с мочой, а в сыворотке крови – содержание креатинина, азота мочевины, глюкозы и триглицеридов. Сделано заключение, что у мышей с диабетом ПСГ снижают выраженность окислительного стресса и способствуют нормализации структурных изменений в почках [9]. Введение FYGL – протеогликанового экстракта из ганодермы – мышам с врожденным диабетом C57BL/6 db/db также способствовало защите почек от функциональных и морфологических повреждений при диабетической нефропатии [26].

В работе D. Zhong с соавт. продемонстрирована ренопротективная и антиоксидантная активности высокоочищенной хорошо охарактеризованной полисахарид-пептидной фракции ганодермы (ППГ). В модели ишемии-реперфузии у мышей C57BL/6 авторы показали, что ежедневное внутрибрюшинное введение ППГ в дозе 100 мг/кг в течение одной недели до повреждения предотвращает дисфункцию и морфологические нарушения почек. В этой же работе в культуре клеток проксимального тубулярного эпителия крысы NRK-52E, подвергавшегося гипоксии/реоксигенации, 12-часовая предынкубация с ППГ дозозависимо снижала апоптотическую гибель клеток и проявления в них окислительного стресса [49].

В результате изучения нефротоксичности у мышей Swiss albino, вызванной цисплатином, выявлен ренопротективный эффект очищенной тритерпеновой фракции из плодового тела *G. lucidum*. Тритерпены в дозе 100 мг/кг при пероральном введении предотвращали цисплатин-индуцированное увеличение содержания в сыворотке крови мочевины, креатинина и активности щелочной фосфатазы, а также поддерживали антиоксидантную защиту в почках [29].

Гастропротективный эффект. Известно, что различные цитокины, в частности ФНО- α , играют важную роль в патогенезе острых и хронических поражений слизистой оболочки желудка, инициируя и поддерживая воспалительный ответ, в том числе миграцию лейкоцитов и секрецию других провоспалительных медиаторов и цитокинов [14]. ФНО- α уменьшает приток крови к слизистой оболочке желудка, повышает экспрессию гастрина, циклооксигеназы и фактора роста сосудистого эндотелия [33]. Подавление продукции ФНО- α , наоборот, ускоряет заживление язвы, повышая приток крови к желудочному эпителию, ограничивая повреждение слизистой оболочки и усиливая пролиферацию эпителиальных клеток желудка.

Внутрижелудочное введение фракции ПСГ из плодового тела крысам Wistar Kyoto с индометацин-индуцированной язвой в дозах 250 и 500 мг/кг подавляет экспрессию ФНО- α и стимулирует заживление язвенного дефекта [7]. Примечательно, что при опухолевых процессах ПСГ, наоборот, индуцируют продукцию ФНО- α , обеспечивая их противораковую активность [39, 22]. Весьма вероятно, что цитокин-модулирующий эффект ПСГ тканеспецифичен. В культуре клеток желудочного эпителия RGM-1 та же фракция ПСГ в количестве 0,05, 0,25 и 1,0 мг/мл повышала в них активность с-Мус и орнитиндекарбоксилазы, и вызывала активную пролиферацию [7].

Y. Gao с соавт. провели изучение коммерческого препарата Ganopoly®, представлявшего собой ПСГ с чистотой 98,8 % и молекулярным весом около $4,85 \times 10^5$ Da. На крысах Wistar Kyoto с язвой желудка, индуцированной уксусной кислотой, показано, что внутрижелудочное введение Ganopoly® в течение 14 дней в дозах 0,5 и 1,0 г/кг массы тела ускоряло заживление язвы на 40 и 56 % соответственно. Введение 1,0 г/кг препарата способствовало увеличению желудочной концентрации простагландина E2 [6], который играет важную роль в формировании целостности слизистой оболочки желудка и регуляции внутрижелудочной секреции [36].

Гастропротективный эффект *G. lucidum* выявлен также при изучении лечебного действия фармакопунктуры с ганодермой на модели этанол-индуцированной хронической язвы желудка у крыс Sprague-Dawley. Ускоренное восстановление слизистой оболочки желудка и заживление язвенного дефекта показано при аутопсии, а также методами гистологии и иммуногистохимии с окраской на Vax, Vcl-2 и трансформирующий фактор роста $\beta 1$ [28].

Церебропротективный эффект. В последние годы появились доказательства того, что у людей, страдающих болезнью Паркинсона, ключевую роль в прогрессировании нейродегенерации может играть воспалительно-активированная микроглия [34]. Основываясь на признаках нейропротективного действия ганодермы, выявленных в проведенных ранее клинических испытаниях, R. Zhang с соавт. исследовали потенциальные противовоспалительные/нейропротективные свойства *G. lucidum* в модели кокультивирования дофаминергических нейронов и микроглии. Микроглию крыс активировали с помощью ЛПС и клеточных мембран, полученных из нейронов линии MES 23.5, обработанных MPP(+) – нейротоксином, вызывающим паркинсон-подобный синдром у животных. Показано, что компоненты ганодермы, экстрагированные метанолом из плодового тела, дозозависимо ингибировали генерацию NO, продукцию и экспрессию ФНО- α и ИЛ-1 β [45]. Н.М. Уоон с соавт. на мышинных клетках микроглии BV2 продемонстрировали, что этанольный экстракт ганодермы (ЭЭГ) ингибировал ЛПС-стимулированную продукцию NO, простагландина E2, ИЛ-1 β и ФНО- α , не проявляя при этом цитотоксичности. Данные эффекты осуществлялись за счет блокады деградации I κ B и, таким образом, подавления транслокации и транскрипционной активности NF- κ B. Кроме того, в ЛПС-стимулированных клетках микроглии ЭЭГ ингибировал экспрессию TLR4 и MyD88. Авторы

пришли к выводу, что при ЛПС-воспалительном ответе эффекты ЭЭГ обусловлены супрессией сигнальных путей с участием NF-κB и TLR и подавлением продукции провоспалительных медиаторов и цитокинов [44].

Благодаря противовоспалительным и антиоксидантным свойствам водорастворимой фракции *G. lucidum* показан ее церебропротективный эффект на крысах Wistar в модели ишемии-реперфузии головного мозга. В течение 3 и 7 дней внутрижелудочно вводили фракцию ганодермы. Это тормозило гибель нейронов и снижало уровни ФНО-α и ИЛ-8 в гиппокампе, уменьшало содержание МДА и увеличивало активность СОД в гиппокампе и сыворотке крови [47]. Сделано заключение, что противовоспалительная активность *G. lucidum* делает ее перспективным агентом для лечения болезни Паркинсона и других нейродегенеративных заболеваний.

Противоастматическое действие. При аллергической астме сенсibilизированные Th2-лимфоциты в присутствии аллергена высвобождают ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-13 и др. В случае прогрессирования заболевания при иммунном ответе Th1-лимфоциты выделяют ФНО-α и ИЛ-8. В отличие от Th2-опосредованного воспаления, Th1-опосредованный ответ при астме, как правило, не чувствителен к ингаляционным кортикостероидам [2]. Поэтому поиск новых препаратов – ингибиторов ФНО-α для лечения больных астмой является весьма актуальным. Ряд экспериментальных работ, выполненных *in vitro* [10] и *in vivo* [4, 32, 46], а также клинические исследования [11, 42] продемонстрировали противоастматические свойства композиции ASHMI™ (Sino-Lion Pharmaceutical Company, Вэйфан, Китай), которая состоит из природного сырья и представляет собой водный экстракт из *G. lucidum*, *Sophora flavescens* и *Glycyrrhiza uralensis* [11]. На культуре клеток С. Liu с соавт. показали, что именно ганодерма, а не травяные экстракты композиции ASHMI™, подавляла продукцию ФНО-α в мышинных макрофагах RAW264.7. При этом из *G. lucidum* только фракция, обогащенная тритерпенами, а не полисахаридами, содержала ингибирующие вещества; из 15 выделенных из нее тритерпеноидов только ганодеровая кислота С1 достоверно снижала образование ФНО-α в клетках RAW264.7 и в мононуклеарах крови пациентов, болеющих астмой. Авторы сделали вывод, что данное ингибирование связано с угнетением экспрессии NF-κB и частичной блокадой сигнальных путей, опосредованных киназой MAPK и транскрипционным фактором AP-1 [20].

Дефицит потребления селена может кардинально влиять на воспаление и иммунный ответ. Астма приводит к снижению уровня сывороточного Se [25]. В модели овальбумин-индуцированной астмы у мышей BALB/c сравнивали токсичность и эффективность неорганического и органического Se, содержащегося в белке ганодермы (Pro-Se), который аккумулировался в грибе при добавлении селенита натрия в культуральную среду. Обнаружено, что у мышей с астматическими нарушениями, получавших *per os* Pro-Se, но не неорганический селен, содержание Se в крови достоверно возрастало, восстанавливалась активность антиоксидантных ферментов, снижалось содержание NF-κB, ФНО-α и ИЛ-1β в легких. Предполагается, что для больных астмой людей органический Se ганодермы может иметь значительный терапевтический потенциал [24].

Повышенный интерес к таким природным источникам лекарственного сырья, как *G. lucidum*, обусловлен, с одной стороны, множеством отчетливо выраженных фармакологических эффектов, оказываемых компонентами ганодермы, а с другой – потенциально высокой экономической эффективностью их использования. Множественность фармакологических эффектов позволяет думать как о неспецифических механизмах действия препаратов, так и о большом разнообразии биологически активных веществ, содержащихся в ганодерме. Хотя успех экспериментального и, отчасти, клинического применения препаратов *G. lucidum* выглядит вполне многообещающим, анализ литературы показывает, что исследований соединений, происходящих из ганодермы, до сих пор недостаточно. В частности, крайне мало работ, касающихся деталей структуры этих соединений, особенно в терминах молекулярной конформации, рецептор-зависимых механизмов и взаимосвязей между структурой и фармакологической активностью. Недостаточно работ по стандартизации препаратов из *G. lucidum*, современным технологическим методам их получения и переработки, фармакокинетики и референсным методам оценки. Дальнейшего изучения требуют патофизиологические, клеточные и молекулярно-биологические механизмы воздействия веществ из ганодермы на патологические процессы. Совершенно недостаточно клинических исследований, проведенных в соответствии с современными требованиями доказательной медицины. Как бы то ни было, огромное количество накопленных доказательств, свидетельствующих о лечебно-профилактических свойствах *G. lucidum*, заставляет думать о широких перспективах будущего клинического применения ганодермы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Baby S., Johnson A.J., Govindan B. Secondary metabolites from *Ganoderma* // *Phytochemistry*. 2015. 114. 66–101.
2. Bhowmick B., Singh D. Novel anti-inflammatory treatments for asthma // *Expert Rev. Respir. Med.* 2008. 2. (5). 617–629.
3. Braun M., Pietsch P., Schror K. et al. Cellular adhesion molecules on vascular smooth muscle cells // *Cardiovasc. Res.* 1999. 41. (2). 395–401.
4. Busse P.J., Schofield B., Birmingham N. et al. The traditional Chinese herbal formula ASHMI inhibits allergic lung inflammation in antigen-sensitized and antigen-challenged aged mice // *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 2010. 104. (3). 236–246.
5. Gao Y., Lan J., Dai X. et al. A phase I/II study of Lingzhi mushroom *Ganoderma lucidum* (W. Curt.: Fr.) Lloyd (Aphyllophoromycetidae) extract in patients with type II diabetes mellitus // *Int. J. Med. Mushrooms*. 2004. 6. 33–40.
6. Gao Y., Tang W., Gao H. et al. *Ganoderma lucidum* polysaccharide fractions accelerate healing of acetic acid-induced ulcers in rats // *J. Med. Food*. 2004. 7. (4). 417–421.
7. Gao Y., Zhou S., Wen J. et al. Mechanism of the antiulcerogenic effect of *Ganoderma lucidum* polysaccharides on indomethacin-induced lesions in the rat // *Life Sci.* 2002. 72. (6). 731–745.
8. Ha do T., Oh J., Khoi N.M. et al. *In vitro* and *in vivo* hepatoprotective effect of ganodermanontriol against t-BHP-induced oxidative stress // *J. Ethnopharmacol.* 2013. 150. (3). 875–885.
9. He C.Y., Li W.D., Guo S.X. et al. Effect of polysaccharides from *Ganoderma lucidum* on streptozotocin-induced diabetic nephropathy in mice // *J. Asian Nat. Prod. Res.* 2006. 8. (8). 705–711.
10. Jayaprakasam B., Yang N., Wen M.C. et al. Constituents of the anti-asthma herbal formula ASHMI(TM) synergistically inhibit IL-4 and IL-5 secretion by murine Th2 memory cells, and eotaxin by human lung fibroblasts *in vitro* // *J. Integr. Med.* 2013. 11. (3). 195–205.
11. Kelly-Pieper K., Patil S.P., Busse P. et al. Safety and tolerability of an antiasthma herbal Formula (ASHMI) in adult subjects with asthma: a randomized, double-blinded, placebo-controlled, dose-escalation phase I study // *J. Altern. Complement. Med.* 2009. 15. (7). 735–743.
12. Kim D.H., Shim S.B., Kim N.J., Jang I.S. Beta-glucuronidase-inhibitory activity and hepatoprotective effect of *Ganoderma lucidum* // *Biol. Pharm. Bull.* 1999. 22. (2). 162–164.
13. Klupp N.L., Chang D., Hawke F. et al. *Ganoderma lucidum* mushroom for the treatment of cardiovascular risk factors // *Cochrane Database Syst. Rev.* 2015. 2. doi: 10.1002/14651858.CD007259.pub2.
14. Konturek P.C., Duda A., Brzozowski T. et al. Activation of genes for superoxide dismutase, interleukin-1beta, tumor necrosis factor-alpha, and intercellular adhesion molecule-1 during healing of ischemia-reperfusion-induced gastric injury // *Scand. J. Gastroenterol.* 2000. 35. (5). 452–463.
15. Lai K.N., Chan L.Y., Tang S.C., Leung J.C. *Ganoderma* extract prevents albumin-induced oxidative damage and chemokines synthesis in cultured human proximal tubular epithelial cells // *Nephrol. Dial. Transplant.* 2006. 21. (5). 1188–1197.
16. Lakshmi B., Ajith T.A., Jose N., Janardhanan K.K. Antimutagenic activity of methanolic extract of *Ganoderma lucidum* and its effect on hepatic damage caused by benzo[a]pyrene // *J. Ethnopharmacol.* 2006. 107. (2). 297–303.
17. Lasukova T.V., Maslov L.N., Arbuzov A.G. et al. Cardioprotective activity of *Ganoderma lucidum* extract during total ischemia and reperfusion of isolated heart // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2015. 158 (6). 739–741.
18. Li Y.Q., Wang S.F. Anti-hepatitis B activities of ganoderic acid from *Ganoderma lucidum* // *Biotechnol. Lett.* 2006. 28. (11). 837–841.
19. Lin C.Y., Chen Y.H., Lin C.Y. et al. *Ganoderma lucidum* polysaccharides attenuate endotoxin-induced intercellular cell adhesion molecule-1 expression in cultured smooth muscle cells and in the neointima in mice // *J. Agric. Food Chem.* 2010. 58. (17). 9563–9571.
20. Liu C., Yang N., Song Y. et al. Ganoderic acid C1 isolated from the anti-asthma formula, ASHMI™ suppresses TNF- α production by mouse macrophages and peripheral blood mononuclear cells from asthma patients // *Int. Immunopharmacol.* 2015. 27. (2). 224–231.
21. Liu Y.J., Du J.L., Cao L.P. et al. Anti-inflammatory and hepatoprotective effects of *Ganoderma lucidum* polysaccharides on carbon tetrachloride-induced hepatocyte damage in common carp (*Cyprinus carpio* L.) // *Immunopharmacol.* 2015. 25. (1). 112–120.
22. Lu J., Sun L.X., Lin Z.B. et al. Antagonism by *Ganoderma lucidum* polysaccharides against the suppression by culture supernatants of B16F10 melanoma cells on macrophage // *Phytother. Res.* 2014. 28. (2). 200–206.
23. Ma H.T., Hsieh J.F., Chen S.T. Anti-diabetic effects of *Ganoderma lucidum* // *Phytochemistry*. 2015. 114. 109–113.
24. Min-Chang G., Wei-Hong T., Zhen X., Jie S. Effects of selenium-enriched protein from *Ganoderma lucidum* on the levels of IL-1 β and TNF- α , oxidative stress, and NF- κ B activation in ovalbumin-induced asthmatic mice // *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* 2014. doi: 10.1155/2014/182817.
25. Misso N.L., Powers K.A., Gillon R.L. et al. Reduced platelet glutathione peroxidase activity and serum selenium concentration in atopic asthmatic patients // *Clin. Exp. Allergy*. 1996. 26. (7). 838–847.

