

ИЗУЧЕНИЕ АНТИФИБРОТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МОДИФИЦИРОВАННОЙ И НАТИВНОЙ ГИАЛУРОНИДАЗЫ ПРИ ПНЕВМОФИБРОЗЕ

Александр Михайлович ДЫГАЙ¹, Ольга Викторовна ПЕРШИНА¹,
Вячеслав Андреевич КРУПИН¹, Любовь Александровна ЕРМОЛАЕВА¹,
Наталья Николаевна ЕРМАКОВА¹, Маргарита Анатольевна ШИЛОВА²,
Павел Геннадьевич МАДОНОВ², Дмитрий Николаевич КИНСИТ²,
Евгений Германович СКУРИХИН¹

¹ НИИ фармакологии и регенеративной медицины им. Е.Д. Гольдберга Томского НИМЦ
634028, г. Томск, просп. Ленина, 3

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

Изучение антифибротической активности модифицированной полоксамером и нативной гиалуронидазы проводилось на модели частичного обратимого пневмофиброза, вызванного однократным введением блеомицина. Препараты вводились интраназально в профилактическом и терапевтическом режимах. Установлено, что модифицированная гиалуронидаза при терапевтическом режиме применения имеет более выраженное антифибротическое действие по сравнению с нативным ферментом. При профилактическом режиме применения модифицированная гиалуронидаза препятствует развитию пневмофиброза.

Ключевые слова: пневмофиброз, полоксамер, гиалуронидаза.

Наличие прогрессирующего фиброза с нарушением цитоархитектоники органа характерно для многих заболеваний, в том числе для пневмофиброза. Прогноз течения заболевания неблагоприятный. Продолжительность жизни с момента постановки диагноза составляет не более 5 лет [11]. В настоящее время наблюдается повышенный интерес к препаратам, обладающим антифибротическими и антипролиферативными эффектами. К ним относятся интерферон- γ -1b, D-пеницилламин, колхицин, этанерцепт, иматиниб, бозентан, макитентан, амбризентан, нинтеданиб, пирфенидон [1, 9–11]. Интерферон- γ -1b, D-пеницилламин, колхицин, этанерцепт, бозентан, макитентан, амбризентан, иматиниб не получили широкого внедрения в практику вследствие

недоказанной эффективности при лечении пневмофиброза. Широкое применение нинтеданиба и пирфенидона ограничено их высокой стоимостью. Перспективными для лечения пневмофиброза выглядят ферментные средства, в том числе гиалуронидаза, обладающие антифибротическим действием [2–4, 6–8]. Использование нативных ферментов ограничено вследствие их быстрого гидролиза *in vivo*. Сохранение белков в агрессивной среде решается иммобилизацией ферментов на низкомолекулярных полимерах-носителях. Данная технология позволяет сохранить активный центр молекулы фермента и защитить ее от гидролиза, что позволяет использовать альтернативные пути введения [5].

Дыгай А.М. – академик РАН, научный руководитель

Першина О.В. – д.м.н., старший научный сотрудник лаборатории регенеративной фармакологии

Крупин В.А. – к.м.н., лаборант-исследователь лаборатории регенеративной фармакологии

Ермолаева Л.А. – к.м.н., научный сотрудник отдела лекарственной токсикологии

Ермакова Н.Н. – к.м.н., научный сотрудник лаборатории регенеративной фармакологии

Шилова М.А. – аспирант кафедры фармакологии, клинической фармакологии и доказательной медицины

Мадонов П.Г. – д.м.н., проф., зав. кафедрой фармакологии, клинической фармакологии

и доказательной медицины

Кинсит Д.Н. – к.м.н., доцент кафедры фармакологии, клинической фармакологии и доказательной медицины

Скурихин Е.Г. – д.м.н., проф., зав. лабораторией регенеративной фармакологии

Целью данного исследования являлось изучение антифибротической активности модифицированной полоксамером и нативной гиалуронидазы при пневмофиброзе.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектами исследования являлись два препарата. Препарат 1 – модифицированная гиалуронидаза, представляющая собой белково-полимерный конъюгат, полученный смешиванием гиалуронидазы с полоксамером (торговая марка Pluronic® L31, BASF), предварительно активированным ионизирующим облучением (ЗАО «Сибирский центр фармакологии и биотехнологии», Новосибирск). Содержание полоксамера составляет 5 %. Для данного препарата характерно термообратимое мицеллообразование: при повышении температуры выше 33 °С наблюдается образование мицелл, при уменьшении ниже данного значения происходит их разрушение. Активность фермента сохраняется как в истинном растворе с полоксамером, так и в мицеллярной эмульсии. Препарат 2 – нативная гиалуронидаза производства ООО «Самсон-Мед», г. Санкт-Петербург.

Эксперименты проводили на мышах-самцах линии C57Bl/6 в возрасте 8–10 недель, полученных из питомника НИИ фармакологии и регенеративной медицины им. Е.Д. Гольдберга Томского НИМЦ (ветеринарный сертификат имеется). Содержание животных и экспериментальный дизайн одобрены Этическим комитетом НИИ фармакологии и регенеративной медицины им. Е.Д. Гольдберга Томского НИМЦ и соответствовали ГОСТ Р 53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики» (идентичен GLP OECD), а также международным правилам, принятым Европейской конвенцией по защите прав лабораторных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей. Эвтаназию мышей осуществляли передозировкой CO₂-наркоза.

Частично обратимый пневмофиброз вызывали однократным введением противоопухолевого антибиотика блеомицина (Blenoxane®; «São Paulo», Бразилия) в дозе 80 мкг/мышь в 30 мкл 0,9%-го раствора NaCl. Введение блеомицина принимали за один день до эксперимента. Введение модифицированной и нативной гиалуронидазы осуществляли интраназально в дозах 200, 400 и 800 УЕ/кг в профилактическом (1–5 сут эксперимента) и терапевтическом (10–20 сут эксперимента) режимах. Контрольной группе животных в аналогичных условиях был введен эквивалентный объем 0,9%-го раствора NaCl. Для установ-

ления фоновых показателей использовали группу интактных животных.

Для морфологического исследования легких правую долю легкого фиксировали в 10%-м растворе нейтрального формалина и заливали в парафин по стандартной методике. Депарафинизированные срезы толщиной 7 мкм окрашивали по методу Ван Гизона. Поверхности среза легочной ткани исследовали при 400-кратном увеличении, полученные изображения обрабатывали с помощью программного обеспечения AxioVision Rel.4.8.2.

Содержание коллагена I типа и гиалуроновой кислоты в гомогенате правого легкого определяли иммуноферментным твердофазным методом с использованием наборов лабораторной диагностики мышей методом иммуноферментного анализа (Cubasio Boitech CO., LTD, Китай), коллагена – иммуноферментным методом с использованием набора SIRCOL Collagen Assay (Biocolor Ltd, Великобритания).

Статистическую обработку данных проводили методами вариационной статистики, вычисляли среднее арифметическое (X), ошибку среднего арифметического (m) и представляли в виде $X \pm m$. Используя выборочные коэффициенты асимметрии и эксцесса, оценивали степень приближения закона распределения исследуемого признака к нормальному. В случаях нормального распределения признаков для оценки статистической значимости различий между группами применяли параметрический t-критерий Стьюдента, при больших отклонениях распределений признака от нормального вида использовали непараметрический U-критерий Уилкоксона. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При морфологическом исследовании легких установлено, что введение препаратов модифицированной гиалуронидазы в терапевтическом и профилактическом режимах в дозах 200, 400 и 800 УЕ/кг приводит к уменьшению площади фибротических изменений в легких у мышей с частично обратимым пневмофиброзом (табл. 1, рисунок). Согласно полученным результатам, наименьшей эффективностью обладает модифицированная гиалуронидаза в дозе 200 УЕ/кг. Существенных различий в активности модифицированной гиалуронидазы в дозах 400 и 800 УЕ/кг не выявлено. Таким образом, наиболее оптимальной, с точки зрения эффективности, является доза препарата 400 УЕ/кг как при профилактическом, так и при терапевтическом режиме введения.

Таблица 1

Влияние модифицированной гиалуронидазы в дозах 200, 400 и 800 УЕ/кг на содержание соединительной ткани (% от площади ткани) в паренхиме легких мышей линии C57Bl/6 в условиях частично обратимого пневмофиброза на 21-е сутки эксперимента

Интактный контроль	Пневмофиброз	Пневмофиброз при лечении модифицированной гиалуронидазой		
		200 УЕ/кг	400 УЕ/кг	800 УЕ/кг
Профилактический режим введения				
1,29 ± 0,06	4,12 ± 0,20*	2,11 ± 0,10*•	1,17 ± 0,05•	1,20 ± 0,13•
Терапевтический режим введения				
1,18 ± 0,09	4,22 ± 0,33	2,41 ± 0,12*•	1,83 ± 0,09*•	1,77 ± 0,19

Примечание. Здесь и в табл. 2, 3 обозначены статистически значимые ($p < 0,05$) отличия от величин соответствующих показателей: * – интактного контроля, • – животных с пневмофиброзом без лечения.

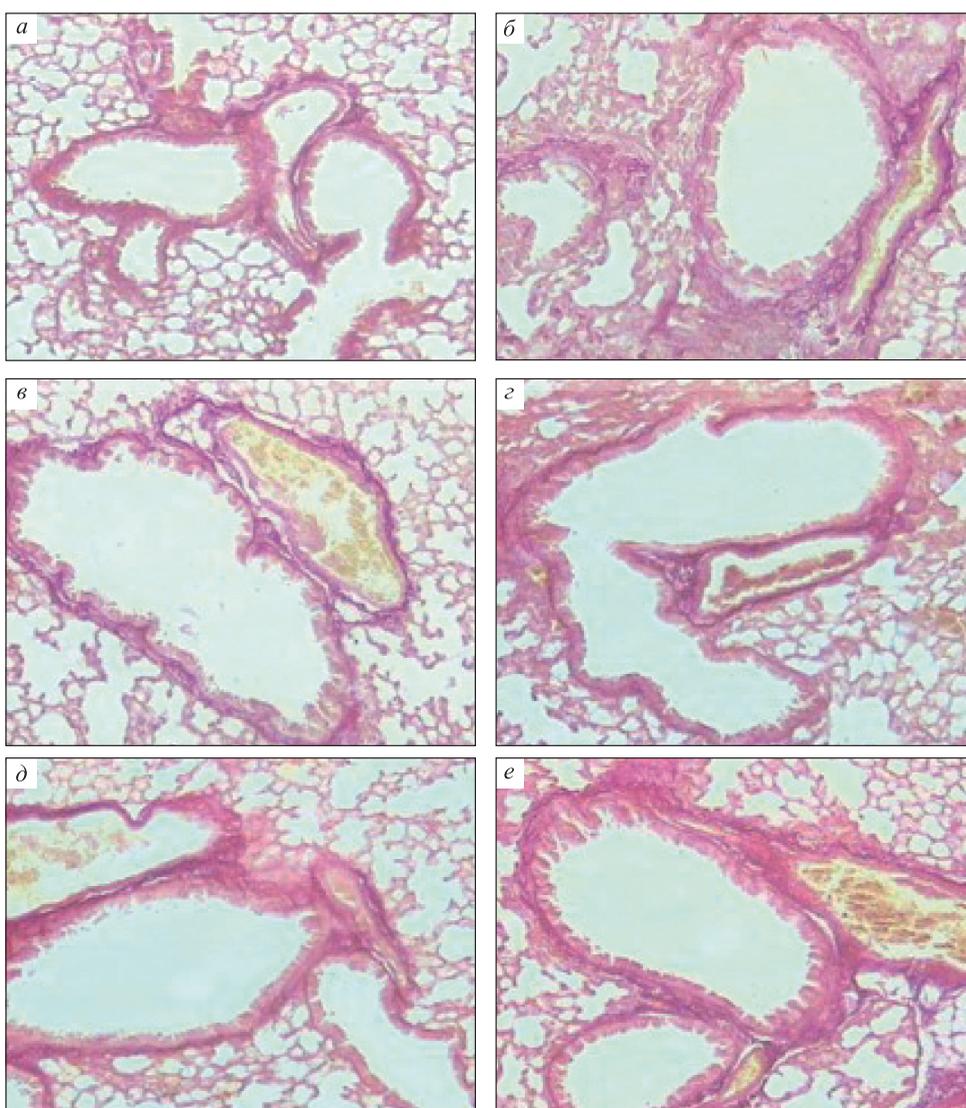


Рис. Морфологическая картина легких мышей линии C57Bl/6 в условиях частично обратимого пневмофиброза на 21-е сутки эксперимента. Окраска пикрофуксином по Ван Гизону; $\times 100$. а – интактный контроль; б – пневмофиброз; в – лечение пневмофиброза модифицированной гиалуронидазой в профилактическом режиме; г – лечение пневмофиброза нативной гиалуронидазой в профилактическом режиме; д – лечение пневмофиброза модифицированной гиалуронидазой в терапевтическом режиме; е – лечение пневмофиброза нативной гиалуронидазой в терапевтическом режиме

Таблица 2

Влияние модифицированной и нативной гиалуронидазы в дозе 400 УЕ/кг на содержание соединительной ткани (% от площади ткани) в паренхиме легких мышей линии С57В1/6 в условиях частично обратимого пневмофиброза на 21-е сутки эксперимента

Группа	Содержание соединительной ткани
Интактный контроль	1,29 ± 0,06
Пневмофиброз	4,12 ± 0,20*
Профилактическое введение модифицированной и нативной гиалуронидазы	
Пневмофиброз при лечении модифицированной гиалуронидазой	1,17 ± 0,05*
Пневмофиброз при лечении нативной гиалуронидазой	2,57 ± 0,12**
Терапевтическое введение модифицированной и нативной гиалуронидазы	
Пневмофиброз при лечении модифицированной гиалуронидазой	1,83 ± 0,09**
Пневмофиброз при лечении нативной гиалуронидазой	3,38 ± 0,17*

Таблица 3

Влияние нативной и модифицированной гиалуронидазы на биохимические показатели пневмофиброза в гомогенатах правого легкого у мышей линии С57В1/6 в условиях частично обратимого пневмофиброза на 7-е и 21-е сутки эксперимента

Группа	Содержание проколлагена I типа (нг/легкое)	Содержание гиалуроновой кислоты (нг/легкое)	Содержание общего коллагена (мкг/легкое)
Интактный контроль	162,2 ± 11,7	66,25 ± 5,42	110,90 ± 9,74
Профилактический режим введения (7 сут)			
Пневмофиброз	233,3 ± 22,4*	103,65 ± 9,55*	154,25 ± 13,09*
Пневмофиброз при лечении нативной гиалуронидазой	178,3 ± 16,2	72,1 ± 6,28*	119,90 ± 10,21
Пневмофиброз при лечении модифицированной гиалуронидазой	241,8 ± 20,1	75,95 ± 6,77*	121,05 ± 11,02
Терапевтический режим введения (21 сут)			
Пневмофиброз	208 ± 18,4*	85,3 ± 7,29*	152,65 ± 13,38*
Пневмофиброз при лечении нативной гиалуронидазой	220,15 ± 21,7*	99,65 ± 8,45*	149,1 ± 12,42*
Пневмофиброз при лечении модифицированной гиалуронидазой	148 ± 13,5*	62,7 ± 5,49*	106,9 ± 9,42*

Установлено, что профилактическое и терапевтическое введение модифицированной гиалуронидазы в дозе 400 УЕ/кг на модели частично обратимого пневмофиброза более эффективно, чем введение нативного фермента (табл. 2). Так, по сравнению с нелеченным частично обратимым пневмофиброзом содержание соединительной ткани в легких при использовании нативного фермента в дозе 400 УЕ/кг уменьшается в 1,6 раза при профилактическом и в 1,2 раза при терапевтическом режимах введения. Однако полученные значения превышают таковые у интактного контроля в 2,0 и 2,6 раза соответственно.