26. Pan D., Zhang D., Wu J. et al. A novel proteoglycan from *Ganoderma lucidum* fruiting bodies protects kidney function and ameliorates diabetic nephropathy via its antioxidant activity in 57BL/6 db/db mice // Food Chem. Toxicol. 2014. 63. 111–118.
27. Pan D., Zhang D., Wu J. et al. Antidiabetic, antihyperlipidemic and antioxidant activities of a novel proteoglycan from *Ganoderma lucidum* fruiting bodies on db/db mice and the possible mechanism // PLoS One. 2013. 8. (7). e68332.
28. Park J.H., Jang K.J., Kim C.H. et al. *Ganoderma lucidum* pharmacopuncture for treating ethanol-induced chronic gastric ulcers in rats // J. Pharmacopuncture. 2015. 18. (1). 72–78.
29. Pillai T.G., John M., Sara T.G. Prevention of cisplatin induced nephrotoxicity by terpenes isolated from *Ganoderma lucidum* occurring in Southern Parts of India // Exp. Toxicol. Pathol. 2011. 63. (1-2). 157–160.
30. Shi Y., Sun J., He H. et al. Hepatoprotective effects of *Ganoderma lucidum* peptides against D-galactosamine-induced liver injury in mice // J. Ethnopharmacol. 2008. 117. (3). 415–419.
31. Shieh Y.H., Liu C.F., Huang Y.K. et al. Evaluation of the hepatic and renal-protective effects of *Ganoderma lucidum* in mice // Am. J. Chin. Med. 2001. 29. (3-4). 501–507.
32. Srivastava K., Sampson H.A., Emala C.W. Sr., Li X.M. The anti-asthma herbal medicine ASHMI acutely inhibits airway smooth muscle contraction via prostaglandin E2 activation of EP2/EP4 receptors // Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol. 2013. 305. doi: 10.1152/ajplung.00423.2012.
33. Suzuki T., Grand E., Bowman C. et al. TNF-alpha and interleukin 1 activate gastrin gene expression via MAPK- and PKC-dependent mechanisms // Am. J. Physiol. 2001. 281. (6). 1405–1412.
34. Tansey M.G. and Goldberg M.S. Neuroinflammation in Parkinson's disease: its role in neuronal death and implications for therapeutic intervention // Neurobiol. Dis. 2010. 37. (3). 510–518.
35. Teng B.S., Wang C.D., Zhang D. et al. Hypoglycemic effect and mechanism of a proteoglycan from *Ganoderma lucidum* on streptozotocin-induced type 2 diabetic rats // Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci. 2012. 16. (2). 166–175.
36. Wallace J.L., Granger D.N. The cellular and molecular basis of gastric mucosal defense // FASEB J. 1996. 10. (7). 731–740.
37. Wang C.D., Teng B.S., He Y.M. et al. Effect of a novel proteoglycan PTP1B inhibitor from *Ganoderma lucidum* on the amelioration of hyperglycaemia and dyslipidaemia in db/db mice // Br. J. Nutr. 2012. 108. (11). 2014–2025.
38. Wang F., Zhou Z., Ren X. et al. Effect of *Ganoderma lucidum* spores intervention on glucose and lipid metabolism gene expression profiles in type 2 diabetic rats // Lipids Health Dis. 2015. 14. doi: 10.1186/s12944-015-0045-y.
39. Wang P.Y., Zhu X.L., Lin Z.B. Antitumor and immunomodulatory effects of polysaccharides from broken-spore of *Ganoderma lucidum* // Front. Pharmacol. 2012. 3. doi: 10.3389/fphar.2012.00135.
40. Wang S.H., Liang C.J., Weng Y.W. et al. *Ganoderma lucidum* polysaccharides prevent platelet-derived growth factor-stimulated smooth muscle cell proliferation in vitro and neointimal hyperplasia in the endothelial-denuded artery in vivo // J. Cell Physiol. 2012. 227. (8). 3063–3071.
41. Wanmuang H., Leopairut J., Kositchaiwat C. et al. Fatal fulminant hepatitis associated with *Ganoderma lucidum* (Lingzhi) mushroom powder // J. Med. Assoc. Thai. 2007. 90. (1). 179–181.
42. Wen M.C., Wei C.H., Hu Z.Q. et al. Efficacy and tolerability of anti-asthma herbal medicine intervention in adult patients with moderate-severe allergic asthma // J. Allergy Clin. Immunol. 2005. 116. (3). 517–524.
43. Wu Y.W., Fang H.L., Lin W.C. Post-treatment of *Ganoderma lucidum* reduced liver fibrosis induced by thioacetamide in mice // Phytother. Res. 2010. 24. (4). 494–499.
44. Yoon H.M., Jang K.J., Han M.S. et al. *Ganoderma lucidum* ethanol extract inhibits the inflammatory response by suppressing the NF-κB and toll-like receptor pathways in lipopolysaccharide-stimulated BV2 microglial cells // Exp. Ther. Med. 2013. 5. (3). 957–963.
45. Zhang R., Xu S., Cai Y. et al. *Ganoderma lucidum* protects dopaminergic neuron degeneration through inhibition of microglial activation // Evid. Based Complement. Alternat. Med. 2011. doi: 10.1093/ecam/nep075.
46. Zhang T., Srivastava K., Wen M.C. et al. Pharmacology and immunological actions of a herbal medicine ASHMI on allergic asthma // Phytother. Res. 2010. 24. (7). 1047–1055.
47. Zhang W., Zhang Q., Deng W. et al. Neuroprotective effect of pretreatment with *Ganoderma lucidum* in cerebral ischemia/reperfusion injury in rat hippocampus // Neural. Regen. Res. 2014. 9. (15). 1446–1452.
48. Zheng J., Yang B., Yu Y. et al. *Ganoderma lucidum* polysaccharides exert anti-hyperglycemic effect on streptozotocin-induced diabetic rats through affecting β-cells // Comb. Chem. High Throughput Screen. 2012. 15. (7). 542–550.
49. Zhong D., Wang H., Liu M. et al. *Ganoderma lucidum* polysaccharide peptide prevents renal ischemia reperfusion injury via counteracting oxidative stress // Sci. Rep. 2015. 5. doi: 10.1038/srep16910.

PROSPECTS FOR THERAPEUTIC USE OF SUBSTANCES FROM FUNGUS *GANODERMA LUCIDUM*

**Ekaterina Sergeevna PETROVA, Olga Mikhailovna DOLGANOVA,
Yakov Shmul'evitch SHVARTZ**

*Research Institute of Internal and Preventive Medicine
630089, Novosibirsk, Boris Bogatkov str., 175/1*

The article is aimed to overview the last literature on pharmacological, preventive and therapeutic properties of the substances from fungus *Ganoderma lucidum*, concerning internal diseases. Anti-diabetic and anti-atherogenic effects of the *G. lucidum* are described, its hepato-, reno-, gastro- and cerebroprotective as well as anti-asthmatic activities are characterized. Therapeutic perspectives of *G. lucidum*-derived compounds are indicated.

Key words: *Ganoderma lucidum*, polysaccharides, triterpenes, anti-diabetic, anti-atherogenic, organ-protective, anti-asthmatic action.

Petrova E.S. – candidate of technical sciences, researcher; e-mail: ekamo9@yandex.ru

Dolganova O.M. – candidate of medical sciences, researcher; e-mail: kh_olgam@mail.ru

Shvartz Ya.Sh. – doctor of medical sciences, head of the laboratory for molecular & cellular mechanisms of internal diseases, e-mail: yshschwartz@mail.ru

НАРУШЕНИЕ СЕКРЕЦИИ МЕЛАТОНИНА ПРИ МЕТАБОЛИЧЕСКОМ СИНДРОМЕ

Наталья Сергеевна АЛЕКСЕЕВА

Новокузнецкий институт усовершенствования врачей Минздрава России
654005, г. Новокузнецк, просп. Строителей, 5

Цель исследования – изучить суточный ритм секреции метаболитов мелатонина у пациентов с метаболическим синдромом в возрасте от 20 до 45 лет и оценить взаимосвязь с клинико-гормональными нарушениями. **Материал и методы.** У 98 пациентов (51 % женщин и 49 % мужчин, средний возраст $35,6 \pm 7,8$ года) с метаболическим синдромом определяли концентрацию мелатонина сульфата (метаболита мелатонина) в моче в 8 точках в течение суток каждые 3 часа. В контрольной группе было 42 пациента (52,4 % женщин и 47,6 % мужчин, средний возраст $35,6 \pm 6,1$ года) без компонентов метаболического синдрома. **Результаты и обсуждение.** При метаболическом синдроме выявлено статистически значимое снижение уровня и нарушение ритма продукции мелатонина, наблюдалось уплощение ночного пика. Обнаружена обратная взаимосвязь между содержанием мелатонина сульфата в моче и составляющими метаболический синдром: основным маркером – абдоминальным ожирением ($r = -0,87, p < 0,0001$), индексом массы тела ($r = -0,67, p < 0,0001$) и инсулинорезистентности НОМА ($r = -0,51, p < 0,0001$). Чем ниже была концентрация мелатонина сульфата в моче, тем больше частота и выраженность компонентов метаболического синдрома.

Ключевые слова: метаболический синдром, мелатонин, абдоминальное ожирение, инсулинорезистентность, артериальная гипертензия.

Стремительный рост ожирения, артериальной гипертензии (АГ), сахарного диабета (СД) 2 типа, дислипидемии и других составляющих метаболического синдрома (МС), а также низкая эффективность мероприятий, направленных на коррекцию этих состояний, являются главными мотивами для дальнейшего исследования глубинных причин указанных феноменов [1, 6]. Быстрое изменение окружающей среды в условиях научно-технического прогресса ведет к разрушению эволюционно закрепленных ритмов физиологических метаболических процессов. Эти изменения могут являться первопричиной возникновения патологических состояний, объединяемых в МС [8, 9]. Сезонные и суточные ритмы всех живых существ на планете, включая человека, находятся под контролем циркадианной системы. В настоящее время в человеческом организме обнаружено более 500 биоритмов на различных структурных уровнях: клеточном, тканевом, органном, организменном. Основной функцией циркадной системы является синхронизация внутренних физиологических процессов к постоянно изменяющимся условиям внешней среды. Мелатонин играет ведущую роль в синхронизации гормональных стимулов и метаболических процессов с чередованием светлого и темного

времени суток [1, 2, 7]. Физиологические эффекты мелатонина опосредованы через мембранные и ядерные рецепторы. У человека обнаружено два подвида мембранных рецепторов к мелатонину: MT1 (MTNR1A), MT2 (MTNR1B) и один подвид ядерных рецепторов (NMRs). Рецепторы MT2 содержатся в сетчатке глаза, различных отделах мозга, и считается, что именно через них устанавливаются циркадные ритмы. Ядерный рецептор к мелатонину относится к разновидности «сиротских» рецепторов, которые находятся практически в любом органе и ткани [1, 2, 6]. Существует мнение, что через эти рецепторы мелатонин способен вызывать экспрессию генов времени. Два основных белка циркадианной системы (Clock и Bmal1) участвуют в дневной регуляции уровня глюкозы и триглицеридов, а Bmal1 также регулирует синтез липидов и адипогенез [1, 6]. У гомозиготных мышей с мутацией гена *clock* обнаруживался МС, проявляющийся ожирением, гиперлипидемией, гиперлептинемией, печеночным стеатозом, гипергликемией и гиперинсулинемией.

При любых нарушениях в системе регуляции мелатонина его секреция резко снижается. Так, если внешнее освещение не снизится до физиологически критического уровня, мелатонин не

начнет вырабатываться даже у лиц молодого возраста. Мелатонин обеспечивает синхронизацию метаболических процессов с ночным периодом – временем, запрограммированным у человека на голодание, и может оказывать тормозящий эффект на секрецию инсулина [2, 6]. У пациентов с АГ снижение ночной секреции мелатонина ассоциировано с повышением уровня инсулина натощак и индексом инсулинорезистентности НОМА [2, 6]. С возрастом в эпифизе увеличивается количество кальциевых отложений и наблюдается уменьшение синтеза мелатонина. Дефицит гормона эпифиза ведет к целому ряду гормонально-метаболических негативных последствий, что связано с универсальными физиологическими эффектами мелатонина, которые весьма многообразны [1, 2, 7]. В научной литературе изучаются эффекты мелатонина на сердечно-сосудистую систему и углеводный обмен [1, 2, 6, 7]. Однако данные исследования чаще рассматривают возрастные изменения секреции мелатонина и его роль в пожилом возрасте или у женщин в период менопаузы [1]. Исследования мелатонина при МС единичны и носят противоречивый характер. Поэтому была поставлена цель – изучить суточный ритм секреции метаболитов мелатонина у пациентов с метаболическим синдромом в возрасте от 20 до 45 лет и оценить взаимосвязь с клинико-гормональными нарушениями.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Данное исследование проведено в г. Новокузнецке в 2013 г. у 98 пациентов (51 % женщин и 49 % мужчин, средний возраст $35,6 \pm 7,8$ года) с МС. Критериями включения были абдоминальное ожирение (для мужчин – окружность талии (ОТ) более 94 см, для женщин – более 80 см), возраст от 20 до 45 лет и наличие еще двух дополнительных компонентов МС, которые диагностировали согласно рекомендациям экспертов ВНОК (2009). Так, АГ (артериальное давление (АД) $\geq 130/85$ мм рт. ст.) диагностировали у 72,4 % пациентов, повышение уровня триглицеридов (ТГ) $\geq 1,7$ ммоль/л – у 59,1 %, снижение содержания холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС ЛПВП) $< 1,0$ ммоль/л у мужчин и $< 1,2$ ммоль/л у женщин – у 20,4 %, увеличение концентрации холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС ЛПНП) $> 3,0$ ммоль/л – у 70,4 %, гипергликемию натощак – у 27,6 % и нарушение толерантности к углеводам – у 10,2 %, СД 2 типа – у 8,1 %. Критериями исключения пациентов из исследования были СД 2 типа на инсулинотерапии с осложнениями, заболевания щитовидной железы, требующие гормональной

коррекции ее функции, постменопаузальный МС, сопутствующие заболевания в стадии обострения. В группе контроля было 42 человека (52,4 % женщин и 47,6 % мужчин, в возрасте от 20 до 45 лет, средний возраст $35,6 \pm 6,1$ года) без абдоминального ожирения и компонентов МС. Никто из обследованных контрольной группы не работал в ночную смену, не совершал длительных связанных со сменой часовых поясов путешествий и имел 8-часовой сон с 23 ч до 7 ч. Проводили анкетирование для выявления длительности и времени отхода ко сну. Всех обследуемых просили соблюдать привычный ритм труда и отдыха, а также привычный световой режим в течение двух суток наблюдения.

ОТ определяли по линии, находящейся на середине расстояния между нижним краем реберной дуги и гребнем подвздошной кости, с помощью сантиметровой ленты, плотно облегающей тело. При этом пациент находился в вертикальном положении, руки его были скрещены на груди. Измерение производилось дважды в конце обычного выдоха для исключения влияния мышц брюшной стенки, далее использовали среднее значение. При измерении АД соблюдали условия положения больного и обстоятельства. На каждой руке выполняли не менее двух измерений с интервалом не менее минуты, а при разнице 5 мм рт. ст. и более проводили дополнительное измерение. За конечное (регистрируемое) значение принимали среднее из двух последних измерений. Избыточную массу тела и ожирение диагностировали на основании индекса массы тела (ИМТ) Кетле (1997). Так, избыточная масса тела среди пациентов с МС наблюдалась в 37,8 % случаев, ожирение 1-й степени – в 36,7 %, ожирение 2-й и 3-й степени – в 19,4 и 6,1 % случаев соответственно.

Забор крови для лабораторных анализов производился из локтевой вены утром натощак не ранее чем через 12 часов после последнего приема пищи. Содержание глюкозы определялось глюкозооксидазным способом натощак. Тест толерантности к глюкозе с пероральной нагрузкой 75 г глюкозы проводили через 120 мин после приема нагрузочной дозы. Также определяли уровень инсулина (Вектор-Бест, Новосибирск). Для диагностики инсулинорезистентности использовали малую модель гомеостаза (Homeostasis Model Assesment – НОМА). Индекс инсулинорезистентности НОМА-IR рассчитывали по формуле: $\text{НОМА-IR} = \text{глюкоза натощак (ммоль/л)} \times \text{инсулин натощак (мкЕд/мл)} / 22,5$. За оптимальный показатель НОМА-IR принимали значение 2,77. Биохимическое исследование сыворотки крови (определение концентрации ТГ, ХС ЛПВП, ХС

ЛПНП и глюкозы) проводили ферментативными методами на аппарате Miura 3000 (TDI, Испания). Содержание лептина в сыворотке крови определяли с помощью ИФА.

Концентрацию мелатонина сульфата (метаболита мелатонина) в моче измеряли в 8 точках в течение суток каждые 3 часа методом ИФА (BÜHLMANN Laboratories AG, Швейцария). Мочу собирали в 8 отдельных емкостей, согласно каждому временному промежутку. В течение ночи, когда пациент просыпался (к 3:00 и 6:00), ему рекомендовалось не включать электрический свет и собирать анализы при сумеречном свете с целью исключить подавление продукции мелатонина ярким светом. На следующее утро в 6:00. натощак у пациентов определяли концентрацию в плазме крови лептина, инсулина, глюкозы, ХС ЛПВП, ТГ и другие необходимые для исследования показатели. Для проведения корреляционного анализа использовали ночную концентрацию мелатонина сульфата в моче (с 3 до 6 ч). В соответствии с требованиями биомедицинской этики, утвержденной Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (2000), на участие в исследовании было получено информированное согласие всех обследованных лиц.

При проведении статистического анализа данные представлялись в виде среднего значения исследуемых величин (M) и стандартного отклонения (SD), медианы (Me) и минимальных и максимальных значений ($Min-Max$), качественные признаки – в виде абсолютных значений и процентной доли. Для оценки статистической

значимости межгрупповых различий результатов применяли критерий парных сравнений Манна–Уитни. Для проведения корреляционного анализа использован критерий Спирмена. Критерием статистической достоверности получаемых выводов считалась общепринятая в медицине величина $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты клинико-лабораторных показателей лабораторных тестов, выполненных в соответствии с протоколом исследования у пациентов с МС и лиц контрольной группы, приведены в табл. 1. Обращают на себя внимание статистически значимые различия основной и контрольной групп не только по антропометрическим показателям (признаки абдоминального ожирения и величина АД), но и по лабораторным тестам, характеризующим метаболические нарушения (состояние липидного (ТГ, ХС ЛПНП, ХС ЛПВП), углеводного (глюкоза, инсулин, НОМА-IR) и пуринового (мочевая кислота) обменов), а также по уровню маркера системного воспаления (hs CRP) и гормональной активности жировой ткани (лептин).

Изучение содержания мелатонина сульфата в моче позволило выявить разнонаправленные нарушения секреции мелатонина у пациентов с МС, которые заключались как в нарушении ритма продукции мелатонина, так и в снижении его уровня по сравнению с контрольной группой в дневное и в ночное время суток (табл. 2). Более деталь-

Таблица 1

Сравнительный анализ клинико-лабораторных показателей у пациентов с МС и без него ($M \pm SD$)

Показатель	Пациенты без МС	Пациенты с МС
Возраст, лет	35,6 ± 6,1	35,6 ± 7,8
Масса тела, кг	73,69 ± 10,24	97,01 ± 15,32***
ИМТ, кг/м ²	23,43 ± 1,76	32,45 ± 4,51***
ОТ, см	82,32 ± 6,70	102,69 ± 11,83***
Содержание глюкозы, ммоль/л	4,84 ± 0,36	6,06 ± 0,57**
Содержание инсулина, мкМЕ/мл	8,16 ± 1,51	19,32 ± 4,78***
НОМА-IR	1,74 ± 9,38	4,92 ± 1,72***
Содержание ТГ, ммоль/л	1,14 ± 0,21	1,98 ± 1,67***
Содержание ХС ЛПВП, ммоль/л	1,60 ± 0,25	1,32 ± 0,30***
Содержание ХС ЛПНП, ммоль/л	2,36 ± 0,18	3,61 ± 0,76***
Систолическое АД, мм рт. ст.	118,9 ± 4,0	136,0 ± 10,1***
Диастолическое АД, мм рт. ст.	74,3 ± 3,7	86,9 ± 6,3***
Содержание hsCRP, мг/л	1,51 ± 0,87	5,79 ± 3,5*
Содержание лептина, нг/мл	3,6 ± 1,62	19,98 ± 11,67***

Примечание. Здесь и в табл. 2 обозначены статистически значимые отличия от соответствующих показателей группы контроля: * – при $p < 0,005$, ** – при $p < 0,001$, *** – при $p < 0,0001$.

Таблица 2

Уровень мелатонина сульфата в моче у пациентов с МС и без него, Me (Min–Max)

Содержание мелатонина сульфата, нг/мл	Пациенты без МС	Пациенты с МС
Среднесуточное	66,3 (53–77,8)	20,1** (11,4–36,1)
Дневное	42,9 (32,85–53,7)	14,5** (7,3–24,8)
Ночное	136,4 (117–150)	36,6** (23,5–70)

ная оценка суточного ритма секреции мелатонина сульфата обследованных показала статистически значимые межгрупповые различия (рисунок). Так, начиная с 24 часов у лиц контрольной группы наблюдали увеличение содержания мелатонина сульфата в моче – в 2,7–3 раза по сравнению с предыдущими тремя часами (интервал 21–24 ч). Максимальная концентрация мелатонина сульфата приходилась на 2–4 ч, с последующим постепенным снижением. Самый низкий уровень мелатонина сульфата был зарегистрирован в 15–18 ч. При МС не выявлено физиологического увеличения ночной концентрации мелатонина по сравнению с дневной (в норме в 5–10 раз). Наблюдалось уплощение ночного пика уровня мелатонина у пациентов с МС и смещение его на 3–6 ч вместо 2–4 ч. Таким образом, у всех пациентов с МС выявлено снижение уровня и нарушение ритма продукции мелатонина.

При проведении корреляционного анализа установлено, что чем ниже были значения мелатонина сульфата в моче, тем чаще и в большей степени были выражены компоненты МС. Наблюдалась обратная взаимосвязь между уровнем мелатонина сульфата мочи и основным маркером МС абдоминальным ожирением (ОТ), вне зависимости от пола ($r = -0,87, p < 0,0001$) и ИМТ ($r = -0,67, p < 0,0001$). Выявили сильные корреляционные связи между сниженным уровнем мелатонина сульфата и ухудшением показателей липидного профиля пациентов с МС – концентрацией ТГ ($r = -0,40, p < 0,0001$), ХС ЛПНП ($r = -0,65, p < 0,0001$), ХС ЛПВП ($r = 0,44, p < 0,0001$). Уменьшение уровня мелатонина у пациентов с МС способствует увеличению содержания атерогенных фракций липидов, и в конечном итоге повышает риск развития сердечно-сосудистых заболеваний. Также отмечена хроноритмологическая роль мелатонина в отношении АД. Чем выше было АД и больше выраженность АГ, тем меньше уровень мелатонина сульфата мочи. Так, сильные корреляционные связи у пациентов

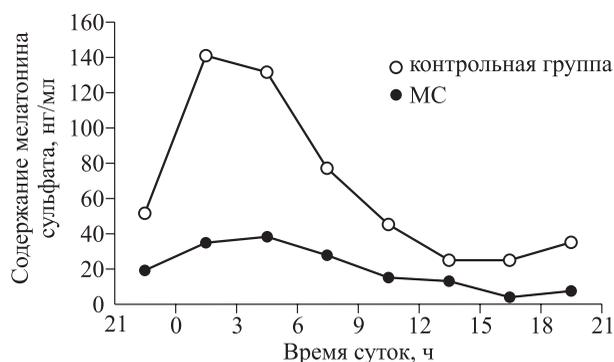


Рис. Суточный ритм мелатонина сульфата в моче

с МС отмечены с величиной как систолического ($r = -0,85, p < 0,0001$), так и диастолического АД ($r = -0,71, p < 0,0001$).

Мелатонин обеспечивает синхронизацию метаболических процессов с ночным периодом – временем, запрограммированным у человека на голодание, и оказывает тормозящий эффект на секрецию инсулина. Однако при МС наблюдали нарушение в системе регуляции мелатонина и снижением его секреции даже у лиц молодого возраста. Нарушение взаимодействия мелатонина и его рецепторов в гипоталамусе, печени, поджелудочной железе и адипоцитах ведет к развитию инсулинорезистентности и к формированию абдоминального ожирения, АГ и нарушениям углеводного и липидного обмена. Это положение подтверждается наличием взаимосвязей между уровнем мелатонина сульфата в моче и индексом инсулинорезистентности НОМА ($r = -0,51, p < 0,0001$) и содержанием лептина ($r = -0,52, p < 0,0001$). Взаимосвязь выраженности основных клинико-лабораторных проявлений МС, а также риска развития заболеваний сердечно-сосудистой системы и СД 2 с уровнем маркеров воспаления убедительно показана в многочисленных экспериментальных и клинических исследованиях [2]. В нашем исследовании также выявлена связь между содержанием мелатонина сульфата и маркера системного воспаления высокочувствительного С-реактивного белка hsCRP ($r = -0,45, p < 0,0001$).

Анализируя полученные данные, стоит отметить, что уровень секреции мелатонина у пациентов с МС со средним возрастом 36 лет ранее в отечественной литературе не отражен. В своем исследовании И.С. Джериева и соавт. [5] выявили снижение концентрации мелатонина сульфата в моче ночью, уменьшение количества метаболитов мелатонина в моче во время пиковой секреции гормона в 4:00 на примере 25 пациентов с МС со средним возрастом 44 ± 2 года. Однако достоверной разницы между суммарной

суточной секрецией метаболитов мелатонина у лиц контрольной группы и пациентов с МС не обнаружили. Они установили повышение дневной секреции и снижение ночной. В исследованиях, проведенных Т.Н. Гриненко и соавт. [4] и М.Ф. Баллюзек и соавт. [3], ученые наблюдали повышение уровня ночной экскреции мелатонина сульфата у больных с МС. Данные результаты можно объяснить тем, что в исследованиях участвовала большая часть пациентов с «неполным» МС, т.е. имевшие только две составляющие, хотя, согласно критериям АТР III (2003), при помощи которых верифицировали МС, необходимо наличие трех компонентов из пяти [8]. Данные исследования проводились среди лиц более старшего возраста (49–78 лет). Исследования болгарских ученых также показали наличие сильной отрицательной корреляционной связи между инсулином и мелатонином [3–5], что согласуется с полученными в настоящем исследовании результатами. Стоит отметить, что серьезным ограничением анализируемых исследований являлось меньшее (трехкратное) число измерений уровня метаболитов мелатонина в моче, в отличие от нашего (восьмикратное).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Детальная оценка суточного ритма секреции метаболитов мелатонина у пациентов в возрасте от 20 до 45 лет с МС и лиц контрольной группы показала статистически значимые межгрупповые различия. Так, начиная с 24 ч у пациентов контрольной группы наблюдали увеличение содержания мелатонина сульфата в моче – в 2,7–3 раза по сравнению с предыдущими тремя часами (интервал 21–24 ч). Максимальная концентрация мелатонина сульфата приходилась на 2–4 ч, с последующим постепенным его снижением (до 15–18 ч).

При МС выявлено снижение уровня и нарушение ритма продукции мелатонина: не наблюдалось физиологического увеличения ночной концентрации мелатонина по сравнению с дневным его уровнем, происходило уплощение ночного пика уровня мелатонина у пациентов с МС и сдвигание его на 3–6 ч, вместо 2–4 ч.

Чем ниже была концентрация мелатонина сульфата в моче, тем больше частота и выраженность компонентов МС. Изменение секреции мелатонина является важной составляющей первичной и вторичной профилактики сердечно-со-

судистых заболеваний и МС и может оказаться очень эффективной фармакотерапевтической стратегией, позволяющей улучшить самочувствие и качество жизни пациентов с МС в любом возрасте.

БЛАГОДАРНОСТИ

Выражаю благодарность коллективу Городской клинической больницы № 5 г. Новокузнецка Кемеровской области и главному врачу Ю.В. Снигиреву, за понимание и помощь в проведении исследований у лиц с метаболическим синдромом.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Анисимов В.Н. Мелатонин: роль в организме, применение в клинике. СПб., 2007. 40 с.
2. Арушанян Э.Б., Щетинин Е.В. Эндотелиальная дисфункция и мелатонин // Мед. вестн. Сев. Кавказа. 2015. 10. (2). 196–206.
3. Баллюзек М.Ф., Гриненко Т.Н., Кветная Т.В. Роль мелатонина в развитии метаболического синдрома // Клиническая медицина. 2009. (6). 26–31.
4. Гриненко Т.Н., Баллюзек М.Ф., Кветная Т.В. Мелатонин как маркер выраженности структурно-функциональных изменений сердца и сосудов при метаболическом синдроме // Клиническая медицина. 2012. (2). 30–34.
5. Джериева И.С., Рапопорт С.И., Волкова Н.И. Связь между содержанием инсулина, лептина и мелатонина у больных с метаболическим синдромом // Клиническая медицина. 2011. (6). 46–49.
6. Коненков В.И., Климонтов В.В., Мичурин С.В. и др. Мелатонин при сахарном диабете: от патофизиологии к перспективам лечения // Сахарный диабет. 2013. (2). 11–16.
7. Тюзиков И.А., Калинин С.Ю., Ворслов Л.О. и др. Дефицит мелатонина как причина гормонально-метаболических нарушений у мужчин // Эффективная фармакотерапия. 2015. (27). 48–55.
8. Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP). Expert panel on detection, evaluation and treatment of high blood cholesterol in adults (adult treatment panel III) // JAMA. 2001. 285. (19). 2486–2497.
9. Neel J.M. Diabetes mellitus: a thrifty genotype rendered detrimental by «progress»? // Am. J. Hum. Genet. 1962. 14. (2). 353–362.
10. Scott E.M., Grant P.J. Neel revisited: the adipocyte, seasonally and type 2 diabetes // Diabetologia. 2006. 49. (7). 1462–1466.

DISTURBANCE OF THE SECRETION OF MELATONIN IN METABOLIC SYNDROME

Natalya Sergeevna ALEKSEEVA

*Novokuznetsk State Institute of Postgraduate Medicine of Minzdrava Russia
654005, Novokuznetsk, Stroitelei av., 5*

The purpose of this study was to examine circadian rhythm of secretion of melatonin metabolites in patients with metabolic syndrome, aged 20 to 45 years and to assess the relationship with clinical and hormonal disorders. 98 patients (51 % women and 49 % men, mean age of 35.6 ± 7.8 years) with metabolic syndrome have been included in the study. The melatonin sulfate concentration in urine has been determined in 8 points during the day every 3 hours. In the control group there were 42 patients (52.4 % of women and 47.6 % men, mean age of 35.6 ± 6.1 years) without metabolic syndrome components. The statistically significant decrease of level and rhythm in melatonin production as well as its night peak flattening have been revealed at metabolic syndrome. The inverse relationship between the melatonin sulfate levels in urine and components of the metabolic syndrome – the key marker of abdominal obesity ($r = -0.87$, $p < 0.0001$), body mass index ($r = -0.67$, $p < 0.0001$) and HOMA of insulin resistance ($r = -0.51$, $p < 0.0001$) have been observed. The lower melatonin sulfate values in urine were the greater the frequency and severity of metabolic syndrome components were.

Key words: metabolic syndrome, melatonin, abdominal obesity, insulin resistance, arterial hypertension.

*Alekseeva N.S. – candidate of medical sciences, associate professor of general practice chair,
e-mail: natali-sim82@mail.ru*

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ ОТВЕТЫ У ПАЦИЕНТОВ С РАЗЛИЧНОЙ ЭТИОЛОГИЕЙ СИНДРОМА БЕСПОКОЙНЫХ НОГ

Лейла Эхтибаровна АБРАМОВСКИХ^{1,2}, Павел Иванович ПИЛИПЕНКО^{1,2},
Елена Владимировна ВОСТРИКОВА^{1,2}

¹ *Областной специализированный научно-практический неврологический центр
городской клинической больницы № 34
630054, г. Новосибирск, ул. Костычева, 4*

² *Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России
630091, г. Новосибирск, Красный просп., 52*

Оценивалась эффективность фармакологических ответов у пациентов со спорадической, семейной и нейропатической формами синдрома беспокойных ног (СБН). В исследование было включено 139 пациентов, разделенных на три группы: 67 человек с семейной формой СБН, 46 больных со спорадической формой СБН и 26 пациентов с нейропатической формой СБН. Все больные принимали мадопар (леводопа + бенсерозид), мирапекс (прамипексол), бензодиазепины (лоразепам, клоназепам), опиоид (трамадол), антидепрессант (тритико) и миореалаксант (баклофен). Препараты применялись по очереди. Каждые две недели один из препаратов заменялся на другой. Через две недели, к окончанию приема каждого из препаратов, проводилась оценка фармакологического ответа по шкале Relative Global Assessment Scale (RGAS), результаты сопоставлялись по эффективности ответа в группах сравнения. Мадопар и мирапекс показали себя более эффективными, чем клоназепам, лоразепам, трамадол внутри каждой группы ($p < 0,01$). Достоверных различий по эффективности между мадопаром и мирапексом при лечении СБН не выявлено ($p > 0,05$). Данные лекарственные средства являются препаратами первого выбора при терапии СБН. Клоназепам, лоразепам и трамадол оказались менее эффективными. При назначении антидепрессанта тритико и миореалаксанта баклофен положительного эффекта не отмечалось.

Ключевые слова: синдром беспокойных ног, мирапекс, мадопар, леводопа, клоназепам, лоразепам, тритико, баклофен.

Синдром беспокойных ног (СБН), или болезнь Виллизия–Экбома – актуальная проблема в неврологии. Освещение клинико-диагностических аспектов СБН привлекает пристальное внимание ученых и практических врачей на протяжении многих лет [2–6, 16, 18, 25, 27]. Распространенность СБН во всем мире составляет от 2 до 10 % [24]. В США создан специализированный фонд помощи пациентам, страдающим СБН (RLS Foundation) [17]. Первое описание СБН сделано в XVII веке, в 1945 г. шведский невролог Карл Экбом описал клиническую картину этого состояния и дал ему определение – синдром беспокойных ног [1]. В настоящее время широко обсуждается вопрос об изменении названия синдрома. Эксперты Международной группы по изучению

СБН выделяет для этого несколько причин. Первой причиной является то, что симптомы СБН могут проявляться не только в ногах, но и в других частях тела. Вторая причина определяется несколько ироничным звучанием названия, а также тем, что это расстройство можно рассматривать как болезнь, а не как синдром. Исходя из вышесказанного, учитывая вклад Т. Уиллиса и К. Экбома, было предложено новое название – «болезнь Уиллиса–Экбома» (Willis – Ekbohm disease, WED). Во многих зарубежных работах, опубликованных с 2013 г., используются оба названия – restless legs syndrome (RLS)/WED [1].

СБН относится к экстрапирамидной патологии нервной системы. Наиболее частыми проявлениями СБН являются циркадность возникно-

Абрамовских Л.Э. – аспирант кафедры клинической неврологии и алгологии ФПК и ППВ, врач-невролог областного научно-практического неврологического центра, e-mail: leyla.ahundova@gmail.com

Пилипенко П.И. – д.м.н., проф., зав. кафедрой клинической неврологии и алгологии ФПК и ППВ, e-mail: pilipen@rambler.ru

Вострикова Е.В. – к.м.н., доцент кафедры клинической неврологии и алгологии ФПК и ППВ, зав. Областным специализированным научно-практическим неврологическим центром, e-mail: evetansk@ya.ru

вения болезненных или неприятных ощущений в нижних или верхних конечностях, чаще ближе к вечеру, в период покоя. Уменьшение симптоматики происходит во время произвольных движений, например, при ходьбе [2, 5, 25]. СБН классифицируют на формы: первичную (идиопатическую), которую подразделяют на спорадическую и семейную формы, и вторичную [8]. СБН относится к курабельным заболеваниям, при которых диагностика и рационально подобранная терапия значительно улучшают качество жизни у таких пациентов [1].

В данной работе рассматривается фармакологический ответ на применение мадопара, мирепекса, клоназепама, лоразепама, трамадола, баллофена и тритико у 139 пациентов, страдающих СБН разной этиологии. Пациенты были разделены на группы в соответствии с классификацией СБН – семейная, спорадическая и нейропатическая. Выбор лекарственных препаратов, вошедших в исследование, основывался на рекомендациях научных публикаций по проблеме СБН [2, 5, 7, 9–15, 19–23, 25]. Информация о выборе наиболее эффективного препарата в зависимости от формы и этиологии СБН отсутствует. Данный факт явился основополагающим для проведения нашего исследования.

Для лечения идиопатического СБН управление по контролю качества пищевых продуктов, медикаментов и косметических средств США (Food and Drug Administration, FDA) одобрило применение агонистов дофаминовых рецепторов, таких как мирепекс (прамипексол), реквип (ропинирол), ньюпро (ротиготин). В Российской Федерации для коррекции СБН зарегистрирован только мирепекс. Предполагают, что дофаминергические средства одинаково эффективны как при первичном СБН, когда он возникает в отсутствие какого-либо другого соматического и неврологического заболевания, так и при СБН, возникающем вслед за признаками основного заболевания, т.е. симптоматическом или вторичном СБН [7]. Согласно данным других научных исследований, доказана эффективность мирепекса, но в них нет указаний, при какой форме СБН он использовался [5, 9, 20, 23, 25]. Имеются данные, что мирепекс при длительном применении становится неэффективным, и это определяет назначение препаратов другого ряда [23].