Площадь коллагеновых волокон в группе мышей с пневмофиброзом, получавших модифицированную гиалуронидазу в профилактическом режиме введения в дозе 400 УЕ/кг, уменьшилась

до значений интактных животных. При терапевтической схеме применения модифицированного препарата в дозе 400 УЕ/кг содержание соединительной ткани в легких по сравнению с нелеченным частично обратимым пневмофиброзом снизилось в 2,3 раза, что превышает данный показатель у интактных животных в 1,4 раза.

При исследовании влияния препаратов на биохимические показатели пневмофиброза было определено, что интратрахеальное введение блеомицина достоверно повышало содержание проколлагена I типа, гиалуроновой кислоты и общего коллагена на 7-е и 21-е сутки эксперимента (табл. 3). Курсовое введение модифицированной и нативной гиалуронидазы в профилактическом режиме достоверно уменьшало уровень гиалуроновой кислоты в гомогенатах легких животных

на 7-е сутки эксперимента. Применение нативного фермента не влияло на биохимические показатели на 21-е сутки эксперимента, в то время как при введении модифицированной гиалуронидазы наблюдалось снижение уровней общего коллагена, коллагена I типа и гиалуроновой кислоты в гомогенате легких.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

При токсическом частично обратимом пневмофиброзе легких интраназальное введение в профилактическом режиме модифицированной гиалуронидазы в дозах 200, 400 и 800 УЕ/кг уменьшает содержание соединительной ткани в паренхиме легких у мышей линии С57В1/6. Применение модифицированной гиалуронидазы в терапевтическом режиме способствует рассасыванию уже сформировавшихся очагов фиброза. Антифибротическая активность модифицированной гиалуронидазы значительно превосходит эффекты нативного фермента. Наиболее оптимальная доза модифицированной гиалуронидазы, с точки зрения терапевтического эффекта, составляет 400 УЕ/кг.

Модифицированная гиалуронидаза в дозе 400 УЕ/кг оказывает ингибирующее влияние на синтез коллагена и нарушает профибротический матрикс гиалуронана. Применяемая в терапевтическом режиме модифицированная гиалуронидаза более выражено уменьшает биохимические показатели фиброза, чем вводимая в профилактическом режиме.

Таким образом, модифицированная гиалуронидаза является перспективным средством как лечения, так и профилактики пневмофиброза. Необходимо отметить, что иммобилизация ферментов на низкомолекулярных полимерах позволяет не только добиться изменения фармакокинетических свойств по сравнению с нативным ферментом, но и уменьшить выраженность реакций сенсibilизации при введении белковых препаратов. Данное обстоятельство позволяет варьировать длительность лечения при хроническом течении заболевания. Возможность длительного использования препарата при тяжелой форме заболевания (отложение фиброзных волокон) очень важна, поскольку в клинической практике фиброз редко диагностируется на стадии воспаления.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Авдеев С.Н. Идиопатический легочный фиброз: современные подходы к терапии // *Практ. пульмонология*. 2015. (1). 22–31.
2. Дыгай А.М., Скурихин Е.Г., Ермакова Н.Н. и др. Антифибротические эффекты иммобилизированной гиалуронидазы при повторяющихся травмах альвеолярного эпителия блеомицином // *Бюл. эксперим. биологии и медицины*. 2013. (4). 499–504.
3. Дыгай А.М., Скурихин Е.Г., Першина О.В. и др. Стволовые и прогениторные клетки в патогенезе пневмофиброза // *Патогенез*. 2013. (1). 36–51.
4. Дыгай А.М., Скурихин Е.Г., Хмелевская Е.С. и др. Влияние иммобилизированной гиалуронидазы на стволовые и прогениторные клетки при пневмофиброзе // *Клеточ. технол. в биологии и медицине*. 2013. (4). 244–249.
5. Мадонов П.Г., Еришов К.И., Дубровин А.В. и др. Электронно-лучевая модификация препаратов белковой природы для улучшения их фармакологических свойств // *Мед. и образ. в Сибири*. 2013. (4). <http://www.ngmu.ru/cozo/mos/article/pdf.php?id=1115>.
6. Пат. 2497523 РФ. Способ повышения эффективности терапии нарушений в легочной ткани при цитостатических воздействиях / П.Г. Мадонов, Н.Н. Ермакова, А.М. Резцова и др. Опубл. 08.07.2013.
7. Скурихин Е.Г., Першина О.В., Крупин В.А. и др. Эффекты и механизм действия пегилированной гиалуронидазы у мышей С57В1/6 в условиях блеомицин-индуцированного фиброза легких // *Патогенез*. 2015. (3). 56–64.
8. Скурихин Е.Г., Резцова А.М., Ермакова Н.Н. и др. Антифибротическая активность конъюгатов на основе амфифильного пльороника F68 и гидрофобного пльороника L31 с гиалуронат-эндо- β -N-ацетилгексозаминидазой при фиброзе легкого // *Бюл. эксперим. биологии и медицины*. 2014. (1). 9–13.
9. Kwiecien M., Homa M., Budasz-Swidorska M. et al. Idiopathic pulmonary fibrosis as a challenge for the Polish healthcare system // *J. Health Policy Outcomes Res*. 2015. (2). 6–17.
10. Troy L.K. Therapy for idiopathic pulmonary fibrosis: lessons from pooled data analyses // *Eur. Respir. J*. 2016. 47. (1). 27–30.
11. Woodcock H.V., Maher T.M. The treatment of idiopathic pulmonary fibrosis // *F1000Prime Rep*. 2014. 6. ID 16. <http://f1000.com/prime/reports/m/6/16>

STUDY OF ANTIFIBROTIC ACTIVITY OF MODIFIED AND NATIVE HYALURONIDASE AT PULMONARY FIBROSIS

**Aleksandr Mikhaylovich DYGAY¹, Ol'ga Viktorovna PERSHINA¹,
Vyacheslav Andreevich KRUPIN¹, Lyubov' Aleksandrovna YERMOLAEVA¹,
Nataliya Nikolaevna YERMAKOVA¹, Margarita Anatol'evna SHILOVA²,
Pavel Gennad'evich MADONOV², Dmitriy Nikolaevich KINSHT²,
Yevgeniy Germanovich SKURIKHIN¹**

¹ *Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine
634028, Tomsk, Lenin av., 3*

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

This study of the antifibrotic activity of poloxamer-modified and native hyaluronidase was conducted using the model of partial reversible pulmonary fibrosis caused by one-time administration of bleomycine. The preparations were administered in the intranasal preventive and therapeutic modes. It has been established that modified hyaluronidase when used in the therapeutic mode has more pronounced antifibrotic action in comparison to native enzyme. When administered in the preventive mode, modified hyaluronidase prevents the development of pulmonary fibrosis.

Key words: pulmonary fibrosis, hyaluronidase, poloxamer.

Dygay A.M. – academician of RAS, scientific adviser

Pershina O.V. – doctor of medical sciences, senior researcher of the laboratory for regenerative pharmacology

Krupin V.A. – candidate of medical sciences, researcher of the laboratory for regenerative pharmacology

Yermolaeva L.A. – candidate of medical sciences, researcher of the department of drug toxicology

Yermakova N.N. – candidate of medical sciences, researcher of the laboratory for regenerative pharmacology

Shilova M.A. – postgraduate student of the chair for pharmacology, clinical pharmacology and evidentiary medicine

Madonov P.G. – doctor of medical sciences, professor, head of the chair for pharmacology, clinical pharmacology and evidentiary medicine

Kinsht D.N. – candidate of medical sciences, associate professor of the chair for pharmacology, clinical pharmacology and evidentiary medicine

Skurikhin Ye.G. – doctor of medical sciences, professor, head of the laboratory for regenerative pharmacology

ДИНАМИКА ЛАБОРАТОРНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ И СТРУКТУРНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ В ПЕЧЕНИ И ПОЧКАХ ПРИ ВНУТРИКОСТНОМ ВВЕДЕНИИ МЕТИЛМЕТАКРИЛАТА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Валерий Михайлович ПРОХОРЕНКО^{1,2}, Алла Михайловна ЗАЙДМАН¹,
Дмитрий Викторович ЖУКОВ², Валентина Александровна ЖУКОВА²,
Нина Васильевна УСТИКОВА¹

¹ Новосибирский НИИ травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна Минздрава России
630091, г. Новосибирск, ул. Фрунзе, 17

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

Отсутствие альтернативы цементному протезированию как основному методу лечения и социальной реабилитации больных, сопутствующие этому методу трудности планирования и ведения пациентов, осложнения и необходимость их прогнозирования и профилактики определили актуальность работы. Разработать новые методы прогнозирования осложнений помогает знание патогенеза и динамики морфологических изменений, происходящих в зоне хирургического воздействия и вне его, а также сопряженных с ними изменений лабораторных показателей крови.

Ключевые слова: эндопротезирование, морфология, печень, почки, лабораторные показатели.

Эндопротезирование суставов является эффективным и часто единственным способом восстановления утраченной функции конечности. Значительные успехи в разработке и внедрении в медицинскую практику последних достижений хирургии и материалов, появление на рынках России продукции ведущих ортопедических фирм мира позволяют хирургам-ортопедам использовать в своей работе высококачественные имплантаты, применять эндопротезирование как самый эффективный способ лечения заболеваний и повреждений суставов. В то же время операция цементного эндопротезирования требует тщательной предоперационной подготовки пациента и не менее скрупулезного ведения в послеоперационном периоде. Как и любая операция, эндопротезирование крупных суставов с использованием костного цемента – большой стресс для всего организма больного. При этом если иммунный статус пациента снижен изначально из-за сопутствующих заболеваний или осталась неприкрытой операционная агрессия, то велика вероятность развития осложнений суставов [1–4].

Воздействие костного цемента при оперативном вмешательстве носит комбинированный характер. Наносится механическое повреждение тканей, применение цемента происходит с выделением тепла, т. е. присутствует экзотермическое воздействие, а сам мономер метилметакрилата является токсичным продуктом. Поэтому фундаментальное исследование изменений, происходящих в основных органах и тканях и организме в целом, изучение сопряженной реакции лимфатической системы и органов гомеостаза имеют важное значение. Исследования, посвященные этому вопросу, немногочисленны, а результаты их противоречивы, практически отсутствуют исследования морфологии почек. Нет оценки лабораторных данных о функции печени и почек в послеоперационный период. В опубликованных нами ранее работах уже указывалось, что печень и почки одними из первых реагируют на стрессовое воздействие, а их детоксикационную и гомеостатическую функцию трудно переоценить. Это и определило необходимость изучения данного вопроса.

Прохоренко В.М. – д.м.н., проф., зам. директора по научно-лечебной работе, зав. кафедрой травматологии и ортопедии

Зайдман А.М. – заслуженный деятель науки РФ, д.м.н., проф., главный научный сотрудник лабораторно-экспериментального отдела

Жуков Д.В. – к.м.н., доцент кафедры травматологии и ортопедии, e-mail: zhukdv@ngs.ru

Жукова В.А. – к.м.н., доцент кафедры патологической анатомии

Устикова Н.В. – врач-ревматолог

На основе полученных данных возможна разработка методов прогнозирования течения послеоперационного периода, методов профилактики осложнений и оптимизации цементного протезирования.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектом при выполнении экспериментальной части исследования послужили 50 крыс линии Вистар (38 самцов и 12 самок массой 100–120 г). В изучаемой группе ($n = 35$, 8 самок и 27 самцов) по наружной поверхности бедра осуществлялся доступ к диафизу бедренной кости. Выполнялась перфорация одного кортикального слоя, внутрикостно вводился метилметакрилат в дозе 0,1 мл. Излишки цемента удалялись. Фрезевое отверстие пломбировалось костным цементом. В контрольной группе (15 животных: 4 самки и 11 самцов) выполнялась только перфорация одного кортикального слоя диафиза бедренной кости. Животные выводились из эксперимента через 1 ч после операции, через 1, 3, 7, 30 сут. Объектом морфологического и морфометрического исследования служили печень и почки. Материал проводили по стандартной методике. Фрагменты костной ткани предварительно декальцинировали азотной кислотой. Готовили срезы толщиной 5–7 мкм, окрашивали гематоксилином и эозином, по Ван Гизону, проводили ШИК-реакцию. С помощью стандартной окулярной сетки (тестовая площадь – $5,56 \times 10^5$ мкм²) из 25 и 289 точек определяли объемную плотность (Vv) альтерации (балонная дистрофия, некроз) гепатоцитов, нефроцитов не менее чем в 5 полях зрения. Микропрепараты просматривали в микроскопе «Axiostar Zeiss» при увеличении $\times 100$, $\times 200$.

Изучались следующие параметры и изменения: общая реакция органа на применение метилметакрилата; количество поврежденных клеток на единице площади среза.

Клиническая часть работы состояла в изучении лабораторных показателей крови до и после цементного протезирования на основе ретроспективного анализа историй болезни и наблюдений за больными. Для этого отобраны и обработаны 95 историй болезни (63 женщины и 32 мужчины, средний возраст пациентов составил 59,1 года). Пациенты были разделены на четыре группы: 1-я группа – идиопатический артроз коленного или тазобедренного сустава 3 ст. (25 человек: 21 женщина и 4 мужчины); 2-я группа – артроз суставов 3 ст. + асептический некроз кости (23 человека: 12 женщин и 11 мужчин); 3-я группа – артроз суставов 3 ст. + ревматоидный артрит

(25 человек: 18 женщин и 7 мужчин); 4-я группа – идиопатический артроз коленного или тазобедренного сустава 3 ст. или посттравматический артроз с выполнением бесцементного протезирования (22 человека: 12 женщин и 10 мужчин). Практически все пациенты имели в разной степени выраженности сопутствующие заболевания. Показатели отслеживались до операции и после нее: через 1, 3 и 5–7 сут, через 1, 2, 3, 4 и 6 мес., через 1 год.

Полученные данные обрабатывались методами вариационной статистики. Данные в таблицах представлены в виде $M \pm SD$, где M – среднее арифметическое значение, m – стандартное отклонение. Различия между группами оценивали с помощью критерия Стьюдента, достоверными считали результаты при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Морфологические изменения в печени. Результаты гистологического исследования печени представлены в табл. 1. В контрольной группе животных в центре долек отмечено острое венозное полнокровие, мелкокапельная мозаичная вакуольная дистрофия, единичные безъядерные и двуядерные гепатоциты располагались преимущественно на периферии долек. Статистически значимых различий результатов этапного морфометрического исследования не выявлено, в связи с чем «контроль» представлен одной объединенной группой.

При микроскопическом исследовании через 12 ч после введения костного цемента: общее строение печени сохранено, в центральных венах наблюдается стаз, умеренно выраженный отек с незначительным увеличением деструктивных, преимущественно дистрофических, изменений гепатоцитов.

Через 1 сутки – стаз в центральных венах, распространяющийся на межбалочные капилляры. Наблюдается дистрофия эндотелиальных клеток, мелкокапельная жировая дистрофия гепатоцитов с диссеминированно расположенными гепатоцитами с крупнокапельной жировой дистрофией и некрозами. В отдельных балках эти изменения незначительны и выражаются инфильтрацией лимфоцитами и единичными нейтрофилами. Мозаично в дольке и на ее периферии встречаются двуядерные гепатоциты. При морфометрическом исследовании, в сравнении с контрольной группой, увеличился более чем в 2 раза показатель деструктивных изменений паренхимы печени пропорционально за счет некрозов и дистрофических изменений гепатоцитов. Отмечено нарастание объемной плотности двуядерных гепатоцитов.

Таблица 1

Динамика изменений в печени крыс после внутрикостного введения мономера метилметакрилата

Объемная плотность V _v , %	Контроль	12 ч	1 сут	3 сут	7 сут	30 сут
Двухядерные гепатоциты	4,11 ± 1,72	5,59 ± 1,12*	7,56 ± 1,36*	7,91 ± 1,1*	8,16 ± 1,75*	5,72 ± 0,88*
Дистрофические изменения гепатоцитов	7,86 ± 1,17	10,76 ± 4,28*	21,41 ± 4,13*	35,13 ± 6,25*	40,61 ± 5,84*	13,56 ± 3,38*
Некрозы в паренхиме печени	3,41 ± 0,78	4,22 ± 1,04	9,23 ± 2,11*	12,41 ± 1,17*	10,92 ± 1,66*	4,34 ± 1,53*
Сумма деструктивных изменений	11,27 ± 1,95	14,98 ± 3,32*	30,64 ± 6,23*	47,54 ± 7,42*	51,53 ± 7,50*	17,90 ± 4,91*
Воспалительные инфильтраты в дольках печени	0	0	0	5,25 ± 1,11*	13,16* ± 1,18	13,24 ± 1,29*

Примечание. Здесь и в табл. 2 * – отличие от величины соответствующего показателя группы «контроль» статистически значимо при $p < 0,05$.

Через 3 суток: балочное строение печени нарушено, вакуольная и мелкокапельная дистрофия гепатоцитов перемежается с очагами баллонной и крупнокапельной жировой дистрофии, с единичными некрозами, состоящими из контуров 2–4 гепатоцитов, и мелкими очагами лимфоидно-макрофагальной с эозинофильной инфильтрацией. Венозный застой в дольке распространяется на синусоиды.

Через 7 суток: балочное строение печени нарушено. Стаз в центральных венах распространился на межбалочные капилляры, синусоиды. Объемная плотность некрозов снизилась, но увеличилась объемная плотность дистрофии гепатоцитов, за счет чего остается высокой объемная плотность суммы деструктивных изменений в печени.

К концу эксперимента балочное строение печени сохранено. В дольках выявлены диссеминированные очаги белковой гиалиново-капельной и мелкокапельной жировой дистрофии гепатоцитов. В единичных клетках, расположенных преимущественно на периферии долек, обнаружена баллонная дистрофия. Сохраняется стаз в центральных венах долек. Показатели объемной плотности приближаются к величинам, обнаруженным через 12 ч после введения костного цемента. Наблюдается снижение суммы деструктивных изменений гепатоцитов в 3 раза: уменьшение объемной плотности двухядерных гепатоцитов, стабилизация объемной плотности очагов продуктивного воспаления.

Морфологические изменения в почках.

Результаты гистологического исследования почек представлены в табл. 2. В контрольной группе через 1 ч после операции изменения в почке несут очаговый характер: неравномерное полно-

кровие, ишемия отдельных клубочков, диапедзные кровоизлияния в строме мозгового вещества. В экспериментальной группе через 1 ч определяются умеренная ишемия, стаз и диапедзные очаговые кровоизлияния в коре, некроз отдельных нефроцитов, стаз и единичные лимфоциты в строме лоханки, единичные цилиндры в просвете канальцев.

1 сутки: в контрольной группе существенных морфометрических изменений не наблюдается. Не отмечено и статистически достоверных различий результатов этапного морфометрического исследования, в связи с чем «контроль» представлен одной объединенной группой. Результаты исследования в опытной группе показывают увеличение альтеративных изменений – стаз в капиллярах клубочков, сужение просвета капсулы Шумлянско-Боумэна, диапедзные кровоизлияния в строме, белковая дистрофия и некроз эпителиоцитов канальцев кортикальной зоны.

Через 3 суток в почке животных опытной группы определяется венозный застой, фибриновые тромбы в капиллярах клубочков, отек медулярного вещества, набухание и слабая белковая гидропическая дистрофия эпителия почечных канальцев. Увеличивается сумма общих альтеративных изменений.

Просвет проксимальных канальцев почки крыс опытной группы через 7 сут резко сужен, имеются выраженный стаз, венозный застой, диапедзные кровоизлияния в мозговом слое, дистрофия эпителия коры (гидропическая дистрофия эпителия проксимальных и дистальных канальцев, наличие белка в просвете проксимальных канальцев). Отмечается полнокровие, стаз в отдельных клубочках, фибриновые слепки в просвете капсулы Шумлянско-Боумэна.

Таблица 2

Динамика изменений в почках крыс после внутрикостного введения мономера метилметакрилата

Параметр	Контроль	12 ч	1 сут	3 сут	7 сут	30 сут
Площадь клубочков, мкм ²	12,51 ± 0,81	15,26 ± 0,35	18,45 ± 1,21*	21,74 ± 1,64*	16,33 ± 1,58	12,16 ± 1,16
Дистрофия эндотелия, Vv (%)	1,21 ± 0,19	2,55 ± 0,41	2,45 ± 0,22	2,55 ± 0,27	1,82 ± 0,27	1,68 ± 0,11
Некроз эндотелия, Vv (%)	1,08 ± 0,17	2,81 ± 0,51	3,18 ± 0,66	4,42 ± 0,48	2,92 ± 0,36	0,91 ± 0,18
Сумма деструктивных изменений в клубочке, Vv (%)	2,29 ± 0,36	5,36 ± 0,92	5,63 ± 0,88	6,97 ± 0,75*	4,74 ± 0,63*	2,79 ± 0,29*
Дистрофия эпителия проксимальных канальцев, Vv (%)	3,41 ± 0,39	3,17 ± 1,07	4,11 ± 0,91	7,85 ± 1,12*	10,63 ± 1,26*	9,61 ± 1,11*
Некроз эпителия, Vv (%)	2,72 ± 0,16	2,81 ± 0,27	3,41 ± 0,81	8,81 ± 1,49*	9,11 ± 1,15*	5,12 ± 0,98*
Сумма деструктивных изменений, Vv (%)	6,18 ± 0,55	5,98 ± 0,34	7,52 ± 1,72*	16,66 ± 2,61	19,74 ± 2,41	14,73 ± 2,09
Дистрофия эпителия дистальных канальцев, v (%)	1,16 ± 0,41	1,21 ± 0,17	1,19 ± 0,13	2,77 ± 0,54*	3,98 ± 0,61	3,22 ± 0,49
Некроз эпителия, Vv (%)	2,32 ± 0,63	2,39 ± 0,36	2,31 ± 0,31	6,41 ± 1,32*	8,43 ± 1,06	8,35 ± 1,01
Сумма деструктивных изменений, Vv (%)	0,11 ± 0,08	0,21 ± 0,07	0,19 ± 0,07	0,31 ± 0,03	2,45 ± 0,02*	1,17 ± 0,18*
Численная плотность многоядерных нефроцитов, Nai (5,56 × 10 ⁵ мкм ²)	8,50 ± 1,18	8,37 ± 0,65	9,83 ± 2,03	23,07 ± 3,93*	28,17 ± 3,47	23,08 ± 3,10
Общая сумма деструктивных изменений в канальцах, Vv (%)	0	0	1,07 ± 0,18	4,11 ± 0,28*	14,25 ± 1,16*	18,34 ± 3,12*

На 30 сутки отмечается некоторое снижение общей суммы деструктивных изменений в канальцах (до уровня 3-х суток).

Результаты клинических исследований. Повышение качества оказания хирургической помощи неразрывно связано с тщательным контролем за реакцией лабораторных показателей острофазовых белков и показателей общего анализа крови.

С-реактивный белок (СРБ) синтезируется в печени в ответ на острое воспаление. От своевременного появления СРБ в крови зависит состоятельность защитных сил организма, поскольку он активирует систему комплемента, ускоряет фагоцитоз, стимулирует выработку интерлейкинов и влияет на другие важные звенья иммунных реакций, наиболее быстро реагируя на любые изменения равновесия в организме повышением содержания в крови, при правильном лечении быстро приходя в норму. При этом чем мощнее проявления патологического процесса, тем больше СРБ образуется и поступает в кровь. То есть СРБ является весьма чувствительным и ранним маркером воспаления в организме, поэтому необходимость в определении его концентрации возникает в различных клинических ситуаци-

ях. Рост содержания СРБ отмечается и при некротических изменениях в тканях, в частности при инфаркте миокарда. После операций концентрация СРБ также увеличивается, поскольку любое хирургическое вмешательство сопровождается повреждением тканей. Однако высокие значения данного показателя быстро приходят в норму, если процесс выздоровления и восстановления протекает адекватно. В случае же присоединения бактериальной инфекции и развития осложнений содержание СРБ в крови резко увеличивается.

Фибриноген – белок, вырабатываемый в печени и превращающийся в нерастворимый фибрин – основу сгустка при свертывании крови. Фибриноген также является одним из факторов крови, известных под названием «ревматические пробы». Уровень фибриногена и других ревматических факторов резко возрастает в крови при воспалении или повреждении ткани, такое увеличение может означать острые инфекционные и воспалительные заболевания, инсульты, инфаркт миокарда, гипотиреоз, амилоидоз, пневмонию, злокачественные опухоли. Причиной повышения уровня фибриногена являются перенесенные операции, ожоги, прием пациентом гормональ-

ных препаратов. Сам по себе факт увеличения содержания в крови фибриногена не дает врачу информацию о причине такого изменения. Обычно оно носит временный характер, и уровень фибриногена в крови пациента возвращается в норму после прекращения воздействия вышеуказанных факторов.

Мочевая кислота образуется в результате распада пуринов под действием ксантиноксидоредуктазы. Отклонения ее уровня в крови могут быть обусловлены относительно безобидными факторами, и даже суточными колебаниями (по вечерам ее концентрация возрастает). Мочевая кислота активирует и усиливает действие норадреналина и адреналина, что стимулирует работу головного мозга и нервной системы в целом, и является антиоксидантом. Сдвиги ее содержания в крови как в сторону повышения, так и в сторону понижения зависят от двух процессов: образования кислоты в печени и времени выведения ее почками, которые могут изменяться вследствие различных патологий.

Мочевина – один из конечных продуктов белкового метаболизма, содержащий азот; быстрое разрушение белков и повреждение почек стремительно поднимают ее уровень в крови (так же как и практически любая массивная гибель клеток). Причинами увеличения содержания мочевины в крови являются лихорадочные состояния, осложнения диабета, усиленная гормональная функция надпочечников, а также снижение клубочковой фильтрации. Азотемия, показателем которой также служит повышение концентрации мочевины, чаще всего является следствием неадекватной экскреции из-за заболеваний почек. Уровень мочевины в крови снижается при многих заболеваниях печени. Это происходит из-за неспособности поврежденных клеток печени синтезировать мочевину, что, в свою очередь, ведет к повышению концентрации аммиака в крови и развитию печеночной энцефалопатии. Почечная недостаточность проявляется при утрате клубочка способности фильтровать метаболиты крови. Это может произойти внезапно (острая почечная недостаточность) в ответ на заболевание, введение лекарств, ядов, повреждение. Иногда это следствие хронических заболеваний почек (пиелонефрита, гломерулонефрита, амилоидоза, опухоли почек и др.) и других органов (диабета, гипертонической болезни и др.). Уровень мочевины следует трактовать неотрывно от показателей креатинина.

Креатинин представляет собой один из метаболитов биохимических реакций аминокислотно-белкового обмена в организме, его образование происходит постоянно и связано с обменными

процессами в мышечной ткани. Так как мышцы составляют один из основных массивов человеческого тела, а сокращение требует постоянного энергетического субстрата, в их структуре должны быть заложены мощные энергоносители. После синтеза в печени он попадает в мышцы, где и происходит его дефосфорилирование креатинфосфокиназой. Результатом этих процессов является образование энергии и креатинина. АТФ расходуется мышцами на погашение энергетических потребностей, а почки выводят креатинин с мочой после фильтрации. Весь креатинин не может быть фильтрован и экскретирован почками. Это связано с тем, что происходит постоянное его выделение в кровь, пока мышечная ткань жизнеспособна. Плазма крови должна содержать относительно стабильную концентрацию креатинина, которая может варьировать в зависимости от возраста, особенностей мышечной активности и питания. Поэтому существуют максимальные и минимальные границы нормы креатинина, которые учитывают все эти моменты и говорят о нормальном функционировании органов.

Динамика лабораторных показателей, представленная на рис. 1 и 2, подтверждает комбинированный характер воздействия метилметакрилата на организм в целом. Длительно удерживаемое содержание острофазовых белков на высоком уровне определяет пролонгированную реакцию иммунной системы на агрессию. Во второй исследуемой группе, где имеются сопутствующие заболевания и асептический некроз и пациенты которой обычно выходят на операцию под медикаментозным прикрытием, изменения существенно повышены на протяжении всего периода наблюдения. Это указывает на взаимное отягощение имеющейся сопутствующей соматической патологии и оперативного лечения. Реакция показателей пациентов второй и третьей групп подтверждают мнение, что хирургическое вмешательство неизбежно вызывает резкое обострение основного заболевания в ранний послеоперационный период, которое носит длительный характер. В то же время реакция лабораторных показателей весьма чувствительна к любым изменениям – так, пик реакции обычно совпадает с максимальными показателями альтерации в органах и тканях. Отмечается четкое различие показателей при цементном и бесцементном протезировании.