Много работ посвящено изучению эффективности лечения СБН. Некоторые исследования указывают на эффективность применения леводопа + карбидопа и леводопа + бенсерозид [15, 25]. Успешное применение сочетание этих препаратов показано во многих исследованиях, однако отсутствуют сравнительные данные об их эффек-

тивности при различных формах СБН [9, 11, 15, 21]. Имеются сведения об эффективности применения клоназепама при идиопатическом СБН, особенно при его тяжелом течении [14]. Следует учитывать, что клоназепам мало влияет на сенсорные и двигательные проявления СБН, однако способность препарата ускорять наступление сна позволяет эпизодически назначать его в тяжелых случаях [19, 22].

S. Нарре с соавторами в 2001 г. указывают в рекомендациях по лечению идиопатического СБН, что при плохой переносимости или недостаточной эффективности дофаминергических препаратов следует назначать опиоиды [12]. В современных рандомизированных контролируемых испытаниях представлены новые доказательства их эффективности [13]. Эти данные были подтверждены в 2016 г., и опиоиды были рекомендованы для применения [18].

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследование включили 139 пациентов с СБН, которые соответствовали современным диагностическим критериям, установленным Международной исследовательской группой по СБН [6]. В зависимости от формы СБН было сформировано три группы: первая включала 46 человек со спорадической формой СБН, у пациентов этой группы не отмечалось патологических отклонений при проведении электронейромиографии и не было указаний на наличие этого заболевания у родственников при сборе семейного анамнеза; у больных второй группы (67 человек с семейной формой СБН) был положительный семейный анамнез по данному заболеванию; третья группа пациентов включала 26 человек с нейропатической формой СБН (вторичной), у которых были соответствующие клиничко-нейромиографические данные, подтверждающие полинейропатию. Сравнение фармакологических ответов проводилось между семейной формой и спорадической, нейропатической и спорадической формами СБН. Все больные обратились в Городской научно-практический неврологический центр г. Новосибирска по направлению из поликлиник по месту проживания, где проходили лечение. Перед проведением исследования у пациентов были отменены препараты, которые могут провоцировать СБН, а именно трициклические антидепрессанты, селективные ингибиторы обратного захвата серотонина, бета-блокаторы.

Все больные принимали по 2 недели каждый из перечисленных препаратов: прамипексол (мирепекс), леводопа + бенсерозид (мадопар), бензодиазепины (лоразепам, клоназепам), наркотиче-

ские анальгетики (трамадол), антидепрессанты (тразодон), миореалаксант (баклофен). Затем на 14 день приема препарата проводилась оценка фармакологического ответа на него по шкале RGAS (Relative Global Assessment Scale): 3 балла – лучшее лекарство, 2 балла – второе по эффективности лекарство, 1 балл – третье по эффективности лекарство, 0 баллов – неэффективное лекарство [16]. Мы не оценивали эффект различных доз лекарственных средств, а изучали ответы при назначении средней рекомендуемой дозы препарата. Все препараты кроме тразодона принимались пациентами 2 раза в сутки, в обеденное и вечернее время. Тразодон (триттико) принимался 1 раз в сутки в дозировке 100 мг, вечером. Прамипексол (мирапекс) назначался по 0,25 мг в каждый прием, леводопа + бенсерозид (мадопар) 125 мг в каждый прием [4]. Из бензодиазепинов лоразепам назначался по 1 мг, клоназепам по 2 мг в каждый прием [19]. Трамадол назначался 50 мг 2 раза в день [13]. Различия между группами оценивали с использованием критерия Манна–Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При сопоставлении эффективности назначенных препаратов в трех группах пациентов с СБН, а именно нейропатического со спорадическим и семейного со спорадическим, получены следующие результаты.

Достоверных различий между мадопаром и мирапексом при лечении СБН не выявлено ($p > 0,05$). Эти препараты более эффективны, чем клоназепам, лоразепам, трамадол внутри каждой группы ($p < 0,01$). Эффективность от назначения триттико и баклофена отсутствовала. Полученные результаты согласуются с данными исследований, проведенных рядом ученых, и позволяют говорить, что мадопар и мирапекс являются препаратами выбора при лечении СБН, вне зависимости от его формы, что нас прицельно и интересовало. При этом оба препарата в конечном итоге приводят к повышению функциональной активности дофаминергического синапса, вследствие чего мы можем предположить, что существует общий патофизиологический механизм при СБН, включая нейропатическую (вторичную) форму.

Клоназепам был более эффективен в группе пациентов со спорадической формой СБН, чем у больных с нейропатической формой ($p < 0,01$), при этом эффективность фармакологического ответа на этот препарат у пациентов с семейной и спорадической формами СБН была одинаковой ($p > 0,05$). Лоразепам показал большую эффективность в группе пациентов со спорадической

формой в сравнении с другими формами СБН ($p < 0,05$). Хочется отметить, что бензодиазепины не влияют на сенсомоторные проявления СБН, они оказывают положительное действие при лечении инсомнии, связанной с СБН [28]. В результате мы видим, что оба препарата показали себя эффективнее при спорадической форме и ни один из них не был эффективен при нейропатической форме СБН.

Трамадол был достоверно более эффективен в группе пациентов со спорадической формой в сравнении как с нейропатической ($p < 0,01$), так и с семейной формой СБН ($p < 0,05$). Однако механизм действия опиоидов, приводящий к облегчению симптомов СБН, не ясен [26].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

СБН – курабельное заболевание, наиболее эффективными препаратами оказались мирапекс и мадопар. Именно эти лекарственные средства являются препаратами первого выбора при терапии СБН. Их положительный эффект доминировал при всех формах СБН. Эффективность других препаратов, вошедших в исследование, была не такой однозначной, зависела от формы СБН. Так, при спорадической форме СБН в сравнении показали себя эффективными, помимо мирапекса и мадопара, бензодиазепины (лоразепам и клоназепам) и трамадол. При нейропатической форме из препаратов, вошедших в исследование, были эффективны только мадопар и мирапекс. При семейной форме СБН лидирующее место по эффективности фармакологического ответа заняли мирапекс и мадопар, за ними следовал клоназепам. Фармакологический положительный ответ при назначении клоназепама превалировал у пациентов со спорадической и семейной формами. Применение препаратов триттико и баклофена оказалось абсолютно неэффективным. Таким образом, рационально подобранная терапия, с учетом соответствующей формы заболевания, может эффективно корригировать патологические симптомы СБН. Данный терапевтический подход позволяет значительно улучшить общее состояние и сон у многих пациентов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аверьянов Ю.Н., Подчуфарова Е.В. Синдром беспокойных ног // Неврол. журн. 1997. (3). 12–16.
2. Артемьев Д.В., Обухова А.В. Синдром беспокойных ног // Нерв. болезни. 2013. (3). 1–7.
3. Вейн А.М., Левин Я.И. Нарушения сна и бодрствования / Ред. Н.Н. Яхно, Д.Р. Штульман. М., 2003. 422–424.

4. Левин О.С. Синдром беспокойных ног (болезнь Виллизия – Экбома). М.: МЕДпресс-информ, 2015. 24–27.
5. Федорова Н.В. Применение мирапекса при синдроме беспокойных ног. Методические рекомендации. М., 2010. 18 с.
6. Allen R.P., Picchietti D.L., Garcia-Borreguero D. et al. International Restless Legs Syndrome Study Group. Restless legs syndrome/Willis – Ekbohm disease diagnostic criteria: updated International Restless Legs Syndrome Study Group (IRLSSG) consensus criteria – history, rationale, description, and significance // *Sleep Med.* 2014. 15. (8). 860–873.
7. Becker P.M., Jamieson A.O., Brown W.D. Dopaminergic agents in restless legs syndrome and periodic limb movements of sleep: response and complications of extended treatment in 49 cases // *Sleep.* 1993. 16. (8). 713–716.
8. Cynthia L. Comella Treatment of Restless Legs Syndrome // *Neurotherapeutics.* 2014. 11. (1). 177–187.
9. Earley C.J. Pergolide and carbidopa/levodopa treatment of the restless legs syndrome and periodic leg movements in sleep in a consecutive series of patients // *Sleep.* 1996. 19. (10). 801–810.
10. Garcia-Borreguero D., Odin P., Serrano C. Restless legs syndrome and PD: a review of the evidence for a possible association // *Neurology.* 2003. 61. (6). 49–55.
11. Garcia-Borreguero D., Kohonen R., Silber M.H. et al. The long-term treatment of restless legs syndrome/Willis–Ekbohm disease: evidence-based guidelines and clinical consensus best practice guidance: a report from the International Restless Legs Syndrome Study Group // *Sleep Med.* 2014. 15. (8). 860–873.
12. Happe S., Klosch G., Saletu B. Treatment of idiopathic restless legs syndrome (RLS) with gabapentin // *Neurology.* 2001. 57. (9). 1717–1719.
13. Högl B., Comella C. Therapeutic advances in restless legs syndrome // *Mov. Disord.* 2015. 30. (11). 1574–1579.
14. Jørgensen S., Rønborg S. Restless legs syndrome // *Ugeskr. Laeger.* 1989. 151. (11). 670–671.
15. Mühlau G. Six months’ treatment of restless legs syndrome with levodopa/benserazide in domiciliary practice // *MMW Fortschr. Med.* 2004. 146. (3). 87–93.
16. Ondo W., Jankovic J. Restless legs syndrome: Clinicoetiologic correlates // *Neurology.* 1996. 47. (6). 1435–1441.
17. Restless Legs Syndrome Foundation. URL: <https://www.rls.org/> (дата обращения 06.10.2016).
18. Rinaldi F., Galbiati A., Marelli S. et al. Treatment options in intractable restless legs syndrome/Willis – Ekbohm disease (RLS/WED) // *Curr. Treat. Options Neurol.* 2016. 18. (2). 7.
19. Saletu M., Anderer P., Saletu-Zyhlarz G. et al. Restless legs syndrome (RLS) and periodic limb movement disorder (PLMD): acute placebo-controlled sleep laboratory studies with clonazepam // *Eur. Neuropsychopharmacol.* 2001. 11. (2). 153–161.
20. Scholz H., Trenkwalder C., Kohonen R. et al. Dopamine agonists for the treatment of restless legs syndrome // *Cochrane Database Syst. Rev.* 2011. 16. (3). URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21412893> (дата обращения 06.10.2016).
21. Scholz H., Trenkwalder C., Kohonen R. et al. Levodopa for the treatment of restless legs syndrome. 16 February 2011. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21328278> (дата обращения 06.10.2016).
22. Silber M.H., Ehrenberg B.L., Allen R.P. An algorithm for the management of restless legs syndrome // *Mayo Clin. Proc.* 2004. 79. (7). 916–922.
23. Stiasny K., Wetter T.C., Trenkwalder C., Oertel W.H. Restless legs syndrome and its treatment by dopamine agonists // *Parkinsonism Relat. Disord.* 2000. 7. (1). 21–25.
24. Trenkwalder C., Paulus W., Walters A.S. The restless legs syndrome // *Lancet Neurol.* 2005. 4. (8). 465–75.
25. Trenkwalder C., Stiasny-Kolster K., Kupsch A. et al. Controlled withdrawal of pramipexole after 6 months of open-label treatment in patients with restless legs syndrome // *Movement Disorders.* 2006. 21. (9). 1404–1410.
26. Walker S., Fine A., Kryger M.H. Sleep complaints are common in a dialysis unit // *Am. J. Kidney Dis.* 1995. 26. (5). 751–756.
27. Willis T. The London Practice of Physick. L.: printed for Basset T., Dring T., Harper C., Crook W., 1692. URL: <http://catalogue.nla.gov.au/Record/6753939> (дата обращения 06.10.2016).
28. Yee B., Killick R., Wong K. Restless legs syndrome // *Aust. Fam. Physician.* 2009. 38. (5). 296–300

PHARMACOLOGICAL RESPONSES IN PATIENTS WITH DIFFERENT ETIOLOGY OF RESTLESS LEGS SYNDROM

**Leyla Ekhtibarovna ABRAMOVSKIKH^{1,2}, Pavel Ivanovich PILIPENKO^{1,2},
Elena Vladimirovna VOSTRIKOVA^{1,2}**

¹ *Regional Specialized Scientific-Practical Neurological Center of Municipal Healthcare Institution City Clinical Hospital № 34, 630054, Novosibirsk, Kostycheva str., 4*

² *Novosibirsk, State Medical University 630091, Novosibirsk, Krasny av., 52*

The effectiveness of pharmacological responses in patients with different restless legs syndromes (RLS): idiopathic, family and neuropathic forms was evaluated. 139 patients with RLS were included into research. They were divided into 3 groups: 67 patients with family RLS, 46 patients with idiopathic RLS, and 26 patients with neuropathic RLS. All patients were administrated drugs: mirapex (pramipexol), madopar (levodopa+benseroid), benzodiazepines (lorazepam, clonazepam), opioid (tramadol), antidepressant (triticco), miorealaxant (baclofen). Medications have been taken in terns. Every two weeks one of the medications was substituted into another one. The evaluation of pharmacological response to every above mentioned drugs have been carried out according to the scale of Relative Global Assessment Scale (RGAS) two weeks later by the end of administration of each drug. The data were compared for effectiveness of the response in the comparison groups. Madopar and mirapex proved more effective than clonazepam, lorazepam tramadol within each group ($p < 0,01$). No significant differences in efficacy between Madopar mirapex and in the treatment of RLS has been detected ($p > 0,05$). Conclusion. The most effective drugs against RLS were mirapex, madopar. These drugs are the first choice in the treatment of RLS. Clonazepam, Lorazepam and tramadol were less effective. The antidepressants trittiko and miorealaksanta baclofen did not demonstrated any positive effects.

Key words: restless legs syndrome, madopar, mirapex, clonazepam, lorazepam tramadol, trittico, baclofen.

Abramovskikh L.E. – postgraduate student, neurologist, e-mail: leyla.ahundova@gmail.com

Pilipenko P.I. – doctor of medical sciences, professor, head of department, e-mail: pilipen@rambler.ru

Vostrikova E.V. – candidate of medical sciences, associate professor, head of regional specialized scientific and practical neurological center, e-mail: evetansk@ya.ru

ЛИЧНОСТНЫЕ И ЭМОЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПАЦИЕНТОВ С ТРИГЕМИНАЛЬНОЙ НЕВРАЛГИЕЙ (сообщение 1)

Джамиль Афетович РЗАЕВ¹, Галина Ивановна МОЙСАК^{1,2}, Надежда Анатольевна ЗУБОК¹,
Евгения Валерьевна АМЕЛИНА³, Елена Викторовна КУЛИКОВА¹,
Любомир Иванович АФТАНАС⁴, Владимир Викторович КРЫЛОВ⁵

¹ Федеральный центр нейрохирургии
630087, г. Новосибирск, ул. Немировича-Данченко, 132/1

² Новосибирский национальный исследовательский государственный университет
630090, г. Новосибирск, ул. Пирогова, 2

³ Институт вычислительных технологий СО РАН
630090, г. Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 6

⁴ НИИ физиологии и фундаментальной медицины
630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 4

⁵ Московский государственный медико-стоматологический университет
им. А.И. Евдокимова Минздрава России
127473, г. Москва, ул. Делегатская, 20, стр. 1

Цель исследования – анализ психометрических профилей пациентов с тригеминальной невралгией для определения лечебной тактики. **Материал и методы.** Психологические особенности личности были изучены у 56 больных в возрасте от 28 до 80 лет (32 женщины) с типичной (41 человек) и атипичной (15 человек) тригеминальной невралгией. Оценка интенсивности болевого синдрома проводилась с помощью шкал боли. Для исследования психологического статуса применяли шкалу HADS, «шкалу катастрофизации боли», уточняли наличие суицидальных мыслей, аггравации и получение вторичной выгоды от заболевания. **Результаты.** У 66 % больных с тригеминальной невралгией признаки тревожности отсутствовали, у 27 % она была субклинически выражена и у 7 % – клинически выражена. В 63 % случаев не было отмечено признаков депрессивности, в 30 % наблюдалась субклиническая депрессия и в 7 % – клинически выраженная. Катастрофизация боли наблюдалась у 76,8 % пациентов, суицидальные мысли высказывали 44,6 % больных. В 28,6 % случаев до операции отмечены элементы умышленной аггравации заболевания. У 40 % больных выявлены признаки вторичной выгоды от заболевания. **Заключение.** Большая часть больных с тригеминальной невралгией не достигает уровня клинически выраженной тревожности и депрессивности, поэтому всесторонней оценки психических нарушений требуют только пациенты с выраженной психопатологической симптоматикой для исключения заболеваний психической сферы. Однако у больных с атипичной тригеминальной невралгией риск возникновения суицидальных идей выше, чем при типичной, что требует изначально более тщательного курирования таких пациентов. Данные общей оценки психического статуса могут быть использованы для объективизации показателей опросников и шкал боли, а также для определения тактики ведения пациентов этой группы, в особенности для уточнения показаний к оперативному вмешательству и решения вопроса о сроках его проведения.

Ключевые слова: тригеминальная невралгия, тревожность, депрессивность, психометрический анализ, болевой синдром, микроваскулярная декомпрессия.