Изменения в общеклиническом анализе подтверждают вышеизложенные мысли. СОЭ находится на высоком уровне на протяжении всего периода наблюдения во всех группах. В ранний послеоперационный период и до двух месяцев наблюдается лейкоцитоз, как ответ организма на

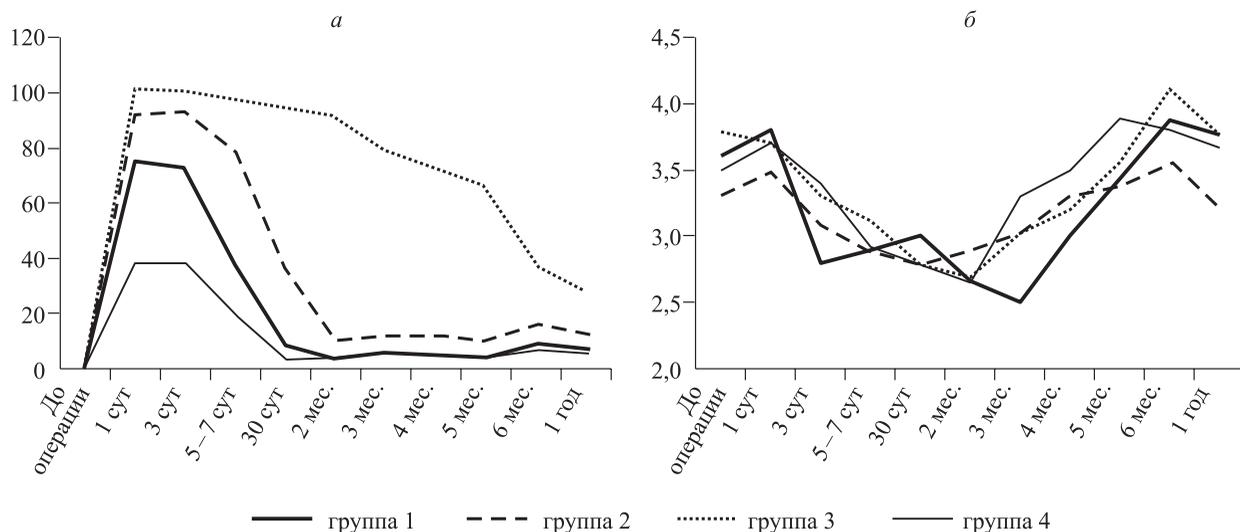


Рис. 1. Динамика содержания СРБ (а, мг/л) и фибриногена (б, г/л) в сыворотке крови пациентов до и после цементного протезирования

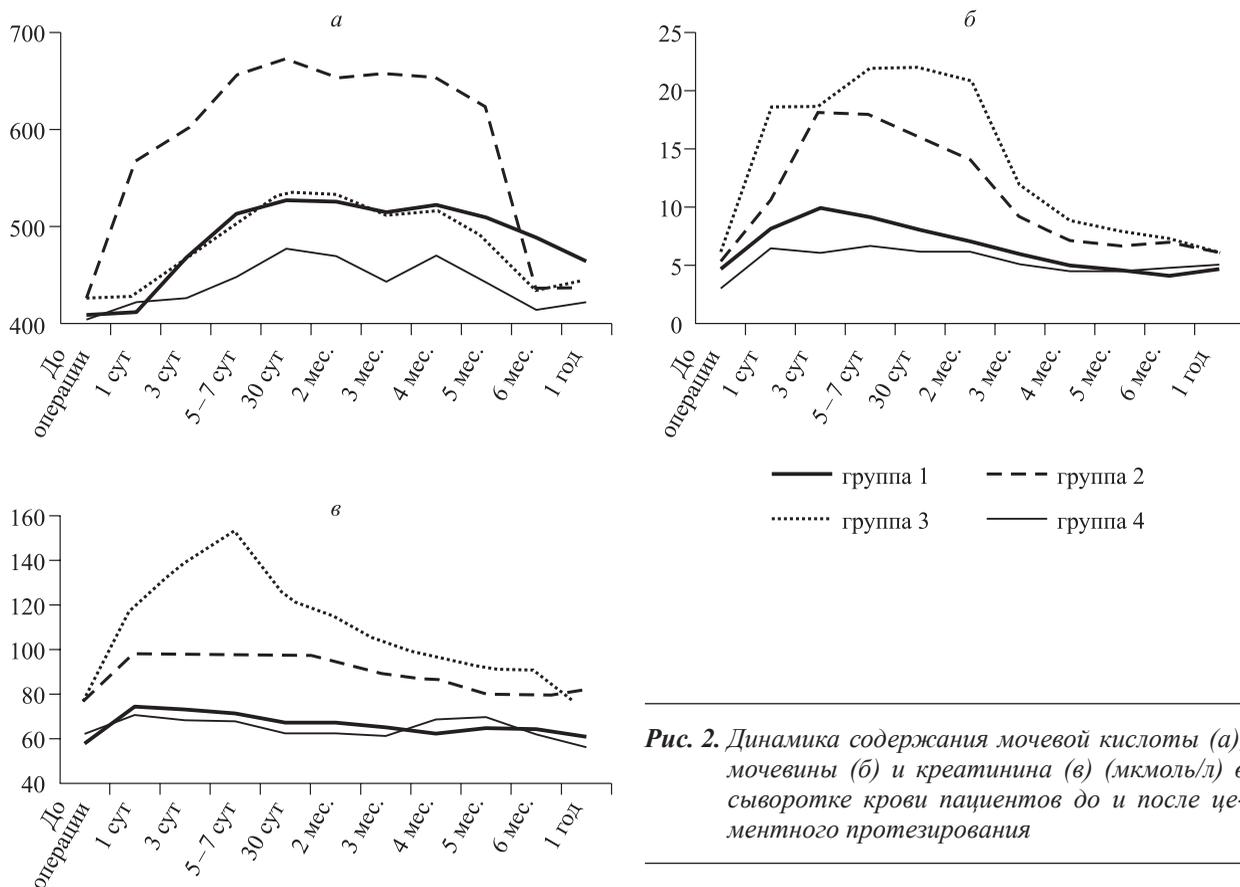


Рис. 2. Динамика содержания мочевой кислоты (а), мочевины (б) и креатинина (в) в сыворотке крови пациентов до и после цементного протезирования

операцию. В тот же период имеется лимфоцитарный провал (нет клеточного иммунитета), что также может определять длительность иммунной реакции организма.

Таким образом, закономерные изменения в динамике показателей острофазовых белков и внимательное изучение результатов общеклинического анализа могут служить основой наблю-

дения за восстановительным лечением в послеоперационном периоде, а также своевременно сигнализировать о возможных осложнениях и адекватности лечебного процесса. Проведенные наблюдения показывают необходимость тщательного подхода к предоперационному планированию для повторных операций или операций на контралатеральных пораженных суставах в

течение первого года. В данном случае необходимо учитывать особенности основного и часто сопутствующих заболеваний и, конечно, характер оперативного вмешательства, принципы послеоперационного ведения пациента. Это не всегда удается выполнить в поликлинических условиях хирургу или терапевту, а порой и ревматологу. Поэтому логично предположить необходимость создания новой специальности ревмоортопед. Специалист ведет пациента на поздних стадиях деформирующего остеоартроза, готовит к оперативному лечению, проводит реабилитацию и динамическое наблюдение.

ВЫВОДЫ

1. Воздействие костного цемента на организм носит комбинированный характер.

2. Присутствует синдром взаимного отягощения хирургического лечения и сопутствующей патологии.

3. Имеется патогенетическая взаимосвязь динамики острофазовых белков, показателей общеклинического анализа крови и реакции печени, почек.

4. «Костный цемент» оказывает токсическое действие на печень, наиболее выраженное в период с первых по третьи сутки и максимальное на 7 сутки. На 30 сутки остается повреждение отдельных гепатоцитов, что связано, по-видимому, с кумулятивным свойством препарата и формированием мелких очагов токсического гепатита.

5. Метилметакрилат оказывает токсическое действие на почечные клубочки и канальцы с образованием фибриновых тромбов, цилиндров и некрозов нефроцитов, наиболее выраженных на 7 сутки эксперимента и с постепенным снижением повреждения органа к концу эксперимента.

6. Учитывая данные эксперимента, печень наиболее уязвима до 7 суток эксперимента, а почки наиболее повреждаемы через неделю, что необходимо учитывать при эндопротезировании и ведении больных в послеоперационном периоде, особенно при наличии патологии указанных органов.

7. Длительно удерживаемое содержание острофазовых белков на высоком уровне определяет пролонгированную реакцию иммунной системы на агрессию.

8. Отмечается четкое различие показателей при цементном и бесцементном протезировании.

9. Изменения в динамике показателей острофазовых белков и результаты общеклинического анализа могут служить основой наблюдения за восстановительным лечением в послеоперационном периоде, а также своевременно сигнализировать о возможных осложнениях и адекватности лечебного процесса.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Клочков В.С., Шибут Д.С., Сарнацкий С.Ф. и др. Ошибки и осложнения эндопротезирования тазобедренного сустава тотальным бесцементным эндопротезом // Междунар. конгр. «Современные технологии в травматологии и ортопедии». М., 2004. 55–58.

2. Корнилов Н.В., Войтович А.В., Машков В.М., Энгштейн Г.Г. Хирургическое лечение дегенеративно-дистрофических поражений тазобедренного сустава. СПб., 1997.

3. Cucler J.M., Star A.M., Alavi A., Noto R.B. Diagnosis and management of the infected total joint arthroplasty // Orthop. Clin. North Am. 1991. 22. 523–530.

4. Delaunay C., Kapandji A. Survival analysis of cementless grit-blasted titanium total hip arthroplasties // J. Bone Joint Surg. Br. 2001. 83. (3). 408–413.

DYNAMICS OF LABORATORY PARAMETERS AND STRUCTURAL CHANGES IN LIVER AND KIDNEYS UNDER INTRAOSTEAL INTRODUCTION OF METHYL METHACRYLATE IN THE EXPERIMENT

**Valeriy Mikhaylovich PROKHORENKO^{1,2}, Alla Mikhaylovna ZAYDMAN¹,
Dmitriy Viktorovich ZHUKOV², Valentina Alexandrovna ZHUKOVA²,
Nina Vasilievna USTIKOVA¹**

¹ *Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopedics n.a. Ya.L. Tsivyan
630091, Novosibirsk, Frunze str., 17*

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

The research relevance has been determined by the lack of alternative to cement prosthetics as the main method of treatment and social rehabilitation of patients, the method co-occurring difficulties of planning and managing of patients, complications and need for their prediction and prevention. Knowledge on pathogenesis and dynamics of morphological changes occurring both in surgical exposure area and outside it as well as associated changes in blood laboratory parameters helps to develop new methods of the complications prediction.

Key words: arthroplasty, morphology, liver, kidney, laboratory parameters.

Prokhorenko V.M. – doctor of medical sciences, professor, deputy director for research and clinical work, head of the chair of traumatology and orthopaedics

Zaydman A.M. – doctor of medical sciences, professor, honored science worker of the RF, chief researcher of the laboratory experimental department

Zhukov D.V. – candidate of medical sciences, associate professor of the chair of traumatology and orthopaedics, email: zhukdv@ngs.ru

Zhukova V.A. – candidate of medical sciences, associate professor of pathological anatomy chair

Ustikova N.V. – doctor-rheumatologist

ФАРМАКОДИНАМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ КОМПЛЕКСА ВКЛЮЧЕНИЯ ПОЛИСАХАРИДА ЛИСТВЕННОЦЫ АРАБИНОГАЛАКТАНА С НАПРОКСЕНОМ

Сергей Алкисович БОРИСОВ¹, Михаил Владимирович ХВОСТОВ¹,
Татьяна Генриховна ТОЛСТИКОВА¹, Александр Валерьевич ДУШКИН²,
Юлия Сергеевна ЧИСТЯЧЕНКО²

¹ Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН
630090, г. Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 9

² Институт химии твердого тела и механохимии СО РАН
630128, г. Новосибирск, ул. Кутателадзе, 18

Цель исследования – оценить противовоспалительную и анальгетическую активность напроксена при комплексообразовании с арабиногалактаном. **Материал и методы.** В экспериментах использовали аутобредных мышей CD-1 обоих полов весом 25–35 г. Для исследования анальгетического действия использовали тесты «горячая пластина» и «уксусные корчи». Для изучения противовоспалительной активности использовали модель гистаминового отека лап мышей. **Результаты и их обсуждение.** Выявлено, что комплексообразование с арабиногалактаном способствует снижению эффективной анальгетической и противовоспалительной дозы напроксена в два раза.

Ключевые слова: формы доставки лекарств, комплекс включения, растительные полисахариды, арабиногалактан, нестероидные противовоспалительные средства, напроксен.

ВВЕДЕНИЕ

Напроксен (НАП) ((S)-6-метокси- α -метил-2-нафталинуксусная кислота) является одним из наиболее широко используемых нестероидных противовоспалительных средств (НПВС). По механизму действия он относится к неизбирательным ингибиторам циклооксигеназ 1 и 2, вследствие чего для него характерны побочные эффекты, присущие данной группе лекарственных средств (в основном, раздражающее влияние на слизистую оболочку желудка) [5]. При этом напроксен относится ко второй группе биофармацевтической системы классификации лекарственных средств, т. е. обладает низкой растворимостью в воде и вследствие этого низкой биодоступностью при пероральном приеме [16].

На сегодняшний день существует множество различных методов повышения биодоступности НПВС, в том числе напроксена. Один из перспективных подходов в данном направлении –

создание комплексов включения лекарственного вещества с арабиногалактаном (АГ). Арабиногалактан является нетоксичным сильно разветвленным полисахаридом, содержащимся в древесине лиственниц (*Larix sibirica* Ledeb. и *Larix occidentalis* Nutt.). В литературе известно, что он обладает иммуностимулирующими, гастропротекторными, мембранотропными и мукоадгезивными свойствами [2]. Было обнаружено, что благодаря сильному ветвлению в растворе АГ образует конгломераты с полостями, способными вмещать и удерживать в себе фармакон посредством различных нековалентных взаимодействий [7]. В ряде работ [6, 10, 20] показано, что такие комплексы включения значительно повышают эффективность и безопасность некоторых плохо растворимых лекарственных веществ (нифедипин, варфарин, альбендазол). Кроме того, ранее опубликованные данные по изучению фармакологических свойств комплексов АГ с представителями группы НПВС ацетилсалициловой кис-

Борисов С.А. – младший научный сотрудник, аспирант лаборатории фармакологических исследований, e-mail: sergalborisov@mail.ru

Хвостов М.В. – к.б.н., старший научный сотрудник, e-mail: mihail.hvostov@gmail.com

Толстикова Т.Г. – д.б.н., проф., зав. лабораторией фармакологических исследований, e-mail: tolstiktg@nioch.nsc.ru

Душкин А.В. – д.х.н., проф., ведущий научный сотрудник, зав. научной группой механохимии органических соединений, e-mail: dushkin@solid.nsc.ru

Чистяченко Ю.С. – младший научный сотрудник, e-mail: chistyachenko@gmail.com

лотой и ибупрофеном [11, 12] свидетельствуют о снижении эффективной противовоспалительной и анальгетической дозы этих фармаконов из-за значительного повышения их биодоступности в комплексе с АГ, что подтверждается результатами фармакокинетических исследований.

Таким образом, основываясь на имеющихся данных, целью данной работы является проведение фармакодинамических исследований комплекса напроксена с АГ.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследуемые соединения. В работе использовали следующие вещества: Напроксен (CAS 22204-53-1), Alfa Aesar, Арабиногалактан фармакопейный ФС 000905-190814 («Лавитол», ЗАО «Аметис»). Процесс получения межмолекулярных комплексов (массовое соотношение напроксен: арабиногалактан (НАП : АГ) 1 : 10) проводили при совместной обработке порошкообразных компонентов в мельницах-активаторах ВМ-1 с барабаном, имеющим фторопластовую футеровку. Режим обработки: ускорение мелющих тел – 1 г, общая загрузка компонентов обрабатываемой смеси – от 15 до 22 г, объем барабана – 300 мл, мелющие тела – стальные шары (марка стали ШХ-15, диаметр 22 мм, загрузка 675 г). Время обработки составляло от 1 до 24 ч. Полученные при этом межмолекулярные комплексы были исследованы, в первую очередь, на растворимость в воде, а также методами рентгенофазового (РФА) и термического анализа.

При проведении фармакологических исследований напроксен вводили в дозах 10 и 20 мг/кг, а комплекс НАП : АГ – в эквивалентных дозах 100 и 200 мг/кг. Вещества растворяли в дистиллированной воде (к НАП дополнительно добавляли Tween 80) и вводили внутривенно натощак.

Экспериментальные животные. В экспериментах использовали аутбредных мышей CD-1 обоих полов весом 25–35 г. Животные были получены из вивария ФИЦ Института цитологии и генетики СО РАН, и содержались в стандартных условиях вивария при свободном доступе к воде и гранулированному корму. После карантина животные были рандомизированы по весу и разделены на группы по 8 мышей одного пола. Работы с животными проводили в строгом соответствии с законодательством Российской Федерации, Приказом МЗ РФ № 708 Н от 28 августа 2010 г., ГОСТ 33044–2014 «Принципы надлежащей лабораторной практики» и положениями «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 1986).

Исследование физико-химических свойств комплексов. Рентгенофазовый анализ полученных продуктов проводили на дифрактометре ДРОН-4 с использованием CuK_α -излучения, скорость вращения счетчика 2 град/мин, $I = 1000$.

Термический анализ исследуемых образцов проводился методом дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК) с помощью прибора DSC-550 (Instrument Scientific Specialists Inc., USA) в атмосфере Ar. Температурная программа: +20...+250 °С, скорость нагрева 100 °С/мин.

Для определения растворимости напроксена навески индивидуального вещества и комплексов в количестве 0,02 г по напроксену растворялись в 10 мл дистиллированной воды при перемешивании в шейкере-инкубаторе (37 °С, 200 об/мин) в течение 3 ч. Во всех случаях лекарственное вещество (ЛВ) в растворе находилось в равновесии с осадком нерастворившегося ЛВ. Концентрации ЛВ в растворе определяли методом ВЭЖХ на хроматографе Agilent 1200 с колонкой Zorbax Eclipse XDB-C18, 4,6 × 50 мм; температура колонки 30 °С; детектор диодно-матричный. В качестве элюента применяли систему ацетонитрил – ацетатный буфер pH 3,4 (55:45), скорость потока – 0,8 мл/мин, объем пробы – 5 мкл, детектирование на длине волны 230,8 нм. Концентрации ЛВ определялись относительно его специально приготовленных спиртовых растворов.

Фармакологические модели и тесты. «Горячая пластина» [3]. Горячая пластина является моделью термического болевого раздражения. Через час после введения агентов животное помещали на нагретую до 54 °С металлическую пластину и фиксировали латентное время болевой реакции до первого облизывания мышью задней лапы либо до прыжка. Анальгетическую активность представляли в виде среднего значения латентного времени болевой реакции по группе.

«Укусные корчи» [15]. Укусные корчи представляют собой модель химической висцеральной боли. Через час после введения агентов мышам вводили внутривенно 0,75 % укусную кислоту из расчета 0,1 мл/10 г веса. Через 5 мин после введения укусной кислоты в течение трех минут измеряли количество корчей. Корчи являются специфическими болевыми реакциями, выражающимися в вытягивании животным задних лап и прогибом спины. Анальгетическая активность была представлена в виде среднего количества корчей для каждой группы.

«Гистаминовый отек» [4]. Через час после введения исследуемых веществ мышам под апоневроз левой задней лапы вводили 0,05 мл 1%-го раствора гистамина. По прошествии 5 ч после введения флогогена животных умерщвляли пу-

тем дислокации позвоночника, отрезали их задние лапы по линии запястного сустава и измеряли их массу. Противовоспалительную активность представляли в виде среднего для каждой группы значения процента отека лап. Процент отека рассчитывали для каждой мыши по формуле

$$ПО = \frac{m_{вл} - m_{кл}}{m_{кл}} \times 100 \%,$$

где ПО – процент отека; $m_{кл}$ – масса контрольной лапы; $m_{вл}$ – масса воспаленной лапы.

Статистическая обработка. Статистическую обработку данных проводили в программе Statistica 7.0 с применением t-критерия Стьюдента и u-критерия Манна–Уитни для оценки достоверности различий. Данные представлены в формате: среднее значение ± стандартная ошибка среднего (SEM).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование физико-химических свойств комплексов. В результате механохимической обработки интенсивность рефлексов РФА и пиков плавления ДСК (рис. 1), а также теплота плавления (табл. 1) напроксена существенно уменьшаются. Из этих данных следует, что происходит частичная потеря кристалличности твердой фазы напроксена в механически обработанной композиции НАП : АГ. Это подтверждается снижением теплоты плавления напроксена в комплексе, тогда как этот показатель при простом смешивании компонентов без механохимической обработки (физ. смесь) не отличается от напроксена (см. табл 1).

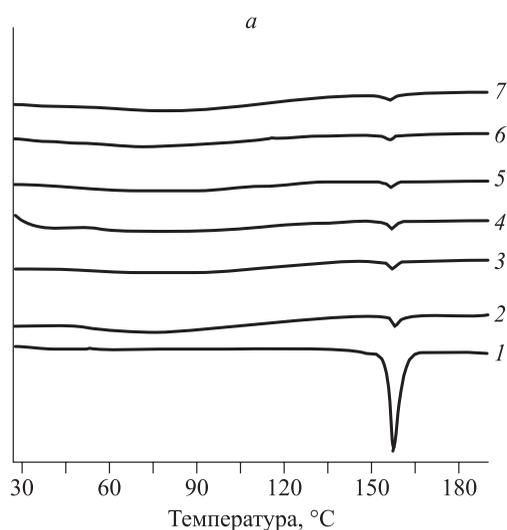


Таблица 1
Изменение удельной теплоты плавления напроксена в смеси и комплексе с арабиногалактаном

Образец	Температура плавления, °С	Теплота плавления, нормированная на количество напроксена в навеске, кДж/моль
Напроксен	157	30
НАП : АГ 1 : 10 физическая смесь	157	25
НАП : АГ 1 : 10 комплекс	156	18

Таблица 2

Растворимости напроксена в чистом виде и из его смеси и комплекса с АГ, определенные методом ВЭЖХ

Образец	Растворимость, г/л	Содержание напроксена по отношению к теоретическому, %
Напроксен	0,07	100
НАП : АГ 1 : 10 физическая смесь	0,08	101
НАП : АГ 1 : 10 комплекс	0,1	98

Исследование растворимости в воде исходной субстанции ЛВ и комплекса показало, что наблюдается изменение этого показателя при комплексообразовании с АГ и отсутствие его при простом смешении НАП и АГ (табл. 2). Наблюдаемое увеличение растворимости ЛВ находится в

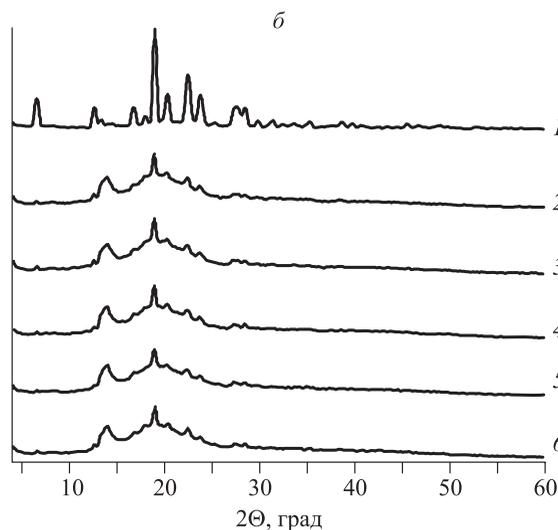


Рис. 1. а – термограммы ДСК: 1 – НАП, 2 – НАП : АГ 1 : 10 физическая смесь (без обработки в шаровой мельнице), 3 – НАП : АГ 1 : 10, обработанный в шаровой мельнице ВМ-1 в течение (ВМ) 2 ч, 4 – НАП : АГ 1 : 10 ВМ 4 ч, 5 – НАП : АГ 1 : 10 ВМ 8 ч, 6 – НАП : АГ 1 : 10 ВМ 16 ч, 7 – НАП : АГ 1 : 10 ВМ 24 ч; б – рентгенограммы: 1 – НАП, 2 – НАП : АГ 1 : 10 ВМ 2 ч, 3 – НАП : АГ 1 : 10 ВМ 4 ч, 4 – НАП : АГ 1 : 10 ВМ 8 ч, 5 – НАП : АГ 1 : 10 ВМ 16 ч, 6 – НАП : АГ 1 : 10 ВМ 24 ч

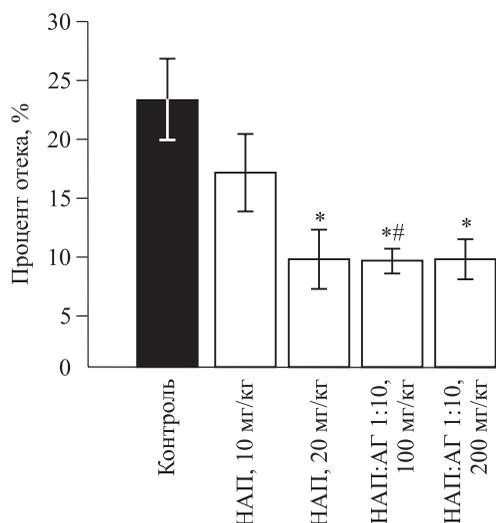


Рис. 2. Результаты изучения противовоспалительного действия НАП и комплекса НАП : АГ на модели гистаминового отека. * – $p \leq 0,05$ относительно контроля; # – $p \leq 0,05$ относительно группы «НАП, 10 мг/кг»

пределах точности эксперимента. В целом, полученные данные являются доказательством образования межмолекулярных комплексов НАП и АГ.

Изучение противовоспалительного действия. Комплекс НАП : АГ проявил достоверный противовоспалительный эффект в обеих используемых дозах (100 и 200 мг/кг) (рис. 2). С другой стороны, чистый НАП имел сходное действие лишь в большей из двух эквивалентных доз (20 мг/кг).

Из этих данных можно сделать вывод, что образование комплекса НАП с АГ способствовало

сохранению противовоспалительного эффекта при снижении вводимой дозы НАП в 2 раза. Кроме того, полученные результаты полностью соответствуют ранее опубликованным данным [11, 12] по изучению противовоспалительной активности комплексов АГ с другими противовоспалительными средствами – ацетилсалициловой кислотой и ибупрофеном, где снижение эффективной противовоспалительной дозы данных веществ при образовании комплекса включения с АГ было подтверждено.

Изучение анальгетического действия. «Горячая пластина». Эффект чистого НАП имел дозозависимый характер, при этом достоверно отличалось от контроля только латентное время болевой реакции у животных, которым вводили НАП в дозе 20 мг/кг (рис. 3). В то же время комплекс НАП : АГ достоверно увеличил латентное время болевой реакции в обеих используемых дозах (100 и 200 мг/кг).

«Укусные корчи». В тесте на висцеральную химическую ноцицепцию было обнаружено, что статистически значимое снижение количества корчей наблюдается в группах комплекса НАП : АГ в дозах 100 и 200 мг/кг и чистого НАП в дозе 20 мг/кг (см. рис. 3). В дозе 10 мг/кг НАП значимого анальгетического действия не проявлял.

Результаты тестов на болевую чувствительность «горячая пластина» и «укусные корчи» аналогичны данным, полученным в экспериментах по изучению противовоспалительного действия комплекса НАП : АГ. Сохранение анальгетического эффекта при двукратном снижении

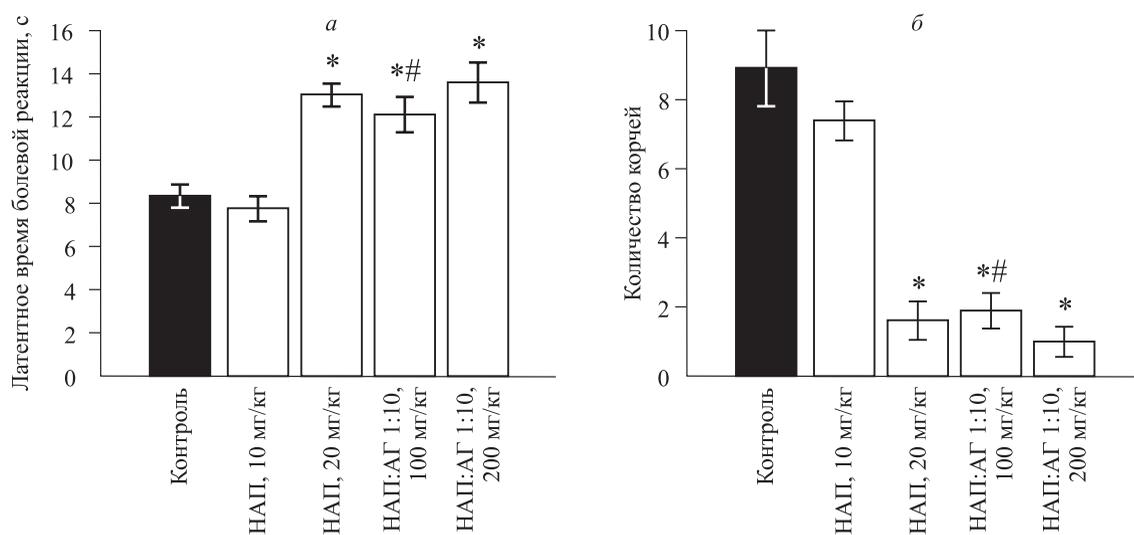


Рис. 3. Результаты изучения анальгетического действия НАП и комплекса НАП : АГ в тестах «горячая пластина» (а) и «укусные корчи» (б). * – $p \leq 0,05$ относительно контроля; # – $p \leq 0,05$ относительно группы «НАП, 10 мг/кг»

вводимой дозы было подтверждено для комплекса НАП с АГ, в отличие от чистого НАП в эквивалентных дозах. Опубликованные ранее данные [11, 12] о способности АГ снижать эффективную анальгетическую дозу ацетилсалициловой кислоты и ибупрофена при образовании с ними комплексов включения согласуются с полученными результатами.