Рзаев Д.А. – к.м.н., врач-нейрохирург, главный врач ФГБУ ФЦН, e-mail: d_rzaev@neuronsk.ru

Мойсак Г.И. – к.м.н., врач-невролог ФГБУ ФЦН, ассистент кафедры фундаментальной медицины, e-mail: g_toysak@neuronsk.ru

Зубок Н.А. – клинический психолог, ФГБУ ФЦН, e-mail: n_zubok@neuronsk.ru

Амелина Е.В. – к.ф.-м.н., старший научный сотрудник, e-mail: amelina.evgenia@gmail.com

Куликова Е.В. – врач-нейрохирург ФГБУ ФЦН, e-mail: e_kulikova@neuronsk.ru

Афтанас Л.И. – академик РАН, проф., д.м.н., врач-психиатр, директор

Крылов В.В. – академик РАН, проф., д.м.н., врач-нейрохирург, зав. кафедрой нейрохирургии и нейрореанимации

Невралгия тройничного нерва (НТН) является наиболее распространенным болевым синдромом в области лица. Распространенность заболеваний, интенсивность и психологическая составляющая боли при НТН делают ее оценкой чрезвычайно актуальной проблемой для неврологии и нейрохирургии. Помимо значительного влияния на повседневную жизнь, когда больной испытывает постоянный дискомфорт от болевых ощущений и не может в полной мере осуществлять обычную для него активность, НТН оказывает негативное влияние на психическое состояние пациента, качество его жизни и социальный статус [1, 12]. При интенсивных болях возникающие психоэмоциональные нарушения бывают настолько сильными, что могут выражаться в аутоагрессии вплоть до суицидальных мыслей и попыток. Хронический болевой синдром в области лица сопровождается стойкими изменениями личности пациента, определяет его поведение и особенности взаимодействия с окружением [12]. Описывая боль при НТН, К. Burchiel сравнил ее с агонией: она влияет на все аспекты жизни пациента и в момент болевого приступа «пациенты просят их убить».

При этом как в отечественной, так и в зарубежной литературе вопрос анализа психометрических данных у этой группы больных слабо освещен, в том числе у пациентов с НТН, которым предлагается оперативное лечение. В работе изучены психологический профиль больных с НТН, психические особенности при типичной и атипичной НТН в зависимости от возраста и пола пациентов, а также влияние интенсивности и продолжительности хронического болевого синдрома на уровень тревожности и депрессивности. Кроме того, исследована зависимость между тревожностью, преувеличением симптомов заболевания и извлечением вторичной выгоды из него.

Цель работы заключалась в анализе психометрических показателей у пациентов с тригеминальной невралгией для определения лечебной тактики в зависимости от особенностей их психологического статуса.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Психологические особенности личности изучены у 56 больных (32 женщины и 24 мужчины), которые проходили лечение в Федеральном центре нейрохирургии г. Новосибирска с февраля 2015 по апрель 2016 г. Возраст пациентов варьировался от 26 до 80 лет (средний возраст составил 57,9 года). У 41 пациента диагностирована типичная тригеминальная невралгия (ТН), у 15 – атипичная (АТН). Длительность заболе-

вания варьировалась от 7 месяцев до 55 лет и в среднем составила 10,4 года. У 27 (48,2 %) больных по поводу НТН в анамнезе были выполнены различные виды хирургических вмешательств или их сочетание (микроваскулярная декомпрессия корешка тройничного нерва, деструктивные вмешательства: алкоголизация периферических ветвей тройничного нерва, термодеструкция, криодеструкция, радиочастотная деструкция, гамма-нож). Ни в одном случае не были диагностированы сопутствующие заболевания, которые могли бы существенно повлиять на изменение психического состояния больных.

Оценка выраженности болевого синдрома при поступлении в стационар и после операции проводилась с помощью шкал боли и опросников: Visual Analogue Scale (VAS), шкалы боли Неврологического института Баггов (BNIPS), адаптированной русскоязычной версии опросника BPI-Facial [4, 10], которая отражает интенсивность боли, влияние болевого синдрома на повседневную активность пациентов и функции лица. Исследование психологического статуса до оперативного вмешательства проведено с помощью Госпитальной шкалы тревоги и депрессии (HADS), адаптированной для использования в отечественной медицине М.Ю. Дробижевым. У пациентов пожилого и старческого возраста (старше 60 лет по классификации ВОЗ) проводили анализ состояния по геронтологической шкале депрессии.

Также анализировали наличие связи начала заболевания с психотравмирующей ситуацией. Для оценки выраженности депрессивных нарушений, интенсивности боли и ее влияния на поступки пациентов выясняли наличие у них суицидальных мыслей, намерений и реальных попыток. Данные клинико-психологических шкал сопоставляли с показателями шкал боли для изучения влияния интенсивности и продолжительности хронической лицевой боли на уровень тревожности и депрессивности, а также с данными анамнеза и клинических проявлений. Оценка катастрофизации боли проводилась при помощи «Шкалы катастрофизации боли» (ШКБ – Pain Catastrophizing Scale), которая является быстрым методом оценки болевых установок пациента. В ходе разговора и наблюдения за пациентом уточняли присутствие момента аггравации и извлечения вторичной выгоды от заболевания.

Во всех случаях пациентам было выполнено оперативное вмешательство – микроваскулярная декомпрессия (МВД) корешка тройничного нерва из ретросигмоидного доступа.

Числовые данные в статье представлены в виде среднего/медианы (нижнего; верхнего квар-

тилей). Линейная связь между непрерывными и шкальными переменными анализировалась с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмана r_s . Для сравнения двух групп использовали критерий Манна–Уитни и точный критерий Фишера. Множественные сравнения проводили с использованием поправки Холма ($p_{\text{корр}}$). Для уменьшения числа сравниваемых показателей в группах предварительно отбирали значимые факторы и факторы с сомнительной значимостью с помощью алгоритма Boruta, который базируется на алгоритме построения деревьев классификации RandomForrest [8, 11].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе проведения обследования выяснилось, что 33 (58,9 %) пациента связывают начало заболевания, его обострение либо нарастание интенсивности боли с психотравмирующей ситуацией, что может свидетельствовать о срыве механизмов адаптации, гиперактивности адренергических систем и вегетативной дисрегуляции, которые формируют психосоматическую составляющую заболевания и могут способствовать формированию порочного круга боли и реакции на нее [3]. По утверждению 12 пациентов (21,4 %), боль на лице усилилась или «вышла из-под контроля» после потери членов семьи или близких друзей. По оценочной шкале стрессовых событий Холмса-Раге (Social Readjustment Rating Scale (SRRS)) это является наиболее сильным стрессогенным фактором, который может способствовать развитию психосоматических заболеваний.

Однако некоторые клинические случаи демонстрировали и обратное влияние стрессовых ситуаций. При расспросе о провоцирующих лицевую боль факторах два пациента (3,5 %) вспомнили, что при стрессовых моментах и некоторое время после них (от нескольких часов до суток) отмечали отсутствие болей, что было для них необычно. К примеру, больной Ш. 53 лет, в прошлом профессиональный хоккеист, в момент обследования играющий в лиге ветеранов, отметил, что перед тем как выйти на лед и на протяжении всего матча у него не возникает болевых ощущений независимо от приема противосудорожных препаратов и только после того, как игра подошла к концу, боли возвращаются и становятся интенсивными. У больной С. 66 лет после сильной ссоры с соседями, во время которой пациентка испытала гнев и эмоциональное потрясение и долго не могла успокоиться, развился гипертонический криз. Однако она отметила, что после этого момента пароксизмов боли не было больше суток.

В данных наблюдениях сила стресса все же была менее выражена и переживания при этом менее долгосрочны, чем при потере близкого человека, однако они были достаточно значимы и привели к развитию стрессорной реакции. Возможно, купирование боли в этих случаях объясняется запредельным торможением в коре больших полушарий, которое имеет охранительную функцию для мозга и препятствует истощению нервных ресурсов.

Также можно предположить, что большую роль в этом играют нейроэндокринные процессы. В момент стресса кора головного мозга, участвуя в анализе поступающей информации, активирует, прежде всего, гипоталамические структуры, которые в дальнейшем запускают нейроэндокринные реакции нервным и гуморальным путем. В настоящее время существуют клинические и электрофизиологические доказательства, что кора большого мозга играет существенную роль в регулировании процессов ноцицепции через активацию центров, расположенных в гипоталамических и стволовых отделах. Можно предположить, что в данных клинических наблюдениях «обезболивающий эффект» острых стрессовых ситуаций был обусловлен участием гормонов стресса, в частности кортикотропин-рилизинг-фактора, который обладает быстро развивающимся и длительным анальгетическим действием, а также глюкокортикоидов и эндогенных опиатов, которые играют большую роль в реализации стресс-реакции [9, 13]. Такие эффекты отмечаются при остром стрессе, который существенно отличается от хронического, характеризующегося адаптацией к стрессовым раздражителям или даже гиперноцицепцией [7].

Болевой синдром у всех больных характеризовался высокой интенсивностью. До операции при оценке по VAS она составила 7,8/8 (7; 9) баллов (от 3 до 10), по BNIPS – 4,3/4 (4; 5) баллов (от 3 до 5), по VPI-Facial – 106/107 (84; 133) баллов (от 21 до 170), у пациентов с ТТН и АТН интенсивность боли значительно не различалась (табл. 1).

Уровень тревожности (УТ) у пациентов до операции колебался по шкале HADS от 0 до 18 баллов и составил 6,1/6 (4; 8) баллов. При клинико-психологическом обследовании до МВД у 37 (66 %) больных признаки тревожности отсутствовали (0–7 баллов), у 15 (27 %) она была субклинически выражена (8–10 баллов) и у 4 (7 %) – клинически выражена (11 и более).

УТ не имел значимых различий в разных возрастных группах, а также в двух группах больных с ТТН и АТН. На рис. 1 приведены показатели тревожности до операции в зависимости от возраста пациентов и типа ТН. По нашим данным,

Таблица 1

Интенсивность болевого синдрома при ТТН и АТН

Интенсивность болевого синдрома по шкале	ТТН	АТН
VAS	7,9/8 (7; 9)	7,6/7 (7; 8,5)
BNIPS	4,1/4 (4; 5)	4,7/5 (5; 5)
BPI-Facial	104/108 (80; 131)	110/100 (86; 143)

у пациентов с АТН при постоянной боли в лице УТ не был выше, чем при пароксизмальном болевом синдроме у больных с ТТН. Во всей группе УТ характеризовался значением 6,1/6 (4; 8), т. е. большинство пациентов не достигло клинически выраженного уровня тревожности.

До оперативного вмешательства уровень депрессивности (УД) по шкале HADS также значительно варьировал от 0 до 13 баллов и составил 6,3/6 (4;8) балла. Показатели депрессивности не были связаны с возрастом и не различались в группах ТТН и АТН (средние значения составили 6,0 и 6,4 соответственно). У большинства пациентов (35 случаев, 63 %) не выявлены признаки депрессивности (по шкале HADS – до 7 баллов). В 17 (30 %) случаях у больных отмечена субклиническая депрессия (8–10 баллов) и в 4 (7 %) – клинически выраженная депрессия (11 и более).

Отдельно изучали показатели депрессивности по геронтологической шкале депрессии в группе пожилых (25 наблюдений). Показатели колебались от 3 до 7 баллов, а значения составили 5,5/6 (5;7) баллов (до 5 баллов – отсутствие депрессии), мода при этом была равна 7 баллам, т. е. большая часть больных пожилого возраста имела признаки депрессивности.

При изучении половых различий УТ и УД отмечено, что показатели шкалы HADS были выше у женщин: УТ женщин – 7,4/7,5 (4,8; 9), мужчин –

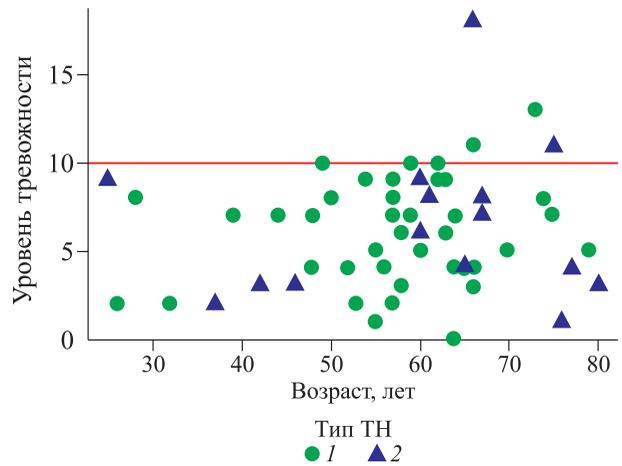


Рис. 1. Уровень тревожности до операции в зависимости от возраста. 1 – случаи ТТН, 2 – АТН. Линия на графике отражает клинический уровень тревожности

4,4/4 (2; 6) ($p_{\text{с корр}} = 0,002$), УД женщин – 7,1/7 (5; 9), мужчин – 5,3/5,5 (3; 8) ($p_{\text{с корр}} = 0,056$). Это связано с большей чувствительностью женщин к изменению условий жизни, более выраженной эмоциональной реакцией на стрессорные факторы и боль, для них более характерно развитие эмоциональной дизадаптации при хронических заболеваниях [2]. Авторы указали, что у женщин имеется тенденция к преобладанию тревожности [2, 3]. Несмотря на то что стресс и болевое раздражение сопровождаются похожими изменениями в соматической, нервной и гипофизарно-надпочечниковой системах, у женщин отмечается более выраженный эмоциональный ответ [6].

В рамках исследования выявлено, что УТ и УД до операции у пациентов не зависели от длительности заболевания (рис. 2). Полученный результат не соответствовал утверждению некоторых авторов о том, что большая длительность заболевания соответствует повышенной тревожности и депрессивности [12].

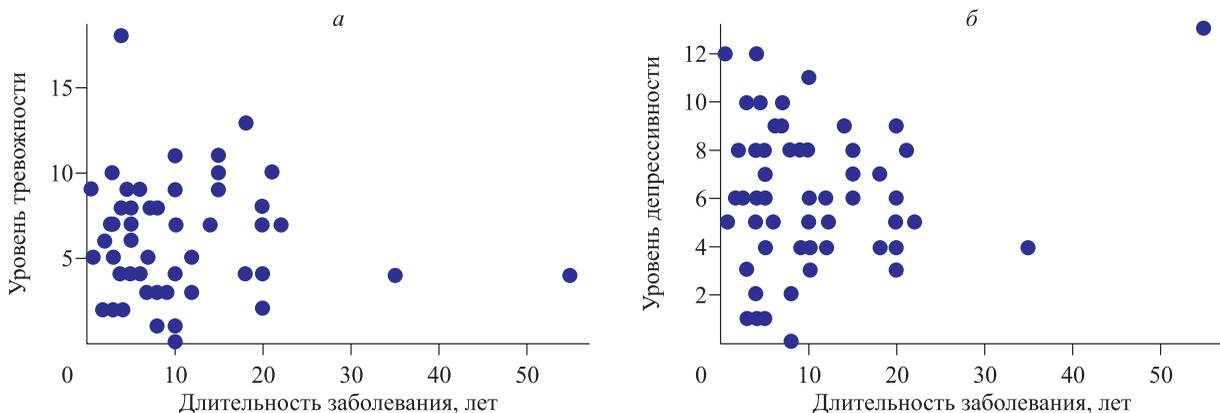


Рис. 2. Уровень тревожности (а) и депрессивности (б) до операции в зависимости от длительности заболевания

Таблица 2

Значение показателей у пациентов с суицидальными идеациями и без них

Показатель	Без суицидальных идеаций		С суицидальными идеациями	
	Количество	Значение	Количество	Значение
Возраст	31	55,5/57 (50,5; 61)	25	61/64 (59; 67)
Пол (женский/мужской), %	31	(45; 55)	25	(72; 28)
Наличие операций в прошлом (нет/да), %	31	(58; 42)	25	(44; 56)
Длительность заболевания, лет	31	7,7/6 (3,5; 10)	25	13,6/10 (5; 20)
Психотравма (нет/да), %	31	(61; 39)	25	(16; 84)
Тип НТН (ТН/АТН), %	31	(84; 16)	25	(60; 40)
VAS (до операции)	31	7,9/8 (7; 9)	25	7,7/8 (7; 9)
BNIPS (до операции)	31	4,3/4 (4; 5)	25	4,2/4 (4; 5)
BPI-Facial (до операции)	31	109/111 (90; 134)	25	102/94 (78; 115)
VAS (после операции)	31	0,1/0 (0; 0)	25	1,2/0 (0; 1)
BNIPS (после операции)	31	1,1/1 (1; 1)	25	1,7/1 (1; 2)
BPI-Facial (после операции)	31	1,6/0 (0; 0)	25	15,7/0 (0; 13)
Депрессия у пожилых	8	5/5 (3,8; 6,2)	17	5,8/6 (5; 7)
Уровень депрессивности	31	5,8/6 (4; 8)	25	6,9/6 (4; 9)
Уровень тревожности	31	5,6/5 (3,5; 7,5)	25	6,8/7 (4; 8)
Аггравация (нет/да), %	31	(71; 29)	25	(72; 28)
Катастрофизация (нет/да), %	31	(16; 84)	25	(32; 68)
Вторичная выгода (нет/да), %	21	(62; 38)	18	(56; 44)

При сопоставлении УД и суммарного балла шкалы BPI-Facial до вмешательства выявлена положительная корреляция ($r_s = 0,40$, $p = 0,003$): большей выраженности боли и ее влиянию на повседневную активность больных и функции лица соответствовал более высокий уровень депрессивности. У больных с клинической и субклинической депрессией эти показатели были значительно больше (среднее 122 балла), чем у пациентов без признаков депрессии (среднее 95 баллов). Статистически значимой зависимости УТ от суммарного балла BPI-Facial не было выявлено ($r_s = 0,20$, $p = 0,19$).

Наличие предыдущих инвазивных вмешательств не оказало значимого влияния на уровни тревожности и депрессивности. Однако у пациентов без предыдущих вмешательств в анамнезе отмечено наличие слабой тенденции: у них были несколько более высокие показатели УД 6,7/7 (5; 9) и УТ 6,3/7 (4; 9) по сравнению с показателями лиц с предыдущими вмешательствами – 5,9/6 (4; 8) и 5,9/5 (3; 8) соответственно. Это можно объяснить отсутствием неопределенности при ожидании операции, более знакомыми условиями и опытом предыдущих вмешательств.

При первичном клинико-психологическом обследовании почти половина пациентов (25 человек, 45 %) высказывали наличие суицидальных мыслей (табл. 2). Больные описывали свое состояние как безвыходное и невыносимое, сообщали,

что они «теряли смысл жизни», так как испытывали значительные ограничения в социальной и бытовой жизни. Из них у двоих (3,6 %) в прошлом были суицидальные попытки.