В целом, уменьшение эффективной дозы лекарства является одним из главнейших признаков увеличения биодоступности ЛВ при пероральном приеме. Для комплексов АГ с НПВС такая зависимость была подтверждена в работе [12] по определению фармакодинамического и фармакокинетического профиля комплекса ибупрофена с АГ. Существует ряд гипотез о том, какие механизмы лежат в основе способности АГ увеличивать растворимость и биодоступность липофильных веществ. Конгломераты АГ имеют определенную схожесть по структуре и характеру связей, образуемых с ЛВ в их полостях, с комплексами включения на основе циклических полисахаридов циклодекстринов [17]. Известно, что такие комплексы с циклодекстринами обладают способностью облегчать проникновение липофильных лекарственных веществ через водно-диффузионный барьер на поверхности кишечного эпителия, тем самым доставляя лекарственное средство непосредственно к мембране клетки, где оно беспрепятственно всасывается [1, 9, 14]. Опубликованные ранее данные об увеличении растворимости в воде ряда плохо растворимых веществ после образования комплекса с АГ подтверждает данную гипотезу [7, 17]. Кроме того, из литературы известно, что многие природные полисахариды оказывают ингибирующее действие на Р-гликопротеиновый насос, белок, экспрессирующийся на мембранах многих клеток, в том числе клеток эпителия кишечника, основная функция которого заключается в удалении ксенобиотиков из клетки [8, 13, 18, 21]. Так как большинство ЛВ являются ксенобиотиками, Р-гликопротеиновый насос значительно затрудняет попадание фармакона в кровь, что сильно ограничивает его биодоступность при пероральном приеме. Определенное структурное сходство АГ с этими полисахаридами позволяет предположить, что он обладает схожей активностью, благодаря чему улучшает биодоступность ЛВ в комплексе.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в результате проведенных экспериментов было показано, что образование комплекса с арабиногалактаном способствует

снижению эффективной противовоспалительной и анальгетической дозы НАП в 2 раза. Исходя из имеющихся литературных данных по другим аналогичным комплексам с АГ есть основания предполагать, что снижение эффективной дозы НАП происходит из-за увеличения его биодоступности. Тем не менее для подтверждения данной гипотезы необходимо в дальнейшем провести фармакокинетические исследования указанного комплекса.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Душкин А.В., Чистяченко Ю.С., Комаров Д.А., Хвостов М.В., Толстикова Т.Г., Журко И.Ф., Кирилук И.А., Григорьев И.А., Ляхов Н.З. О механизме увеличения мембранной проницаемости веществ из их межмолекулярных комплексов с полисахаридом арабиногалактаном из лиственниц *Larix sibirica* и *Larix gmelinii* // ДАН. 2015. 460. (1). 107–110.
2. Медведева Е., Бабкин В., Остроухова Л. Арабиногалактан лиственницы – свойства и перспективы использования (обзор) // Химия растительного сырья. 2003. 1. 27–37.
3. Миронов А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М.: Гриф и К, 2013. 944 с.
4. Тринус Ф.Н., Мохорт Н.А., Клебанов Б.М. Методы скрининга и фармакологического изучения противовоспалительных, анальгезирующих и жаропонижающих веществ (методические рекомендации). Киев: Здоров'я, 1974. 1–27.
5. Calija B., Ceki'c N., Savi'c S., Daniels R., Markovi'c B., Mili'c J. pH-sensitive microparticles for oral drug delivery based on algininate/oligochitosan/Eudragit®L100-55 «sandwich» polyelectrolyte complex // Colloid. Surface B. 2013. (110) 395–402.
6. Chistyachenko Y.S., Meteleva E.S., Pakharukova M.Y., Katokhin A.V., Khvostov M.V., Varlamova A.I., Glamazdin I.I., Khalikov S.S., Polyakov N.E., Arkhipov I.A., Tolstikova T.G., Mordvinov V.A., Dushkin A.V., Lyakhov N.Z. A Physicochemical and Pharmacological Study of the Newly Synthesized Complex of Albendazole and the Polysaccharide Arabinogalactan from Larch Wood // Curr. Drug. Deliv. 2015. (12). 477–490.
7. Dushkin A., Tolstikova T., Khvostov M., Tolstikov G. Complexes of Polysaccharides and Glycyrrhizic Acid with Drug Molecules – Mechanochemical Synthesis and Pharmacological Activity // The Complex World of Polysaccharides. Croatia: InTech. 2012. 573–602.
8. Föger F., Kafedjiiski K., Hoyer H., Loretz B., Bernkop-Schnürch A. Enhanced transport of P-glycoprotein substrate saquinavir in presence of thiolated chitosan // J. Drug. Target. 2007. 15. (2). 132–139.
9. Gamsiz E.D., Miller L., Thombre A.G., Ahmed I., Carrier R.L. Modeling the Influence of Cyclodextrins

- on Oral Absorption of Low Solubility Drugs: II. Experimental Validation // *Biotechnol. Bioeng.* 2010. 105(2). 421–430.
10. *Khvostov M.V., Chernonosov A.A., Tolstikova T.G., Kasakin M.F., Fedorova O.S., Dushkin A.V.* Effect of Complexation with Arabinogalactan on Pharmacokinetics of «Guest» Drugs in Rats: For Example, Warfarin // *Biomed. Res. Int.* 2013. 1–4.
11. *Khvostov M.V., Tolstikova T.G., Borisov S.A., Zhukova N.A., Dushkin A.V., Chistyachenko Y.S., Polyakov N.E.* Improving the Efficiency and Safety of Aspirin by Complexation with the Natural Polysaccharide Arabinogalactan // *Curr. Drug Deliv.* 2016. (12). 582–589.
12. *Khvostov M.V., Borisov S.A., Dushkin A.V., Tsyrenova B.D., Chistyachenko Y.S., Polyakov N.E., Dultseva G.G., Onischuk A.A., Tolstikova T.G., An'kov S.V.* Supramolecular complex of ibuprofen with Larix polysaccharide arabinogalactan: synthesis, characterization, pharmacological and pharmacokinetic study // *Eur. J. Drug Metab. Ph.* 2017. (42). 431–440.
13. *Li W.D., Zhang B.D., Wei R., Liu J.H., Lin Z.B.* Reversal effect of Ganoderma lucidum polysaccharide on multidrug resistance in K562/ADM cell line. // *Acta Pharmacol. Sin.* 2008. 29. (5). 620–627.
14. *Loftsson T., Vogensen S., Brewster M., Dottir F.* Effects of cyclodextrins on drug delivery through biological membranes // *J. Pharmaceut. Sci.* 2007. (96). 2532–2546.
15. *Morozova E.A., Tolstikova T.G., Bolkunov A.V., Dolgikh M.P., Shul'ts E.E.* Analgesic properties of new pyrrolidinomorphinane derivatives: Revealing potential pathways // *Nat. Prod. Commun.* 2008. 3. (10). 1621–1624.
16. *Nagabandi V., Chandragiri A.K., Thota S., Katakam P.* Enhancement of Dissolution Rate of Naproxen by Lipid Based Solid Dispersions // *J. Pharm. Sci. & Res.* 2014. 6. (2). 78–82.
17. *Polyakov N.E., Leshina T.V., Meteleva E.S., Dushkin A.V., Konovalova T.A., Kispert L.D.* Water Soluble Complexes of Carotenoids with Arabinogalactan // *J. Phys. Chem. B.* 2009. (113). 275–282.
18. *Tian Q.E., Li H.D., Yan M., Cai H.L., Tan Q.Y., Zhang W.Y.* Effects of Astragalus polysaccharides on P-glycoprotein efflux pump function and protein expression in H22 hepatoma cells *in vitro* // *BMC Complem. Altern. M.* 2012. 12. (94). 1–10.
19. *Tolstikova T., Khvostov M., Bryzgalov A., Dushkin A., Tolstikov G.* Arabinogalactan, a plant polysaccharide, as a new tool for pharmacon clathration // *Dokl. Biol. Sci.* 2010. (433). 247–248.
20. *Tolstikova T.G., Khvostov M.V., Tolstikov G.A.* Complexes of polysaccharides and glycyrrhizic acid with drug molecules. mechanochemical synthesis and pharmacological activity // *The Complex World of Polysacchraids* / ed. by Dr. D.N. Karunaratn. Publisher: InTech., 2012. 573–602.
21. *Yu X., Yang G., Shi Y., Su C., Liu M., Feng B., Zhao L.* Intracellular targeted co-delivery of shMDR1 and gefitinib with chitosan nanoparticles for overcoming multidrug resistance // *Int. J. Nanomed.* 2015. (10). 7045–7056.

PHARMACODYNAMIC STUDY OF INCLUSION COMPLEXES OF LARCH POLYSACCHARIDE ARABINOGALACTAN WITH NAPROXEN

Sergey Alkisevich BORISOV¹, Mikhail Vladimirovich KHVOSTOV¹,
Tatyana Genrikhovna TOLSTIKOVA¹, Alexandr Valerievich DUSHKIN²,
Yulia Sergeevna CHISTYACHENKO²

¹*N.N. Vorozhtsov Novosibirsk Institute of Organic Chemistry of SB RAS,
630090. Novosibirsk, Academician Lavrentiev av., 9*

²*Institute of Solid State Chemistry and Mechanochemistry of SB RAS,
630128, Novosibirsk, Kutateladze str., 18*

Aim of the study – to evaluate the impact of inclusion complex formation with arabinogalactan on the anti-inflammatory and analgesic activity of naproxen. **Material and methods.** The outbred CD-1 mice with weight 25–35 g. were used in experiments. The hot plate test and the acetic acid writhing test were performed to investigate the analgesic action. The model of the histamine-induced hind paw edema in mice was carried out in order to study the anti-inflammatory activity. **Results and discussion.** It was shown that the formation of inclusion complexes with arabinogalactan facilitates the decreasing of the effective analgesic and anti-inflammatory doses of naproxen by two times.

Key words: drug delivery systems, inclusion complex, natural polysaccharides, arabinogalactan, non-steroidal anti-inflammatory drugs, naproxen

*Borisov S.A. – junior researcher, postgraduate student in the laboratory of pharmacological investigations,
e-mail: sergalborisov@mail.ru*

Khvostov M.V. – candidate of biological sciences, senior researcher, e-mail: mihail.hvostov@gmail.com

*Tolstikova T.G. – doctor of biological sciences, professor, head of the laboratory of pharmacological investigations,
e-mail: tolstiktg@nioch.nsc.ru*

*Dushkin A.V. – doctor of chemical sciences, professor, head of the scientific group of mechanochemistry
of organic compounds, e-mail: dushkin@solid.nsc.ru*

Chistyachenko Yu.S. – junior researcher, e-mail: chistyachenko@gmail.com

ЭПИГЕНЕТИКА И СПОСОБЫ ЕЕ РЕАЛИЗАЦИИ

Андрей Геннадьевич ЩУКО^{1,2}, Алексей Александрович ВЕСЕЛОВ¹,
Татьяна Николаевна ЮРЬЕВА^{1,2}, Наталья Васильевна ВОЛКОВА^{1,2},
Геннадий Анатольевич ШАБАНОВ³, Александр Алексеевич РЫБЧЕНКО³,
Татьяна Васильевна ПОЧТАРЕНКО¹

¹ Иркутский государственный медицинский университет Минздрава России
664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1

² МНТК «Микрохирургия глаза» им. академика С.Н. Федорова Минздрава России,
Иркутский филиал
664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 337

³ Научно-исследовательский центр «Арктика» ДВО РАН
690022, г. Владивосток, ул. Кирова, 95

Рассмотрены наиболее актуальные аспекты, связанные с эпигенетической составляющей регуляции генной экспрессии. Уделено внимание развитию представлений об эпигенетике как об отдельной области знаний о функционировании генов и как о неотъемлемой части классической генетики. Освещены понятия эпигенома и эпигенетического репрограммирования. Рассмотрены наиболее известные молекулярные механизмы эпигенетической регуляции генной функции. Подчеркнута важность исследований в области эпигенетики для развития науки и медицины.

Ключевые слова: эпигенетика, экспрессия, эпигеном, парамутация, метилирование ДНК, импринтинг.

Одним из нераскрытых вопросов современной генетики являются механизмы временно-го и пространственного контроля активности генов в процессе развития организмов. До сих пор остается спорной и противоречивой информация о главенствующей роли генов в процессе онтогенеза, морфогенеза, регулирования всех клеточных функций, включая экспрессию самих же генов, обусловленности всего набора признаков и свойств организма. На сегодняшний день генетический код человека уже фактически не содержит нерасшифрованных последовательностей. Как выяснилось, совокупность наследственного материала, т. е. геном живого организма, содержит информацию о суммарном наборе протеомов всех его клеток. Однако живая клетка со всем многообразием ее функциональных особенностей не ограничивается присутствием в ней

генного материала. Имеется множество молекул, сложных межмолекулярных взаимодействий, не регулируемых генами [11].

Согласно современным представлениям, протеом представляет собой совокупность экспрессированных белков в данном типе клеток или в организме, в данный период времени при данных условиях [67]. Такими условиями могут быть действие гормонов, стресс и различные внешние раздражители. Другими словами, протеомы одной и той же клетки или суммарные протеомы организма в разные отрезки времени и при различных внешних условиях будут различаться. Следовательно, процессы считывания генетической информации и экспрессии генов являются динамическими и подчинены определенным закономерностям. Данные процессы выходят за границы классического представления о

Щуко А.Г. – д.м.н., проф., зав. кафедрой глазных болезней, директор

Веселов А.А. – к.м.н., доцент кафедры глазных болезней, e-mail: Magicjack@mail.ru

Юрьева Т.Н. – д.м.н., проф., зам. директора по научно-исследовательской работе, проф. кафедры глазных болезней

Волкова Н.В. – к.м.н., доцент кафедры глазных болезней, зав. научно-образовательным отделом

Шабанов Г.А. – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории экологической нейрокибернетики, e-mail: neurokib@mail.ru

Рыбченко А.А. – д.т.н., директор лаборатории экологической нейрокибернетики, e-mail: neurokib@mail.ru

Почтаренко Т.В. – ассистент кафедры глазных болезней

функционировании генов. В связи с этим взгляды ученых устремились к совершенно новой и малоизученной области знаний – эпигенетике. Данный термин был введен К. Уодингтоном в 40-х гг. прошлого столетия специально для обозначения процесса реализации генетической информации в индивидуальном развитии. Однако по ряду причин он использовался генетиками редко, поскольку механизмы этого явления были малоизученными. «Геноцентрическая» концепция взглядов, долгое время принимаемая классической генетикой, утверждала, что фенотип организма предопределен уникальным набором генов. В свою очередь генный материал консервативен, и изменения в нем носят случайный и ненаправленный характер. Неизменность генетического материала рассматривалась как основа устойчивости видов живых организмов, а мутации – как основа образования новых видов. Знаменитая фраза Дж. Уотсона – «мы – это наши гены» – наиболее полно отражает данную концепцию [18].

В свою очередь, эпигенетика предполагает более широкое представление о развитии организма и функционировании генома и рассматривает гены и окружающую среду комплексно, как две неразрывно функционирующие системы, и объясняет такие биологические явления, как пластичность развития и образование множества фенотипов на основе одного генотипа.

Сегодня, благодаря серьезным достижениям в исследовании молекулярных механизмов регуляции действия генов, термин «эпигенетика» обрел новую жизнь. Наиболее широкое определение дано К. Уодингтоном, который понимал под эпигенетикой «ветвь биологии, изучающую причинные взаимодействия между генами и их продуктами, образующими фенотип». Позднее термин претерпел изменения благодаря Р. Холлидею, который определил эпигенетику как «механизмы временного и пространственного контроля генной активности в сложных организмах» [3]. Однако спектр проблем генной регуляции оказался настолько велик, что охарактеризовать их с частных позиций и узких представлений только лишь молекулярных механизмов оказалось достаточно проблематично. Тем не менее наиболее закрепившееся и принятое на сегодняшний день понятие об эпигенетике представляется как наследуемые изменения в генной экспрессии, не связанные с изменениями последовательности ДНК как в митозе, так и между поколениями. При этом вся сумма эпигенетических трансформаций понимается как эпигеном, модулятором которого служит окружающая среда, представляющая более существенную роль в генной регуляции, нежели сами гены. Эпигеном может

рассматриваться как некий посредник между статичным геномом и постоянно меняющейся средой [14, 21].

Данная концепция предоставляет возможность расширить устоявшиеся взгляды о роли взаимодействия внешней среды и генов в процессе развития восприимчивости к многим заболеваниям и выдвинуть на первый план роль эпигенетического репрограммирования – процесса, при помощи которого генотип организма взаимодействует с окружающей средой, образуя фенотип [62]. Таким образом, можно объяснить разнообразие, индивидуальные колебания, уникальность тканей и органов, присущих организму при строго детерминированной генетической информации.

На сегодняшний день известно немало молекулярных механизмов эпигенетического репрограммирования, к которым можно отнести метилирование ДНК, а также процессы, приводящие к изменению состояния хроматина (связанные с модификацией гистонов и другими молекулярными событиями), некодирующие РНК [14, 52]. Немаловажным и открытым сравнительно недавно факторам эпигенетического репрограммирования являются пространственная организация ядра, X-хромосомная инактивация, генный импринтинг, мозаичный эффект положения, парамутации, моноаллельная экспрессия и многие другие [15]. Именно эти молекулярные изменения способны поддерживать в разных тканях и органах те особенности экспрессии генов, которые придают им все необходимые свойства и отличают одни ткани и органы от других.

Метилирование ДНК представляет собой модификацию молекулы ДНК без изменения ее нуклеотидной последовательности, что можно рассматривать как часть эпигенетической составляющей генома. У человека метилирование ДНК заключается в присоединении метильной группы к цитозину в составе CpG-динуклеотида в позиции C5 цитозинового кольца с образованием 5-метилцитозина при помощи специфических ферментов [19]. Таким образом, изменяется структура хроматина определенного локуса хромосомы, что приводит к торможению экспрессии генов без его структурного нарушения. Как известно, метилирование ДНК контролирует большое количество генетических механизмов в клетке – репликацию, транскрипцию, репарацию ДНК, рекомбинацию, транспозиции генов, а также является механизмом дифференцировки клеток и тканей, дискриминации и репрессии генов. Также метилирование ДНК выполняет и защитную функцию – препятствует экспрессии экзогенных вирусных и других вредоносных по-

следовательностей ДНК. В случаях полного прекращения метилирования ДНК останавливается и клеточное деление, включается апоптоз, происходит гибель организма. Кроме того, так называемое метилирование «поддерживающего типа» способствует сохранению клеточной памяти о работе промоторных участков генов от одного митоза к другому с целью сохранения функции клеток в ряду поколений. Данный процесс получил название «генетический букмаркинг» [7, 19].

Нарушение процесса метилирования, как правило, приводит к развитию различных патологических состояний. Согласно современным представлениям, эпигенетическая регуляция активности генов с аномальным метилированием цитозина в промоторных зонах является причиной ряда онкологических и генетических болезней [7]. Таким образом, исследования эпигенетической регуляции экспрессии генов в генетической патологии приобретают как научное, так и практическое значение.

Другим механизмом эпигенетической регуляции является ковалентная модификация ядерных белков-гистонов. В настоящее время известны различные виды модификаций: метилирование, фосфорилирование, рибозилирование, убиквитинирование, ацетилирование, которые происходят в посттранскрипционной фазе и главным образом в аминокислотных остатках лизина, аргинина и треонина. Данные биохимические процессы катализируются и регулируются соответствующими ферментами и гормонами. Механизм изменения генной активности связан с модификацией упаковки ДНК в нуклеосомах, т. е. степени ее прилегания к белковым субъединицам. Соответственно, от насыщенности гистоновых мономеров остатками фосфорной или уксусной кислоты, рибозы или небольшого консервативного белка убиквитина зависит степень «компактности» упаковки ДНК, от которой в свою очередь зависит степень вероятности транскрипции определенных участков генома [18]. Подобные вариации структурной организации хроматина, определяющие активность генов, без изменения нуклеотидной последовательности получили название эпимутаций. Однако, в отличие от истинных мутаций, эпимутации являются прямым следствием воздействия факторов внешней среды. Это в свою очередь представляет большую опасность для организма, который вынужден адаптироваться к данным влияниям, что достигается за счет регуляции экспрессии генов теми же эпигенетическими механизмами. По некоторым предположениям, частота эпимутаций может на один–два порядка превышать частоту генных мутаций [62], а, следовательно, их вклад в наследственную из-

менчивость, в том числе и у человека, пока остается недооцененным.

Открытые и сравнительно недавно изученные некодирующие микроРНК также являются регуляторами генной экспрессии и, следовательно, также относятся к важным механизмам эпигенетического действия. МикроРНК – класс малых, не кодирующих белок РНК, которые осуществляют посттрансляционную регуляцию в качестве отрицательных факторов экспрессии генов [23]. В настоящее время известно более 30 000 некодирующих РНК [40]. Предполагается, что они «управляют» избирательной посадкой репрессорных комплексов на определенные участки хроматина, а также направляют ДНК-метилтрансферазы, тем самым избирательно инактивируя определенные участки генома, и, возможно регулируют избирательное метилирование ДНК [53]. МикроРНК могут функционировать и как опухолевые супрессоры, и как онкогены [22].

Особый интерес в последнее время вызывает обнаружение роли в эпигенетических процессах так называемой интерферирующей РНК. РНК-интерференция представляет собой подавление экспрессии генов с помощью двухцепочечной РНК. Молекулы двухцепочечной РНК (дцРНК) представляют собой две спаренные комплементарные друг другу цепи РНК. Длинные молекулы дцРНК «нарезаются» в клетке на более короткие siРНК при помощи рибонуклеазы. Далее siРНК объединяется в комплекс со специфическим белком Аргонавт (Argonaut), в составе которых находится в клетке комплементарные ей молекулы матричной РНК (мРНК). Аргонавт разрезает молекулы мРНК-мишени, в результате чего останавливается трансляция мРНК на рибосоме [23].

Большое количество дискуссий вызвала сравнительно недавно выявленная роль пространственной организации ядра, а точнее, его генного материала, в механизмах эпигенетического регулирования. Коллектив ученых показал, что геном, записанный пока в одномерном варианте, на самом деле трех- или даже четырехмерен, при этом ДНК в клеточном ядре упакована по фрактальному принципу. Этим термином обозначают геометрическую фигуру, обладающую свойством самоподобия – объект, в точности или приближенно совпадающий с частью себя самого (т. е. целое имеет ту же форму, что и одна или более частей). Такой способ упаковки предохраняет нити ДНК от запутывания и образования узлов. Упаковка ДНК динамично меняется в ходе жизненного цикла клетки, а также под воздействием внешних и внутренних факторов, т. е. участвует в механизмах надгенетического регулирования считывания

генной информации. Как показали исследования, важную роль в формировании пространственной структуры ядра выполняет ядерный матрикс. Освещена его роль в поддержании специфических радиальных позиций так называемых хромосомных территорий внутри клеточного ядра [58]. Кроме того, доказано непосредственное участие ядерного матрикса в организации активаторных хроматиновых блоков, специфических промоторов генов, регулирующих транскрипцию [35].

Предложенный в 1970-х годах петельно-доменный принцип компактизации хроматина [26] предусматривал наличие так называемых функционально активных, т. е. транскрибируемых участков хроматиновых петель или функциональных доменов, а также неактивных участков, нечувствительных к действию ДНКазы 1 [61]. Российским институтом биологии гена проведены масштабные исследования в этом направлении. Изучены основные принципы организации регуляторных систем в хроматиновых доменах, а также механизмы, контролирующие дифференциальную экспрессию тканеспецифичных генов в них [27, 43, 59, 65]. В частности, продемонстрирована важная роль пространственной организации домена в контроле экспрессии расположенных в нем генов [34]. Показано, что домены открытого типа могут расширяться, включая в свой состав дополнительные гены и регуляторные элементы [33].

Еще один яркий пример эпигенетического регулирования представляет инактивация X-хромосомы – процесс, при котором в раннем эмбриогенезе самок млекопитающих одна из двух X-хромосом становится транскрипционно неактивной. Японский ученый-генетик Сусуму Оно в 1959 г. обнаружил, что одна из двух X-хромосом у самок вела себя как аутосома, а другая находилась в состоянии гетерохроматина [57]. Инактивация X-хромосомы происходит в клетках самок млекопитающих для того, чтобы с двух копий X-хромосом не образовывалось вдвое больше продуктов соответствующих генов, чем у самцов. Такой процесс называется дозовой компенсацией генов. Примечательно, что выключению (сайленсированию) подвергаются не все гены в X-хромосоме. Примерно 15 % генов остаются активными, при этом возможна выборочная экспрессия одних генов и репрессия других.

Показано наличие на X-хромосомах специфического участка, названного центром инактивации X-хромосомы – ХИС (от англ. X-inactivation center) [56]. Транслокация участка хромосомы, содержащего ХИС, на аутосому приводит к инактивации последней, в то время как X-хромосомы, не имеющие ХИС, остаются активными. ХИС

представляет собой ген, носящий название XIST (X-inactivation specific transcript) и кодирующий молекулу длинной некодирующей РНК, который опосредует специфическую инактивацию той X-хромосомы, с которой он был транскрибирован [38]. Экспериментальными исследованиями было подтверждено, что искусственное встраивание гена XIST в другие хромосомы, в том числе и в аутосомы, и последующий запуск его экспрессии приводит к инактивации данных хромосом [39, 48]. Исследование процесса инактивации X-хромосомы выявило новые молекулярные механизмы сайленсинга. Инактивация начинается с экспрессии XIST и запуска процесса транскрипции специфической длинной некодирующей РНК, которая покрывает всю X-хромосому [39]. Впоследствии данная, уже неактивная, хромосома подвергается ряду изменений – упаковке при помощи модификации белков гистонов посредством деацетилирования одних и метилирования других аминокислот, преимущественно лизина, с последующим метилированием избранных участков на неактивной X-хромосоме. Данный тип инактивации относится к долговременному сайленсированию. Впоследствии X-хромосома остается неактивной на протяжении всех последующих циклов клеточного деления. Изменения, которые претерпевает неактивная X-хромосома, придают ей характерную структуру, эта структура описывается как конденсированная и видна в клеточном ядре как отчетливая глыбка плотной ДНК, известная как тельце Бара [24].

Одно из первых свидетельств роли эпигенетики в заболеваниях человека имело место после того, как был открыт специфический механизм выборочной инактивации генов – импринтинг [60]. Геномный импринтинг – процесс, при котором экспрессия определенных генов зависит от того, от кого из родителей поступили аллельные гены. Общеизвестно, что каждый аутосомный ген представлен двумя копиями, аллелями – от материнского и отцовского организма. Большинство генов экспрессируются одновременно с обеих аллелей, тем не менее в 1 % генов экспрессируется только одна аллель. Выбор экспрессии зависит от пола родителя, передавшего аллель. Геномный импринтинг осуществляется во время гаметогенеза посредством маркировки отдельных генов, унаследованных от отца или от матери. После оплодотворения происходит регуляция экспрессии генов в пределах импринтируемой области в различных тканях развивающегося эмбриона, в клетках которых экспрессируется только отцовская или материнская копия гена. Управление данным процессом осуществляют центры импринтинга – специальные элементы ДНК, нахо-

дящиеся в пределах импринтируемых областей генома. Основной механизм импринтинга – метилирование ДНК в промоторных зонах с последующей блокировкой транскрипции [1].

Благодаря успехам современной генетики установлен новый тип наследственных болезней, связанный с геномным импринтингом, причиной которых являются нарушения моноаллельной экспрессии. Эффекты геномного импринтинга хорошо прослеживаются при исследовании случаев однородительских дисомий – ошибочного наследования двух гомологичных хромосом не от двух родителей, а только от одного – материнского или отцовского, в результате чего организм может унаследовать копии одного гена. При этом фенотипически данные однородительские дисомии не проявляются [13, 68]. Эффект возникает в том случае, если эта хромосома несет импринтированные локусы. В данном случае однородительские дисомии по этим хромосомам приводят либо к полному отсутствию экспрессии этих генов (функциональной нуллисомии), либо к их сверхэкспрессии и, как следствие, возникновению аномалий развития организма.

Явление геномного импринтинга не следует путать с другим проявлением эпигенетики – так называемым материнским эффектом. Данный механизм заключается во влиянии генотипа матери на характер потомства, передаваемый через свойства цитоплазмы яйцеклетки. Вследствие данного эффекта потомство развивается в преимущественной степени по материнскому генотипу. Материнский эффект не связан с известными цитоплазматическими наследственными детерминантами и не относится к классическому проявлению цитоплазматической наследственности [32]. Особенность материнского эффекта заключается в накоплении по мере роста и развития яйцеклетки в ее цитоплазме молекул мРНК, различных структурных белков, рибосом. Затем, уже после оплодотворения, в процессе деления, экспрессия генов происходит с участием указанного набора молекул в обход собственной ДНК, содержащей гены от обоих родителей [50]. Впоследствии начинается экспрессия генов собственной ДНК. Примечательным в данном эффекте является и тот факт, что определенные гены с материнским эффектом могут экспрессироваться не в яйцеклетке, а за ее пределами, в других клетках организма, где синтезируются вышеописанные мРНК и белки, которые затем поступают в яйцеклетку и принимают участие в синтезе белка согласно материнскому генотипу. Необходимо отметить, что наряду с существованием явления материнского эффекта подтверждено и наличие отцовского эффекта.