Сопоставление данных групп было проведено в два этапа. На первом с помощью алгоритма отбора значимых предикторов Boruta были отобраны значимые показатели и те, значимость которых необходимо подтвердить с помощью дальнейших исследований: возраст, анамнез, значения опросников BPI-Facial, VAS, BNIPS после операции, наличие психотравмирующей ситуации в прошлом. Получены следующие уровни статистической значимости для различия показателей в исследуемых группах: возраст ($p_{\text{сборр}} = 0,053$), длительность страдания ($p_{\text{сборр}} = 0,081$), BPI-Facial ($p_{\text{сборр}} = 0,081$), VAS ($p_{\text{сборр}} = 0,081$), BNIPS ($p_{\text{сборр}} = 0,081$), наличие психотравмы ($p_{\text{сборр}} = 0,005$). На основании проведенных расчетов можно заключить, что наиболее значимым фактором для развития суицидальных идеаций явилась психологическая травма. Результаты также показали, что суицидальные мысли были более свойственны пожилым пациентам и пациентам с более длительным анамнезом. Однако при изучении интенсивности болевого синдрома до вмешательства выявлено, что у больных с суицидальными мыслями и без них показатели шкал боли были сопоставимы – соответственно 102 и 109 баллов по BPI-Facial. При этом у пациентов с суицидальными мысля-

ми УД и УТ до вмешательства были несколько выше (см. табл. 2), но различия не были статистически значимы. Среди пациентов с суицидальными идеациями и неполным купированием боли после вмешательства у 6 из 8 больных до операции была диагностирована АГН. Можно сделать заключение, что у пациентов с АГН риск возникновения суицидальных идеаций выше, чем при ТГН ($p = 0,045$); возможно, это обусловлено постоянным болевым синдромом, однако интенсивность боли при этом не всегда имеет решающее значение. Большинство больных после успешной операции наотрез отказывались от суицидальных намерений и мыслей, удивляясь при этом «как такое могло прийти им в голову» до операции.

Катастрофизация боли наблюдалась у большей части больных с НТН – в 77 % случаев (43 человека). По показателям шкал катастрофизации можно судить об адекватном или неадекватном оценивании пациентом неблагоприятных событий в жизни и более объективно определить отношение пациента к своему заболеванию. Уровень катастрофизации также определяет степень адаптации пациента к боли. Склонность к катастрофизации боли не была связана с возрастом, полом пациентов и длительностью заболевания, а также в равной степени наблюдалась при ТГН и АГН. Интересно, что у больных с явлениями катастрофизации были невысокие показатели шкал тревожности и депрессивности до операции. УТ у лиц с катастрофизацией и без ее признаков составил соответственно 5,5/5 (3; 7,5) и 8/8 (7; 8) ($p_{\text{скорр}} = 0,031$), а УД – 5,8/6 (4; 8) и 8,1/8 (7; 9) ($p_{\text{скорр}} = 0,031$). Значимой связи между катастрофизацией боли и интенсивностью болевого синдрома не выявлено.

В ходе клинико-психологического обследования и наблюдения медицинского персонала за пациентом в палате, а также при организации внезапных осмотров в 16 (28,6 %) случаях до операции отмечены элементы умышленной аггравации заболевания. Надо отметить, что пациенты не получали при этом первичной выгоды, так как это не приводило к регрессу болевого синдрома. Клинико-психологическое обследование после операции выявило, что у 40 % больных отмечались признаки вторичной выгоды от заболевания. При этом пациенты сознательно искажали некоторые клинические данные и преувеличивали свои жалобы.

Аггравация, катастрофизация и вторичная выгода от заболевания часто сочетаются и отмечаются у одних и тех же пациентов, так как эти особенности наблюдаются при тревожно-мнительном типе характера. У этих больных отмеча-

ется чрезмерное внимание к отдельным функциям собственного тела и всего организма в целом. Необходимо помнить, что аггравация, катастрофизация и вторичная выгода от заболевания могут влиять на оценку интенсивности болевого синдрома. Выявление аггравации и вторичной выгоды от заболевания позволяет врачу в некоторой степени объективизировать показатели опросников и шкал боли. Одним из важных психологических факторов, который влияет на оценку интенсивности боли, является катастрофизация и в некоторых случаях болевой синдром до и после операции, и его интерпретация пациентом могут быть несоизмеримы.

Несмотря на характерные психологические особенности, общие для этой группы пациентов, большая часть больных с НТН не достигает клинически выраженной тревожности и депрессивности. Поэтому всестороннюю оценку психического статуса у больных с НТН, на наш взгляд, необходимо проводить в тех случаях, которые по оценке лечащего врача требуют уточнения психоэмоциональных нарушений.

По мнению авторов статьи, яркие психические расстройства у пациентов в виде клинически выраженной тревожности, тяжелой депрессии и суицидальной настроенности, которые развились вследствие длительного изнуряющего болевого синдрома в лице, могут иметь значение для определения показаний к хирургическому лечению в ближайшее время. Тем самым можно избежать нарастания психопатологической симптоматики при довольно длительном и не всегда эффективном консервативном лечении. Кроме того, мы считаем, что умышленная аггравация и вторичная выгода от заболевания у пациентов с НТН не может служить причиной отказа от оперативного лечения. Скорее степень выраженности болевого синдрома и интенсивность переживания боли имеет большое значение для решения вопроса о безотлагательном направлении пациентов на хирургическое вмешательство.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Большая часть больных с тригеминальной невралгией все же не достигает уровня клинически выраженной тревожности и депрессивности, поэтому всестороннюю оценку психических нарушений требуют только пациенты с выраженной психопатологической симптоматикой для исключения заболеваний психической сферы. Однако у больных с атипичной тригеминальной невралгией риск возникновения суицидальных идеаций выше, чем при типичной, что требует изначально более тщательного курирования пациента. Дан-

ные общей оценки психического статуса могут быть использованы для объективизации показателей опросников и шкал боли, а также для определения тактики ведения пациентов этой группы, в особенности для уточнения показаний к оперативному вмешательству и решения вопроса о сроках его проведения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Болевые синдромы в неврологической практике / Ред. В.Л. Голубев. М.: МЕДпресс-информ, 2010. 336 с.
2. Гафуров Б.Г., Уринов М.Б. Некоторые клинические и психовегетативные особенности мужчин и женщин, страдающих идиопатической невралгией тройничного нерва // Вестн. КазНМУ. 2015. (2). 356–359.
3. Карнов С.М., Саркисов А.Я., Ивенский В.Н. и др. Вегетативная дисфункция и психосоматическое состояние у пациентов с невралгией тройничного нерва // Фундамент. исслед. 2013. (3-2). 298–302.
4. Рзаев Д.А., Мойсак Г.И., Амелина Е.В. и др. Валидизация русскоязычной версии опросника Brief Pain Inventory – Facial (BPI-Facial) у больных с лицевыми болями // Неврол. журн. 2016. 21. (2). 97–104.
5. Узнадзе Д.Н. Психологические исследования. М.: Наука, 1966. 450 с.
6. Alexander F. Psychosomatische medizin. Berlin, 1951. 244 p.
7. Gamaro G.D., Xavier M.H., Denardin J.D. et al. The effects of acute and repeated restraint stress on the nociceptive response in rats // *Physiol. Behav.* 1998. 15; 63(4). 693-7.
8. Kursa M.B., Rudnicki W.R. Feature selection with the Boruta package // *J. Stat. Softw.* 2010. 36. (11). 1–17.
9. Lariviere W.R., Melzack R. The role of corticotropin-releasing factor in pain and analgesia // *Pain.* 2000. 84. (1). 1–12.
10. Lee J.Y., Chen H.I., Urban C. et al. Development of and psychometric testing for the Brief Pain Inventory-Facial in patients with facial pain syndromes // *J. Neurosurg.* 2010. 113. (3). 516–523.
11. Team R., Core. R. A language and environment for statistical computing. URL <https://www.R-project.org/>. [В Интернете] R Foundation for Statistical Computing, Vienna, 2016.
12. Wu T.-H., Hu L.U., Li T. et al. Risk of psychiatric disorders following trigeminal neuralgia: a nationwide population-based retrospective cohort study // *J. Headache Pain.* 2015. 16. 64.
13. Yarushkina N.I., Bagaeva T.R., Filaretova L.P. Central corticotropin-releasing factor (CRF) may attenuate somatic pain sensitivity through involvement of glucocorticoids // *J. Physiol. Pharmacol.* 2011. 62. (5). 541–548.

PSYCHOMETRIC PARAMETERS IN PATIENTS WITH TRIGEMINAL NEURALGIA (report 1)

Jamil Afetovich RZAEV¹, Galina Ivanovna MOYSAK^{1,2}, Nadejda Anatol'evna ZUBOK¹, Evgeniya Valerevna AMELINA³, Elena Viktorovna KULIKOVA¹, Lyubomir Ivanovich AFTANAS⁴, Vladimir Viktorovich KRYLOV⁵

¹ *Federal Neurosurgical Center, Novosibirsk 630087, Novosibirsk, Nemirovicha-Danchenko str., 132/1*

² *Novosibirsk State University, Institute Of Medicine And Psychology 630090, Novosibirsk, Pirogov str., 2*

³ *Institute of Computational Technologies SB RAS, 630090, Novosibirsk, Academician M.A. Lavrentiev av., 6*

⁴ *State Scientific-Research Institute of Physiology and Basic Medicine 630117, Novosibirsk, Timakov str., 4*

⁵ *MSMSU named after Evdokimov A.I., 127473, Moscow, Delegatskaya str., 20, bld. 1*

Objective – analysis of psychometric parameters in patients with trigeminal neuralgia for determining treatment tactics depending on the characteristics of their psychological status. **Materials and Methods.** Psychological characteristics of personality were studied in 56 patients (32 women) aged from 28 to 80 years with a typical (41 persons) and atypical (15) trigeminal neuralgia. Assessment of pain intensity was performed using pain scales. To investigate the psychological status HADS, «pain catastrophizing scale» was used and the presence of suicidal ideation, aggravation and secondary gain from getting the disease were specified. **Results.** 66 % of patients with trigeminal neuralgia did not have any symptoms of anxiety, 27 % – subclinical anxiety and 7 % – symptomatic anxiety. 63 % of patients did not show any signs of depression, 30 % cases showed subclinical depression and 7 % – the symptomatic one. Catastrophizing pain was observed in 76.8 % of patients, 44.6 % of patients expressed suicidal thoughts. 28.6 % of cases before the operation marked elements of deliberate aggravation of the disease. 40 % of the patients showed signs of secondary gain from illness. **Conclusion.** The majority of patients with trigeminal neuralgia do not reach the level of clinically significant anxiety and depression, so a comprehensive assessment of mental disorders is required only for patients with severe psychopathology to exclude psychiatric diseases. However, patients with atypical trigeminal neuralgia have the high risk of suicidal ideation, greater than in typical, therefore that patients require initially more careful oversee. These overall assessments of mental status can be used to objective data of questionnaires and scales of pain, as well as to determine the tactics of this group of patients, in particular to clarify the indications for operation and the decision on the surgery timing.

Key words: trigeminal neuralgia, anxiety, depression, psychometric analysis, pain syndrome, microvascular decompression.

Rzaev J.A. – neurosurgeon, e-mail: d_rzaev@neuronsk.ru

Moysak G.I. – neurologist, e-mail: g_moisak@neuronsk.ru

Zubok N.A. – clinical psychologist, e-mail: n_zubok@neuronsk.ru

Amelina E.V. – senior researcher, e-mail: amelina.evgenia@gmail.com

Kulikova E.V. – neurosurgeon, e-mail: e_kulikova@neuronsk.ru

Aftanas L.I. – academician of RAS, doctor of medical sciences, professor, director

Krylov V.V. – academician of RAS, doctor of medical sciences, professor, head of neurosurgery and neuroreanimation department

ЛИЧНОСТНЫЕ И ЭМОЦИОНАЛЬНЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПАЦИЕНТОВ С ТРИГЕМИНАЛЬНОЙ НЕВРАЛГИЕЙ: ИЗМЕНЕНИЯ В РЕЗУЛЬТАТЕ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ (сообщение 2)

Джамиль Афетович РЗАЕВ¹, Галина Ивановна МОЙСАК^{1,2}, Надежда Анатольевна ЗУБОК¹, Евгения Валерьевна АМЕЛИНА³, Елена Викторовна КУЛИКОВА¹, Любомир Иванович АФТАНАС⁴, Владимир Викторович КРЫЛОВ⁵

¹ Федеральный центр нейрохирургии
630087, г. Новосибирск, ул. Немировича-Данченко, 132/1

² Новосибирский национальный исследовательский государственный университет
630090, г. Новосибирск, ул. Пирогова, 2

³ Институт вычислительных технологий СО РАН
630090, г. Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 6

⁴ НИИ физиологии и фундаментальной медицины
630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 4

⁵ Московский государственный медико-стоматологический университет
им. А.И. Евдокимова Минздрава России
127473, г. Москва, ул. Делегатская, 20, стр. 1

Цель работы – исследовать изменения психометрических профилей больных с тригеминальной невралгией в ближайшем послеоперационном периоде в результате выполнения микроваскулярной декомпрессии корешка тройничного нерва. **Материал и методы.** В исследование включены 56 пациентов (32 женщины) в возрасте 26–80 лет, которым было выполнено оперативное вмешательство по поводу тригеминальной невралгии. Для оценки состояния применяли шкалы боли, HADS, шкалу «субъективная оценка эффективности лечения пациентом» и «шкалу катастрофизации боли», а также уточняли наличие аггравации и извлечения вторичной выгоды от заболевания. **Результаты.** По шкале «субъективная оценка эффективности лечения» ни один из пациентов не оценил вмешательство на «отлично» несмотря на полное отсутствие боли у большей части больных (78,6 %). Оценку «хорошо» поставили 16,1 % больных, «удовлетворительно» – 69,6 %, «без перемен» – 8,9 %, «стало хуже» – 5,6 %. Выявлено значимое влияние фактора аггравации, или преувеличения симптомов заболевания, на субъективную оценку эффективности вмешательства ($p = 0.01$). При обследовании в раннем послеоперационном периоде тревожность повысилась у 48,2 % пациентов и в меньшей степени депрессивность – у 26,8 %. По результатам клинико-психологического обследования после операции у 40 % больных выявлены признаки получения вторичной выгоды от заболевания. **Заключение.** Психологические особенности пациентов с невралгией тройничного нерва влияют на оценку динамики болевого синдрома в результате оперативного лечения, при этом больные больше ориентируются на свое общее состояние после вмешательства вне зависимости от первоначального состояния. После вмешательства вследствие изменения социального статуса пациентов им требуется время и психологическая помощь для социальной адаптации независимо от результатов операции.

Ключевые слова: тригеминальная невралгия, микроваскулярная декомпрессия, психоэмоциональные нарушения, болевой синдром, послеоперационный период, шкалы боли.

Рзаев Д.А. – к.м.н., врач-нейрохирург, главный врач, e-mail: d_rzaev@neuronsk.ru

Мойсак Г.И. – к.м.н., врач-невролог, ассистент кафедры фундаментальной медицины, e-mail: g_toysak@neuronsk.ru

Зубок Н.А. – клинический психолог, e-mail: n_zubok@neuronsk.ru

Амелина Е.В. – к.ф.-м.н., старший научный сотрудник, e-mail: amelina.evgenia@gmail.com

Куликова Е.В. – врач-нейрохирург, e-mail: e_kulikova@neuronsk.ru

Афтанас Л.И. – академик РАН, проф., д.м.н., врач-психиатр, директор

Крылов В.В. – академик РАН, проф., д.м.н., врач-нейрохирург, зав. кафедрой нейрохирургии и нейрореанимации

Результаты исследований говорят о том, что у 80–95 % больных с типичной невралгией тройничного нерва (НТН) по данным нейровизуализации и на операции выявляется компрессия прилежащим сосудом выходного отдела корешка тройничного нерва, наиболее часто – верхней мозжечковой артерией [2, 3, 5, 8]. Оперативное лечение, направленное на устранение компрессии, представляется этиопатогенетическим подходом к лечению НТН и приносит облегчение болевого синдрома в 87 % случаев сразу после вмешательства, а в 64–70 % случаев больные отмечают отсутствие боли через 10 лет после микроваскулярной декомпрессии (МВД) [2, 3, 5]. Для уточнения качественных и количественных характеристик болевого синдрома, а также оценки его динамики в мировой клинической практике в качестве стандартного диагностического инструментария применяют опросники и шкалы боли. Однако психоэмоциональное состояние больного, восприятие боли, интенсивность ее переживания, некоторые психологические особенности пациентов, а также факт госпитализации в стационар могут влиять на определение пациентом интенсивности болевого синдрома как до, так и после оперативного лечения. Поиск ответов на эти вопросы, довольно скудно освещенные в литературе, а также выяснение возможности объективизации результатов микрохирургического лечения НТН путем декомпрессии корешка тройничного нерва и являлись целью настоящего исследования.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследование включены 56 пациентов (возраст от 26 до 80 лет, средний возраст 57,9 лет, 32 женщины и 24 мужчины), которым в Федеральном центре нейрохирургии г. Новосибирска с февраля 2015 по апрель 2016 г. было выполнено оперативное вмешательство по поводу НТН. Длительность заболевания составила от 7 месяцев до 55 лет (в среднем – 10,4 года). Хирургические вмешательства (деструктивные методы, микроваскулярная декомпрессия корешка тройничного нерва, лечение Гамма-ножом) по поводу лицевой боли перенесли в прошлом 27 (48,2 %) больных.

Для оценки интенсивности лицевой боли при поступлении в стационар и после вмешательства использовали Visual Analogue Scale (VAS), шкалу боли Неврологического института Ваггов (BNIPS), адаптированную русскоязычную версию опросника VPI-Facial [1, 6]. Для исследования психологического статуса до и после операции (в среднем на 3–4-й день) применяли клинико-психологический инструментарий. Уровень тревожности и депрессивности оценивали с помощью

госпитальной шкалы тревоги и депрессивности (HADS). Также применяли «шкалу катастрофизации боли» (ШКБ – Pain Catastrophizing Scale), выявляли наличие признаков аггравации до и после операции, извлечения вторичной выгоды.

Всем больным была выполнена МВД корешка тройничного нерва по стандартной методике в положении больного на боку с использованием общей анестезии. В качестве доступа к корешку применялась ретросигмоидная краниотомия.

В раннем послеоперационном периоде помимо клинико-психологического обследования и оценки болевого синдрома по шкалам боли и опросникам уточняли, как пациенты оценивают эффективность лечения. Для этого использовали анкету «Субъективная оценка эффективности лечения пациентом», которая позволяет больному самостоятельно оценить результат лечения по 5-балльной шкале: отлично, хорошо, удовлетворительно, без перемен, стало хуже. В ходе разговора с пациентом акцентировали необходимость оценки динамики болевого синдрома в области лица, а не общего самочувствия после вмешательства. Эти показатели сопоставляли с данными клинико-психологических шкал, шкал боли и с объективными данными клинического осмотра.

При описании данных использовался следующий формат: среднее/медиана (нижний; верхний квартили). Сравнение двух групп проводилось посредством критерия Манна–Уитни, для бинарных данных применялся точный критерий Фишера. При проведении множественных сравнений использовалась поправка Холма ($p_{\text{сюрр}}$). Для минимизации количества сравниваемых показателей в группах предварительно выделяли значимые факторы и факторы с сомнительной значимостью с помощью алгоритма Boruta, базирующегося на алгоритме построения деревьев классификации RandomForrest [4, 7].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Интенсивность болевого синдрома до вмешательства по VAS колебалась от 3 до 10 баллов и составляла 7,8/8 (7; 9) баллов. По шкале BNIPS показатели составили 4,3/4 (4; 5) балла (3–5 баллов), по VPI-Facial – 106/107 (84; 133) (от 21 до 170 баллов).

Результаты клинико-психологического исследования с использованием шкалы HADS показали, что уровень тревожности (УТ) у пациентов до операции имел большие колебания – от 0 до 18 баллов и составил 6,1/6 (4; 8) баллов. При этом у 15 (27 %) больных она была субклинически выражена (8–10 баллов) и лишь у 4 (7 %) – клинически выражена (11 и более). Уровень депрес-

сивности (УД) до оперативного вмешательства также значительно варьировал от 0 до 13 баллов и составил 6,3/6 (4; 8) баллов. При этом субклиническая депрессия отмечена в 17 (30 %) случаях (8–10 баллов), в 4 (7 %) – клинически выраженная (11 и более). То есть у большей части больных (35 случаев, 63 %) не отмечено признаков депрессивности с результатами по шкале HADS менее 7 баллов.

Катастрофизация боли по ШКБ наблюдалась у большей части больных (43 случая, 76,8 %). Элементы умышленной аггравации заболевания выявлены у 16 (28,6 %) человек в ходе наблюдения медицинского персонала за пациентом и при клиничко-психологическом обследовании до операции. У 11 из них признаки преувеличения симптомов сохранялись также после вмешательства, у двоих появились после МВД корешка тройничного нерва, но не отмечались до операции.

Субъективная оценка эффективности лечения, которая позволяет пациенту самостоятельно оценить эффективность проведенной операции по 5-балльной шкале (отлично, хорошо, удовлетворительно, без перемен, стало хуже), несмотря на полное отсутствие боли у большей части больных (44 случая, 78,6 %), показала, что ни один из пациентов не оценил вмешательство на «отлично». Оценку «хорошо» поставили 9 (16,1 %) больных, «удовлетворительно» – 39 (69,6 %), «без перемен» – 5 (8,9 %), «стало хуже» – 3 (5,6 %).

Для анализа влияния изучаемых факторов на субъективное определение эффективности операции пациенты были разделены на две группы с положительными («хорошо» и «удовлетворительно») и отрицательными («без изменений» и «стало хуже») оценками. После использования методики ранжирования предикторов для дальнейшего исследования были выбраны все значения анкет после операции, аггравация до и после операции. Дополнительно (в исследовательских целях) была добавлена итоговая суммарная оценка эффективности по опросникам, которая рассчитывалась как отношение разности показателей до и после операции к исходному значению и выражена в процентах. Таким образом, 100 % соответствовали полному купированию боли, 0 % – отсутствию эффекта, отрицательное значение – усилению боли. Результат усреднялся для опросников VAS, BNIPS, BPI-Facial. Данный показатель был введен для того, чтобы минимизировать уровень субъективности при оценке динамики болевого синдрома по отдельным шкалам.

Получены следующие значения показателей опросников в исследуемых группах: VAS 0,4/0 (0; 0) и 2,1/1,5 (0; 2,8), $p_{\text{сборр}} = 0,004$; BNIPS 1,2/1

(1; 1) и 2,4/2,5 (1; 3,2), $p_{\text{сборр}} = 0,004$; BPI-Facial 4,2/0 (0; 0) и 30,2/15 (0; 40,8), $p_{\text{сборр}} = 0,005$. Итоговая суммарная оценка эффективности по опросникам, отражающая динамику изменения боли, составила 86,1/91,7 (88,9; 93,3) % и 65,8/73,7 (54; 92,1) % ($p_{\text{сборр}} = 0,06$). Несмотря на просьбы врачей дать оценку динамики боли в результате вмешательства, пациенты главным образом ориентировались на свое общее состояние после вмешательства вне зависимости от первоначального статуса.

Наряду с относительно «объективными» показателями, характеризующими как изменение интенсивности болевого синдрома, так и состояние после операции, на оценку пациентом эффективности вмешательства оказывает существенное влияние преувеличение симптомов заболевания. Так, в группе с положительной оценкой исхода операции аггравация до вмешательства выявлена в 21 % случаев, а при отрицательной оценке – в 75 % ($p_{\text{сборр}} = 0,01$), аггравация после операции – 15 и 75 % соответственно ($p_{\text{сборр}} = 0,005$).

Некоторые пациенты, у которых отмечена аггравация до МВД, даже при полном купировании болевого синдрома занижают эффект операции. Также есть наблюдения, когда после частичного регресса лицевой боли пациенты ставили оценку вмешательству «хорошо», что скорее говорило об адаптивных болевых установках и позитивном настрое пациентов на операцию, когда даже некоторое снижение интенсивности болевого синдрома расценивалось ими как хороший эффект МВД (рисунок). Эллипсами на рисунке отмечены области, которые, по мнению авторов, соответствуют адекватным, позитивным и негативным оценкам. Позитивной считалась оценка результатов вмешательства, при которой согласно опросникам (ось x) купировано не более 20 % боли, при этом пациенты оценили результаты как удовлетворительные (ось y). Негативной можно назвать оценку, при которой интенсивность болевого синдрома уменьшилась на 60–90 % (ось x), но результат больными оценен как «без изменений» или «стало хуже» (ось y). Остальные оценки считались адекватными. Из рисунка видно, что большинство пациентов с позитивной оценкой результатов вмешательства не имели признаков преувеличения симптомов заболевания, а у больных с негативной оценкой операции отмечалась аггравация.

По результатам клиничко-психологического обследования после операции у 40 % больных выявлены признаки вторичной выгоды от заболевания. После регресса болевого синдрома в раннем послеоперационном периоде пациенты сталкивались с тем, что на фоне быстрого и со-

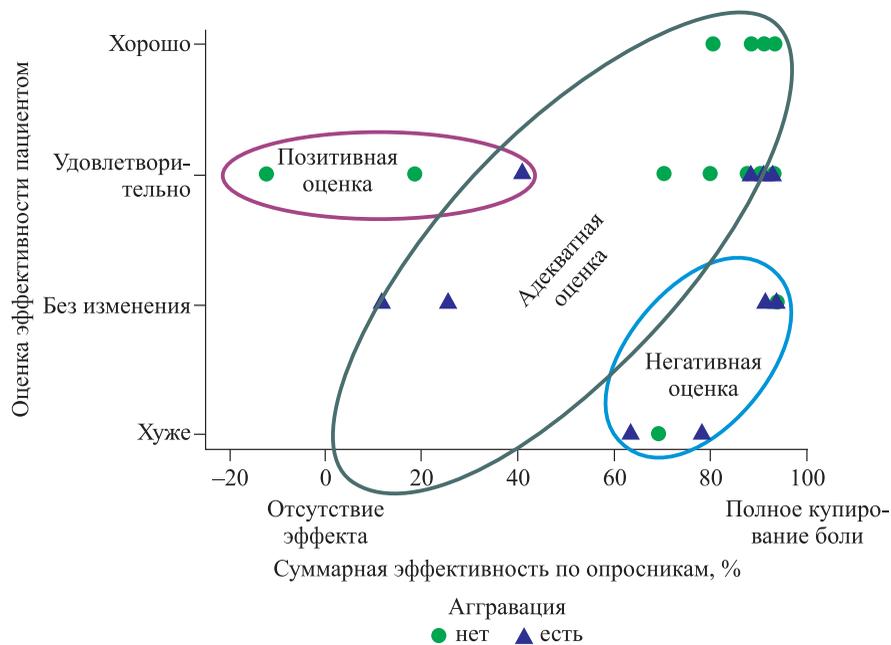


Рис. Взаимосвязь оценки эффективности операции пациентами и суммарной оценки эффективности по опросникам в группах с наличием и отсутствием аггравации (после операции)

циально значимого изменения условий жизни и активности у окружающих их близких людей повышались требования к выполняемым ими обязанностям, которые во время болезни брал на себя кто-то из родных. После избавления от лицевой боли пациенты сообщали, что им «тяжело жить без болезни». Из этого можно сделать вывод о низких адаптивных способностях некоторых больных, вследствие чего они сознательно могут занижать результаты вмешательства, искажать клинические данные и преувеличивать свои жалобы для получения вторичной выгоды от заболевания.

Проведенный в раннем послеоперационном периоде (в среднем на 3–4-й день после операции) опрос больных показал, что повышение тревожности в раннем послеоперационном периоде прежде всего было связано с переживаниями, что боль вернется: 90 % больных высказывали опасения, что операция им помогла лишь на короткий срок, прислушивались к ощущениям и ожидали болевого приступа. Однако в то же время они выражали надежду, что боль никогда не вернется. Через несколько дней после МВД при отсутствии болевого синдрома некоторые пациенты переключались на проблемы другого плана, которые при болезни были для них незначимы. На вопрос психолога «У Вас ушли боли, как вы и мечтали, что Вас теперь беспокоит?» большая часть больных отвечала, что «жизнь не так хороша и что еще много проблем». У паци-

ентов появлялись множественные дезадаптивные болевые установки – стереотипное восприятие и поведение при болевом синдроме, а также представления человека о том, «что такое боль и что она значит для него». При этом, подчиняясь «болезненному состоянию» (не только лицевой боли, но и послеоперационным изменениям общего самочувствия), пациенты старались ограничивать свою повседневную активность, преувеличивая степень недомогания и степень инвалидизации.

УТ повысился у 27 (48,2 %) пациентов (на 1–7 баллов), УД – у 15 (26,8 %) (на 1–5 баллов). В целом по всей группе больных тревожность до операции оценивалась как 6,1/6 (4; 8), после – 6,8/7 (5; 9), депрессивность – 6,3/6 (4; 8) и 6,4/6 (4; 9) соответственно. Различия уровней УТ и УД не было статистически значимо.

На психологическую адаптацию больных после вмешательства уходило в среднем от 3 до 6 месяцев. При сборе анамнеза выяснилось, что после выписки из стационара им практически не оказывалась психологическая помощь. Так, многие пациенты сообщали, что близкие не понимают их и считают, что они несоизмеримо преувеличивают свои симптомы. Сами больные и их родственники отмечали изменения в поведении пациентов. Практически в каждом случае наблюдались жалобы близких людей, что пациенты даже после успешного оперативного вмешательства и купирования боли считали себя больными, требовали к себе чрезмерного внимания и заботы,

по привычке пытались манипулировать близкими людьми, как это делали во время заболевания.

Таким образом, определение эмоциональных особенностей у больных с НТН до и после хирургического вмешательства может потребоваться для уточнения их влияния на оценку результатов операции. Выявление аггравации и вторичной выгоды от заболевания позволяет врачу при выяснении объективного итога в должной степени учитывать субъективное мнение пациента и его отношение к результату операции. Кроме этого, одним из важных психологических факторов, который влияет на оценку интенсивности боли и эффективности операции, является катастрофизация, которая была выявлена у большей части больных с НТН. В некоторых случаях болевой синдром до операции и его интерпретация пациентом могут быть несоизмеримы, и при признаках катастрофизации боли пациент может быть не вполне удовлетворен исходом операции.

Результаты проведенного исследования показали, что у части пациентов после оперативного вмешательства наблюдается нарастание тревожности и в некоторых случаях депрессивности, поэтому после хирургического лечения длительное время людям с лицевой болью требуется психологическая поддержка независимо от эффективности операции, исхода вмешательства и степени регресса болевого синдрома. При выявлении у пациента признаков субклинических и клинических депрессии и/или тревоги, склонности к катастрофизации боли и событий и/или получения вторичной выгоды от заболевания необходимо рекомендовать проведение психотерапевтических мероприятий после оперативного вмешательства.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При оценке результатов операции у больных с невралгией тройничного нерва после хирургического вмешательства необходимо учитывать, что эмоциональное состояние пациента, его отношение к боли и некоторые психологические особенности могут влиять на оценку болевого синдрома до и после оперативного лечения. Даже при пол-

ном купировании боли после микроваскулярной декомпрессии корешка тройничного нерва часть пациентов вследствие некоторых особенностей поведения (аггравация, вторичная выгода, катастрофизация) может занижать эффективность вмешательства, так как им не свойственно признавать положительные результаты операции. После оперативного лечения вследствие изменения социального статуса пациентов им требуется время и психологическая помощь для социальной адаптации независимо от результатов операции.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Рзаев Д.А., Мойсак Г.И., Амелина Е.В. и др. Валидизация русскоязычной версии опросника Brief Pain Inventory – Facial (BPI-Facial) у больных с лицевыми болями // Неврол. журн. 2016. 21. (2). 97–104.
2. Шулев Ю.А., Гордиенко К.С., Посохина О.В. Микроваскулярная декомпрессия в лечении тригеминальной невралгии // Нейрохирургия. 2004. 2. 7–14.
3. Barker F.G., Jannetta P.J., Bissonette D.J. et al. The long-term outcome of microvascular decompression for trigeminal neuralgia // New Engl. J. Med. 1996. 334. (17). 1077–1083.
4. Kursa M.B., Rudnicki W.R. Feature selection with the Boruta package // J. Stat. Softw. 2010. 36. (11). 1–17.
5. Laligam N.S., Dinko S., Foad E.B. Microvascular decompression for cranial nerve compression syndromes. Atlas of neurosurgical techniques / Eds. L.N. Sekhar, R.G. Fessler. New York; Stuttgart: Theime, 2006. 860–869.
6. Lee J.Y., Chen H.I., Urban C. et al. Development of and psychometric testing for the Brief Pain Inventory-Facial in patients with facial pain syndromes // J. Neurosurg. 2010. 113. (3). 516–523.
7. Team R., Core R. A language and environment for statistical computing. URL: <https://www.R-project.org/>. [В Интернете] R Foundation for Statistical Computing, Vienna, 2016.
8. Thomas K.L., Vilensky J.A. The anatomy of vascular compression in trigeminal neuralgia // Clin. Anat. 2014. 27. 89–93.

PSYCHOMETRIC PARAMETERS IN PATIENTS WITH TRIGEMINAL NEURALGIA: CHANGES IN RESULT OF SURGICAL TREATMENT (report 2)

Jamil Afetovich RZAEV¹, Galina Ivanovna MOYSAK^{1,2}, Nadejda Anatol'evna ZUBOK¹, Evgeniya Valer'evna AMELINA³, Elena Viktorovna KULIKOVA¹, Lyubomir Ivanovich AFTANAS⁴, Vladimir Viktorovich KRYLOV⁵

¹ *Federal Neurosurgical Center, Novosibirsk 630087, Novosibirsk, Nemirovicha-Danchenko str., 132/1*

² *Novosibirsk State University, Institute of medicine and psychology 630090, Novosibirsk, Pirogov str., 2*

³ *Institute of Computational Technologies SB RAS 630090, Novosibirsk, Academician Lavrentiev av., 6*

⁴ *State Scientific-Research Institute of Physiology and Basic Medicine 630117, Novosibirsk, Timakov str., 4*

⁵ *MSMSU named after Evdokimov A.I. 127473, Moscow, Delegatskaya str., 20, bld. 1*

Objective – to investigate the changes of psychometric indicators in patients with trigeminal neuralgia in the immediate postoperative period as a result of microvascular decompression of the trigeminal nerve root. **Materials and Methods.** 56 patients (32 women) underwent surgery for trigeminal neuralgia were included in the study. The patient's age ranged from 26 to 80 years. For the study we used pain scales, HADS, «catastrophizing pain scale», scale «Subjective evaluation of the treatment effectiveness», and clarified the presence of suicidal ideation, aggravation and extraction of secondary gain from illness. **Results.** None of the patients appreciated the interference of «excellent» via scale «subjective assessment of treatment effectiveness» despite the complete absence of pain in the majority of patients (78.6 %). The evaluation «good» was delivered by 16.1 % of patients, «satisfactory» – 69.6 %, «no change» – 8.9 %, «got worse» – 5.6 %. In the evaluation of the intervention effectiveness a significant impact has exaggeration of symptoms ($p = 0.01$). In a study in the early postoperative period anxiety increased in 48.2 % of patients and depression – in 26.8 %. According to the results of clinical and psychological examination 40 % patients showed secondary gain from illness after surgery. **Conclusion.** Psychological characteristics of patients with trigeminal neuralgia affect the assessment of the dynamics of pain resulting from surgery, while patients are more focused on their overall condition after the intervention, regardless of the original state. After the intervention due to changes in the social status of patients they need time and psychological assistance for social adaptation, regardless of the results of operations.

Key words: trigeminal neuralgia, microvascular decompression, psycho-emotional disorders, pain, postoperative period, pain scale.

Rzaev J.A. – neurosurgeon, e-mail: d_rzaev@neuronsk.ru

Moysak G.I. – neurologist, e-mail: g_moisak@neuronsk.ru

Zubok N.A. – clinical psychologist, e-mail: n_zubok@neuronsk.ru

Amelina E.V. – senior researcher, e-mail: amelina.evgenia@gmail.com

Kulikova E.V. – neurosurgeon, «Federal Neurosurgical Center», e-mail: e_kulikova@neuronsk.ru

Aftanas L.I. – academician of RAS, doctor of medical sciences, professor, psychiatrist, director

Krylov V.V. – academician of RAS, doctor of medical sciences, professor, neurosurgeon, head of neurosurgery and neuroreanimation department

**ОСОБЕННОСТИ ПОЛОВОГО РАЗВИТИЯ ДЕВОЧЕК-ПОДРОСТКОВ
В УСЛОВИЯХ РАЗНОЙ АНТРОПОГЕННОЙ НАГРУЗКИ**

**Алина Васильевна БЕЛЯЕВА, Людмила Петровна СЛИВИНА,
Наталья Ивановна ЛАТЫШЕВСКАЯ, Людмила Александровна ДАВЫДЕНКО,
Елена Львовна ШЕСТОПАЛОВА**

*Волгоградский государственный медицинский университет Минздрава России
400131, г. Волгоград, пл. Павших Борцов, 1*

Изучены особенности полового развития девочек-подростков, проживающих на территориях города с различной антропогенной нагрузкой. Оценена степень развития вторичных половых признаков, проанализированы основные размеры костного таза и состояние менструальной функции. Выявлено, что нарушения формирования репродуктивной системы более характерны для девочек-подростков, проживающих на промышленной территории города – запаздывание развития вторичных половых признаков в возрастной группе 14–15 лет, тенденция формирования поперечно-суженного таза, частые нарушения менструального цикла.

Ключевые слова: девочки-подростки, половое развитие, антропогенная нагрузка.

Здоровье современных подростков определяет репродуктивный, социальный и экономический потенциал общества [4]. На урбанизированных территориях на организм девочек-подростков действует комплекс различных факторов (экологических, медико-биологических, поведенческих), что приводит к формированию функциональных расстройств, нарушению физического развития и становления репродуктивной системы, формированию хронической патологии [6, 8]. Оценка темпов и сроков полового созревания девочек-подростков, которые являются интегральными показателями становления репродуктивной системы в подростковом возрасте, позволяет прогнозировать состояние репродуктивного потенциала при вступлении девушек в фертильный возраст.

Целью выполненного исследования было выявление особенностей полового развития девочек-подростков, проживающих на территориях города с различной антропогенной нагрузкой.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Обследовано 867 девочек-подростков 12–17 лет, с рождения проживающих на различающихся по экологическим характеристикам территориях

города Волгограда. Исследование одобрено этическим комитетом Волгоградского государственного медицинского университета. Производилась оценка репрезентативности выборки. Промышленная территория, на которой концентрированы расположены промышленные предприятия, характеризуется неблагоприятными экологическими условиями, центральная – территория относительного экологического благополучия. За последние 10 лет величина комплексного индекса загрязнения атмосферного воздуха на промышленной территории колебалась от 5,3 до 8,1 (повышенный и высокий уровень загрязнения атмосферного воздуха), что в 2,1–3,6 раза выше, чем на центральной территории. Основными поллютантами являются пыль, диоксид серы, оксид углерода, диоксид азота, сероводород, фенол, фтористый водород, хлористый водород, аммиак. Выполнена оценка уровня полового созревания девочек-подростков на основе изучения степени развития вторичных половых признаков с определением формулы полового развития и расчетом среднего суммарного балла полового развития [5]. Проведен анализ основных размеров костного таза девочек-подростков, дана оценка состояния менструальной функции с использованием теста, предложенного Н.Н. Куинджи [3].

Беляева А.В. – ассистент кафедры общей гигиены и экологии, e-mail: lulapula@list.ru

Сливина Л.П. – д.м.н., проф., зав. кафедрой гигиены ФУВ и профильных гигиенических дисциплин, e-mail: hygiena12@yandex.ru

Латышевская Н.И. – д.м.н., проф., зав. кафедрой общей гигиены и экологии, e-mail: hygiena12@yandex.ru

Давыденко Л.А. – д.м.н., проф. кафедры общей гигиены и экологии, e-mail: hygiena12@yandex.ru

Шестопалова Е.Л. – к.м.н., ассистент кафедры общей гигиены и экологии, e-mail: hygiena12@yandex.ru

Статистическую обработку результатов исследования проводили, вычисляя среднее арифметическое значение (M), ошибку среднего арифметического значения (m), и представляли в виде $M \pm m$. Различия между группами оценивали с помощью критерия Стьюдента и рассматривали как статистически значимые при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ степени развития вторичных половых признаков (ВПП) у девочек-подростков показал, что независимо от территории проживания у большинства 12-летних девочек регистрировалась 1-я степень оволосения подмышечных впадин (54,1 % на центральной и 63,8 % – на промышленной, $p > 0,05$); 2-я степень оволосения лобка (58,2 и 53,2 % соответственно, $p > 0,05$), 2-я степень развития молочных желез (62,2 и 63,8 % соответственно, $p > 0,05$). В группе 14-летних девочек в большинстве случаев регистрировалась 2-я степень оволосения подмышечных впадин (63,5 % на центральной территории и 66,3 % на промышленной, $p > 0,05$), 3-я степень развития молочных желез (77,6 и 67,4 % соответственно, $p > 0,05$). На промышленной территории достоверно чаще, чем на центральной, регистрировалась 2-я степень оволосения лобка (соответственно 57,0 и 35,3 %, $p < 0,01$), и реже – 3-я (соответственно 39,5 и 64,7 %, $p < 0,01$). На экологически благополучной территории было выявлено в 2 раза больше девочек-подростков с 4-й степенью развития молочных желез. Не обнаружено различий в степени развития ВПП у девушек 16 и 17 лет, проживающих на разных территориях: у большинства регистрировалось оволосение подмышечных впадин, лобка 3-й степени (79,3–93,8 %), и развитие молочных желез 3-й (61,9–71,6 %) и 4-й (27,2–35,7 %) степеней.

Обращает на себя внимание разная вариабельность степени развития ВПП на разных территориях. Так, в группе 12-летних девочек-подростков на промышленной территории зарегистрировано развитие оволосения подмышечных впадин в степени Ax_0 , Ax_1 , Ax_2 , на центральной – Ax_0 , Ax_1 , Ax_2 , Ax_3 , причем на промышленной территории распространенность низкого уровня развития превалировала. В группе 14-летних девочек на промышленной территории регистрировались случаи оволосения лобка, подмышечных впадин и развития молочных желез 1-й степени. На центральной территории такие варианты развития отсутствовали, преобладала распространенность высоких уровней. Известно, что степень развития ВПП у девочек отражает функциональную активность яичников, развитие молочных желез – выра-

ботку эстрогенов, оволосение лобка и подмышечных впадин – выработку яичниками (в меньшей степени надпочечниками) стероидных гормонов [7]. Выявленные различия, выражающиеся в вариабельности и превалировании низких уровней развития, не являются достоверными, но, на наш взгляд, могут свидетельствовать о более низкой гормональной активности у девочек-подростков, проживающих на экологически неблагополучной территории.

Результаты исследований позволили оценить уровень полового развития по среднему суммарному баллу показателей, входящих в формулу полового развития (ФПР) (табл. 1). Полученные данные свидетельствуют о более низком уровне развития молочных желез, оволосения лобка и подмышечных впадин у 14-летних девочек, проживающих на промышленной территории. Однако суммарный балл показателей полового созревания девочек не зависит от места их проживания и не отличается от значений нормы [5]. Исключение составили девочки 15 лет, у которых значение среднего суммарного балла ФПР (9,98 и 10,38) оказалось несколько ниже нормативного (11,6), что, на наш взгляд, свидетельствует о некотором замедлении полового созревания 15-летних девочек в сравнении с их сверстницами прошлых лет.

Возрастная динамика ФПР подтверждает запаздывание развития вторичных половых признаков у девочек 14–15 лет, проживающих на территориях экологического неблагополучия, к 16–17 годам эти различия нивелируются (табл. 2). В целом на двух территориях преобладающие показатели степени развития вторичных половых признаков не выходят за диапазон возрастных нормативов, но на территории центра они ближе к верхней границе нормы, на промышленной – к нижней.

Выполнен сравнительный анализ средних величин основных размеров костного таза девочек-подростков. В районе относительного экологического благополучия основные размеры, определяющие ширину таза, как правило, не отличаются от нормативов для девочек РФ, разработанных В.Ф. Коколиной [2]. На территории экологического неблагополучия отдельные размеры таза у девочек 14–17 лет меньше, чем в районе сравнения (соответственно в 14 лет *distancia spinarum* $21,09 \pm 0,24$ и $22,41 \pm 0,23$ см, $p < 0,001$; *d. trochanterica* $27,49 \pm 0,25$ и $28,44 \pm 0,24$ см, $p < 0,01$; в 15 лет – *d. spinarum* $21,88 \pm 0,23$ и $23,07 \pm 0,24$ см, $p < 0,001$; в 16 лет – *conjugata externa* $18,28 \pm 0,18$ и $19,17 \pm 0,17$ см, $p < 0,001$; в 17 лет – *d. spinarum* $23,51 \pm 0,25$ и $24,25 \pm 0,25$ см, $p < 0,05$), что, по нашему мнению, может свидетельствовать о тенденции формирования попе-

Таблица 1

Развитие вторичных половых признаков у девочек, проживающих на территориях с разной антропогенной нагрузкой (в баллах)

Показатель	Территория	Возраст, лет				
		12	14	15	16	17
Молочные железы $Ma \times 1,2$	Центральная	2,39±0,07	3,39±0,06	3,53±0,07	3,92±0,07	4,00±0,07
	Промышленная	2,22±0,07	3,17±0,08*	3,48±0,07	3,91±0,06	3,90±0,06
Оволосение лобка $P \times 0,3$	Центральная	0,50±0,02	0,79±0,02	0,83±0,01	0,87±0,01	0,89±0,01
	Промышленная	0,47±0,02	0,71±0,02*	0,83±0,01	0,88±0,01	0,87±0,01
Оволосение подмышечных впадин $Ax \times 0,4$	Центральная	0,58±0,02	0,94±0,02	0,97±0,02	1,12±0,02	1,13±0,02
	Промышленная	0,53±0,02	0,81±0,03*	0,94±0,02	1,13±0,02	1,14±0,02
Выраженность менструальной функции $Me \times 2,1$	Центральная	2,15±0,18	4,18±0,15	5,05±0,14	5,97±0,11	6,05±0,08
	Промышленная	1,93±0,16	4,03±0,20	4,73±0,11*	5,60±0,11*	5,94±0,07
Формула полового развития	Центральная	5,62±0,25	9,30±0,19	10,38±0,19	11,88±0,12	12,07±0,11
	Промышленная	5,15±0,24	8,72±0,27	9,98±0,17	11,52±0,21	11,85±0,17
Темпы прироста суммарного показателя развития вторичных половых признаков, %	Центральная		+65,48	+11,61	+14,45	+1,60
	Промышленная		+69,32	+14,45	+15,43	+2,86

* Отличие от величины соответствующего показателя девочек, проживающих на центральной территории, статистически значимо при $p < 0,05$.

Таблица 2

Возрастные показатели развития вторичных половых признаков (ФПР) у девочек в зависимости от территории проживания

Возраст, лет	ФПР		
	Центральная	Промышленная	Норма
12	$Ma_2Ax_{1-2}P_{1-2}Me_{+-}$	$Ma_{1-2}Ax_{1-2}P_{1-2}Me_{+-}$	$Ma_{1-2}Ax_{1-2}P_{1-2}Me_{+-}$
14	$Ma_3Ax_{2-3}P_{2-3}Me_{+}$	$Ma_{2-3}Ax_{2-3}P_{2-3}Me_{+}$	$Ma_3Ax_3P_3Me_{+}$
15	$Ma_3Ax_{2-3}P_3Me_{+}$	$Ma_3Ax_{2-3}P_3Me_{+}$	$Ma_3Ax_3P_3Me_{+}$
16	$Ma_{3-4}Ax_3P_3Me_{+}$	$Ma_{3-4}Ax_3P_3Me_{+}$	$Ma_3Ax_3P_3Me_{+}$
17	$Ma_{3-4}Ax_3P_3Me_{+}$	$Ma_{3-4}Ax_3P_3Me_{+}$	$Ma_3Ax_3P_3Me_{+}$

речно-суженного таза, для которого характерно уменьшение по сравнению с возрастной нормой поперечных его размеров при сохранении нормальных возрастных параметров conjugate externa.

Становление менструальной функции является наиболее важным показателем развития репродуктивной системы в подростковом возрасте [1, 7]. Исследования показали, что средний возраст менархе девочек-подростков не имеет достоверных отличий (12,8 лет на центральной и 12,9 – на промышленной территории). Нормальное становление менструации выявлено у большинства девочек-подростков, проживающих на центральной (62,0 %) и промышленной (53,0 %) территориях ($p < 0,05$). Менструальный цикл нормальной продолжительности (21–35 дней) имел место у 87,1 и 94,6 % девушек соответственно; различий в зависимости от территории проживания не установлено. На промышленной

территории чаще, чем на центральной, у девушек регистрировалась пройоменорея (соответственно в 4,4 и в 1,6 % случаев; $p < 0,05$) и опсоменорея (соответственно 8,5 и 3,8 %, $p < 0,05$). У большинства девушек независимо от района проживания менструации протекали с умеренным количеством теряемой крови (82,1–82,5 %). Большинство девочек-подростков (86,9 % на центральной и 80,1 % на промышленной, $p < 0,05$) отмечали безболезненное или умеренно болезненное протекание менструации. На промышленной территории большее, чем на центральной, число девочек-подростков (соответственно 19,9 и 13,1 %, $p < 0,05$) жаловались на выраженные болезненные ощущения во время менструации. Нерегулярный менструальный цикл чаще регистрировался у девочек-подростков, проживающих на экологически неблагоприятной территории (соответственно 24,6 и 13,1 % случаев, $p < 0,001$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Нарушения формирования репродуктивной системы более характерны для девочек-подростков, проживающих в промышленных районах города. Здесь имеет место запаздывание развития вторичных половых признаков у девочек-подростков 14–15 лет (оволосение лобка, подмышечных впадин и развитие молочных желез более низкой степени), тенденция формирования поперечно-суженного таза (уменьшение по сравнению с возрастной нормой поперечных его размеров при сохранении нормальных возрастных параметров conjugate externa). Для девочек-подростков, проживающих на экологически неблагоприятной территории, более характерно начало менструальной функции в старшем возрасте, большая распространенность нарушений менструального цикла.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Богомолова Е.С., Кулакова Е.В., Киселева А.С. Оценка репродуктивного здоровья девочек крупного города // Всерос. конгресс по школьной и университетской медицине с междунар. участием «Охрана здоровья и безопасность жизнедеятельности детей и подростков». СПб., 2014. 44–46.

2. Коколина В.Ф. Гинекологическая эндокринология детей и подростков: руководство для врачей / Ред. В.Ф. Коколина. М., 1998. 287 с.

3. Куинджи Н.Н. Валеология. Пути формирования здоровья школьников. М.: Аспект Пресс, 2000. 136 с.

4. Кучма В.Р., Шубочкина Е.И. Национальный план действий по предупреждению вредного влияния факторов окружающей среды на здоровье во имя будущего детей и подростков на 2007–2010 годы как механизм улучшения экологической ситуации // На пути к устойчивому развитию России. 2007. (39). 21–23.

5. Максимова М.В., Эристави В.Г., Сальникова Г.П., Тумилович Л.Г. Физическое развитие современных школьников. М.: Педагогика, 1977. 120 с.

6. Павлова И.П., Филатова И.П. Физическое и половое развитие девочек Барнаула // Изв. АГУ. 2013. 2. (3). 38–34.

7. Халимова Д.Р. Клинико-соматометрические варианты олигоменореи у юных // Репродукт. здоровье детей и подростков. 2011. (4). 65–74.

8. Чупахин В.С. Гигиеническая оценка воздействия стойких токсических веществ на организм коренных жителей Чукотки: автореф. дис. ... канд. мед. наук. СПб., 2015.

ADOLESCENT GIRLS' SEXUAL DEVELOPMENT PECULIARITIES IN THE CONDITIONS OF DIFFERENT ANTROPOGENIC LOAD

Alina Vasil'evna BELYAEVA, Lyudmila Petrovna SLIVINA,
Natal'ya Ivanovna LATYSHEVSKAYA, Lyudmila Alexandrovna DAVYDENKO,
Elena L'vovna SHESTOPALOVA

Volgograd State Medical University of Minzdrav of Russia
400001, Volgograd, sq. Pavshih Bortsov, 1

We studied the features of adolescents' pubertal development, living in the city areas with different anthropogenic load. We studied the degree of the development of the secondary sexual characteristics; the analysis of the main sizes of the pelvic bones was carried out, we made the assessment of the menstrual function. Irregularities of the reproductive system formation are more common in the adolescent girls living in the industrial area of the city: it represents the development delay of secondary sexual characteristics in the age group of 14–15 years old, the tendency of the cross-narrowed pelvis.

Key words: adolescent girls, pubertal development, anthropogenic load.

Belyaeva A.V. – assistant of the chair of general hygiene and ecology, e-mail: lulapula@list.ru

Slivina L.P. – doctor of medical sciences, professor, head of the chair, e-mail: hygiena12@yandex.ru

Latyshevskaya N.I. – doctor of medical sciences, professor, head of the chair, e-mail: hygiena12@yandex.ru

Davydenko L.A. – doctor of medical sciences, professor, head of the chair, e-mail: hygiena12@yandex.ru

Shestopalova E.L. – candidate of medical sciences, assistant of the chair of general hygiene and ecology, e-mail: hygiena12@yandex.ru