Рассмотренные варианты проявления регулирования функции генома на основе уже известных, однако еще не в полной мере изученных молекулярных механизмов на сегодняшний день уже не оставляют для ученых поводов для сомнений в существовании такого рода «надгенетического» контроля и необходимости формирования и накопления базы знаний в этой области. Однако, как оказалось, механизмы такого регулирования выходят за рамки классических представлений о чисто биохимической, электрохимической или другого рода известной нам основе функционирования живого организма. Не так давно обнаружены факты, свидетельствующие о возможности изменения проявления функции отдельного гена в результате его перемещения в системе генома – так называемых эффектов положения. Так, еще в 1934 г. выявлено ослабление доминирования определенных генов при перенесении их из участков с гетерохроматином в эухроматиновые зоны [4]. Затем был обнаружен эффект положения мозаичного типа – в результате хромосомных перестроек ген подвергался регуляторному воздействию при переносе из эухроматина в гетерохроматин, при этом в одних клетках он становился неактивным, в других же – наоборот [10]. Различные варианты позиционных эффектов, по видимому, связаны со специфическим окружением.

Определено, что эффект положения может распространяться как линейно на определенные участки вдоль хромосомы, так и прерывисто. Наглядно показана роль специфических небольших участков ДНК – энхансеров, принимающих участие в механизмах формирования эффекта положения [47]. Данные участки могут располагаться на значительных расстояниях относительно матричной цепи регулируемого гена и в любой ориентации к ней и при этом влиять на транскрипцию промоторных зон определенных генов [49]. Молекулярный механизм действия энхансера заключается в том, что он, благодаря собранному на нем белковому комплексу, привлекает РНК-полимеразу II и кофакторы транскрипции в область промотора [66]. Как оказалось, в формировании и модулировании сигналов эффекта положения принимают участие помимо энхансеров и другие элементы генома. К ним относят инсуляторы – последовательности ДНК в комплексе с особыми инсуляторными белками, несущие функцию блокирования сигналов, исходящих от окружения. Они способны блокировать взаимодействие между энхансером и промотором, а также служить специфическим барьером для позиционных сигналов, исходящих от гетерохроматина [20].

Дистанционное влияние гетерохроматина на инактивацию генов является вполне доказанным его свойством. Группе ученых удалось показать существование положительной корреляционной связи между частотой транскрипционной активности гена и его расстоянием от гетерохроматина. Был применен метод комбинированной гибридизации *in situ*, позволяющий выявлять в одной клетке мРНК маркерного гена и определять расстояние от инактивируемого гена до маркера гетерохроматина – сателлитной ДНК второй хромосомы [10]. Таким образом, гетерохроматизация хроматина оказывается существенным фактором, оказывающим влияние на экспрессию генов. В свою очередь, состояние, в котором находится хроматин в данный момент времени, позволило сформировать понятие функциональных модулей генома. Геномы в клетках организма, находящиеся в различном состоянии дифференцировки, формируют функциональные кластеры генов, функциональные группы, выполняющие различные задачи [2], что можно рассматривать как своеобразный эпигенетический контроль над «валентностью» генов и целых локусов хромосом.

Еще более загадочными явлениями в эпигенетике, вокруг которых наблюдается немало дискуссий и споров, являются парамутации. Данные генетические процессы подразумевают устойчивые наследуемые состояния гена, возникающие в результате взаимодействия с другим вариантом аллеля, без изменения нуклеотидной последовательности [8]. Другими словами, во время пребывания активного аллельного гена в одном генотипе с неактивным аллелем происходит его деактивация и «запоминание» данного состояния в последующих поколениях. Как и все эпигенетические процессы, парамутации абсолютно не согласовываются с классическими законами Менделя о наследовании генов, согласно которому гены расходятся в половые клетки в неизменном виде. Одним из важнейших свойств парамутаций является их способность возвращаться в исходное состояние (ревертироваться) и вновь возвращаться в парамутантное состояние в зависимости от условий окружающей среды.

Механизм парамутаций до сих пор неизвестен. Существовали попытки объяснить данное явление влиянием малых некодирующих РНК, которые, вероятно, передаются новому поколению при оплодотворении [29, 55, 69], а также эпигенетическими механизмами метилирования и модификацией гистонов [37]. Существовали предположения о влиянии специфических генов, участвующих в поддержании устойчивости парамутантного состояния. В частности, опре-

делен ген, кодирующий РНК-зависимую РНК-полимеразу. Данный фермент необходим для синтеза малых некодирующих РНК, участвующих в сохранении «рисунка» метилирования ДНК, сохраняющегося в последующих поколениях. Также найден ген *rnr-1* (required to maintain repression 1), кодирующий специфический регуляторный белок, управляющий совместно с малыми некодирующими РНК метилированием ДНК [30]. Кроме того, установлено, что перед геном, отвечающим за парамутантное состояние, всегда находится особый мобильный некодирующий элемент ДНК – транспозон. Вероятно, метилирование участка данного транспозона является условием для сохранения неактивного состояния гена, однако не является определяющим фактором для возникновения парамутации [42].

Транспозоны вместе с другими некодирующими элементами ДНК относятся к так называемым мигрирующим генетическим элементам (МГЭ), которые могут менять свое положение в пределах генома одной клетки или переходить и встраиваться в геном другой клетки и даже в геном другого организма. Данный процесс был открыт в 1983 г. и получил название транспозиции. МГЭ широко представлены в растительных и животных геномах. Установлено, что ретротранспозоны, являющиеся подклассом транспозонов, составляют около 45 % всего генетического материала человека и, вероятно, возникли вследствие внедрения чужеродного генома (вирусного или бактериального) в процессе эволюционного развития.

Повышение активности МГЭ является риском для правильного функционирования генома, в связи с чем их экспрессия находится под контролем эпигенетических механизмов – посредством метилирования ДНК, некодирующих РНК и белкового комплекса Аргонавт [46, 28]. Роль МГЭ до конца не разгадана, однако предполагается, что они участвуют в различных хромосомных перестройках, а также изменяют систему регуляции экспрессии генов. В эксперименте показано, что стрессовые воздействия внешней среды на организм приводят к увеличению числа транспозиций генома [16]. Таким образом, геном представляется не статичной, а достаточно динамичной структурой, способной к надгенетическим и непосредственно генетическим перестройкам под влиянием факторов внешней среды. С данной точки зрения – все МГЭ, включая транспозоны, ретротранспозоны, вирусы, кольцевые ДНК бактерий, являются единой генетической системой [17]. Помимо внутренних перестроек генома, данные элементы способны при перемещении из клетки-хозяина захватывать, переносить и

встраивать части соседней ДНК в клетки других организмов. Таким образом, появилось понятие горизонтального переноса генов – обмен генетической информацией между различными организмами неполовым путем [8].

К числу немаловажных факторов, оказывающих влияние на эпигеном, можно отнести и открытый совсем недавно особый класс белков – прионов. Интерес для эпигенетики они представляют, прежде всего, благодаря своей способности вызывать наследуемое изменение фенотипа без изменения нуклеотидной последовательности ДНК. В основе механизма прионизации лежит изменение нормальной пространственной структуры (включая конформацию) молекулы белка при воздействии на него прионного белка с измененной третичной структурой. В данном случае прион справедливо рассматривать как белковый носитель чужеродной информации, непосредственно воздействующий на протеом клетки. В отличие от генетических носителей информации, которыми являются вирусы или транспозоны, прионы не изменяют генетическую последовательность нуклеотидов в ДНК [6]. В настоящее время известно множество негативных эффектов прионизации белков, вызывающие такие заболевания у человека, как болезнь Крейтцфельда – Якоба, синдром Герстманна – Штреусслера, наследственная семейная бессонница. Наряду с ними существуют вполне обоснованные предположения о приспособительном характере воздействия прионов (в частности, у некоторых форм дрожжевых грибов): за счет присутствия в популяции клеток, содержащих прионы, она может быстро приспосабливаться к изменившимся условиям среды [12]. Особенно важна такая возможность при попадании в условия стресса [64]. Механизм данного эффекта обусловлен функционированием прионной формы белка – фактора терминации трансляции eRF3. Он способствует нарушению процесса терминации и увеличению количества прочтенных нонсенс-кодонов, которые в норме не должны подвергаться трансляции. Результат данного эффекта сводится к изменению протеома клетки, необходимого для функционирования в измененных условиях среды. Кроме того, известны механизмы прионизации, влияющие на экспрессию некоторых генов непосредственно во время транскрипции. Осуществление такого механизма возможно лишь при существовании прионной формы какого-либо транскрипционного фактора, в результате чего ослабляется процесс транскрипции соответствующего гена в силу невозможности связывания данного фактора с ДНК [12, 63].

По мнению ряда исследователей, прионная регуляция генной функции является частью важного адаптивного механизма к меняющимся условиям окружающей среды, а потому, несомненно, должна рассматриваться как эпигенетическая составляющая функционирования клетки. Современное представление о молекулярных основах развития прионозов у человека предусматривает наличие специфического гена *PRNP*, кодирующего первичную структуру нормального белка-приона (PrPC) и его изоформы – прионного белка PrPSc. Установлено, что переход нормальной формы в прионную связан с мутациями в данном гене [9]. Пока нет достоверных подтверждений о наследовании прионов у человека, однако существует мнение о предрасположенности к некоторым формам прионных заболеваний, связанной с аллельным полиморфизмом гена *PRNP*. Существование прионной (белковой) наследственности, связанной с определенными цитоплазматическими наследственными детерминантами, доказано у грибов – дрожжей-сахаромицетов [5].

Огромное разнообразие рассмотренных в данном обзоре уже известных клеточных молекулярных событий, связанных с механизмами временного и пространственного контроля активности генов, в очередной раз подчеркивает важность эпигенетики как отдельной области знаний в биологии и генетике, заслуживающей глубокого и систематизированного подхода к изучению ее проблем. Сегодня достаточно активно развиваются технологии, направленные на анализ эпигенетических изменений. Среди них достаточно широко распространены такие, как определение «рисунка» метилирования ДНК при помощи иммунопреципитации хроматина и метилчувствительной ПЦР, анализ уровня экспрессии микроРНК, анализ посттрансляционных модификаций гистонов методом проточной цитометрии и лазерного сканирования. Кроме того, известны способы изучения пространственной организации генома и анализа характера взаимодействий между его удаленными регуляторными элементами при помощи различных способов фиксации конформаций хроматина.

В настоящее время уже разработаны и внедрены в практическое здравоохранение лекарственные препараты, обладающие модификацией некоторых эпигенетических механизмов. В частности, существуют онкологические препараты, подавляющие активность ДНК-метилтрансфераз, участвующих в процессе метилирования ДНК [31, 41]. Известны положительные результаты применения препаратов, устраняющих негативные последствия модификаций гистонов – так называемые ингибиторы гистоновой деацети-

лазы [45]. Все более отчетливо прослеживается роль эпигенетики в развитии многих заболеваний человека, таких как сахарный диабет, бронхиальная астма, ожирение, отдельные синдромальные заболевания, например синдром Прадера – Вилли, связанный с геномным импринтингом в определенном локусе хромосомы [25, 44, 51]. Такие факторы, как питание человека, его физическая активность, режимы труда, отдыха, инфекции, воздействие токсинов и многие другие аспекты, казалось бы, повседневной жизни, стали приобретать все большее значение в контексте рассмотрения их как важнейших эпигенетических «медиаторов». Многим проблемам изменений эпигенома, таких как партеногенез, канцерогенез, клонирование, дифференцировка клеток, посвящено множество научных работ [11, 36]. Большую роль отводят ученые эпигенетическим механизмам и в процессе старения организма, где были зафиксированы обширные зоны изменений профиля метилирования генома. По мнению ряда исследователей, тайны эпигенетических механизмов предстоит раскрывать еще не одно десятилетие, при этом ее вклад в развитие и лечение заболеваний человека по сравнению со вкладом генетики гораздо более весом и значим.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Анпель Б., Мюллер С. Нуклеиновые кислоты: от А до Я. М., 2013. 413 с.
2. Делоне Н.Л. Очерки по проблемам наследственности в космической биологии. М., 2013. 208 с.
3. Ежова Т.А., Ву Х.С. Генетическая и эпигенетическая регуляция морфогенеза листа // Вестн. Твер. гос. ун-та. Сер. Биол. и экол. 2008. (9). 66–75.
4. Жимулев И.Ф. Мозаичный эффект положения гена // Сорос. образ. журн. 2001. 7. (1). 4–9.
5. Захаров-Гезехус И.А. Цитоплазматическая наследственность // Вавил. журн. генетики и селекции. 2014. 18. (1). 93–102.
6. Инге-Вечтомов С.Г., Борхсенцус А.С., Задорский С.П. Белковая наследственность: конформационные матрицы и эпигенетика // Вестн. ВОГиС. 2004. 8. (2). 60–66.
7. Коваленко Т.Ф. Метилирование генома млекопитающих // Молекуляр. медицина. 2010. (6). 24–267.
8. Курчанов Н.А. Поведение: эволюционный подход. М.: СпецЛит, 2011. 73 с.
9. Куширинов В.В. Прионные и неприонные амилоиды: изучение в дрожжевой модели: автореф. дис. ... д-ра биол. наук. М., 2008.
10. Лавров С.А., Шацких А.С., Кубанов М.В., Гвоздев В.А. Транскрипционная инактивация генов при эффекте положения у *Drosophila melanogaster* коррелирует на уровне отдельных клеток с их перемещением в гетерохроматиновый компартмент ядра // Молекуляр. биология. 2013. 47. (2). 286–291.
11. Малецкий С.И., Роик Н.В., Драгавцев В.А. Третья изменчивость, типы наследственности и воспроизводства семян у растений // С.-х. биология. 2013. (5). 3–29.
12. Миронова Л.Н. Белковая наследственность и регуляция экспрессии генов у дрожжей // Экол. генетика. 2010. 8. (4). 10–16.
13. Назаренко С.А. Геномный импринтинг и его роль в этиологии наследственных болезней человека // Бюл. сиб. мед. 2004. (3). 8–17.
14. Паткин Е.Л., Квинн Дж. Эпигенетические механизмы предрасположенности к комплексным патологиям человека // Экол. генетика. 2010. 8. (4). 44–56.
15. Паткин Е.Л., Сучкова И.О. Регуляторные механизмы импринтинга у млекопитающих // Цитология. 2006. 48. (7). 578–594.
16. Ратнер В.А., Васильева Л.А. Мобильные генетические элементы (МГЭ): «эгоистическая ДНК» или функциональная часть генома? // Современные концепции эволюционной генетики: мат. конф. Новосибирск, 2000. 145–170.
17. Ратнер В.А. Генетика, молекулярная кибернетика: личности и проблемы. Новосибирск: Наука, 2002. 106 с.
18. Розанов В.А. Стресс-индуцированные эпигенетические феномены – еще один вероятный биологический фактор суицида // Суицидология. 2015. 6. (3). 3–19.
19. Саложин С.В. Метилирование ДНК как один из основных эпигенетических маркеров // Биохимия. 2005. 70. (5). 641–650.
20. Силичева М.А. Новые аспекты эффекта положения трансгенов *Drosophila melanogaster*: автореф. дис. ... канд. биол. наук. М., 2008.
21. Фомченко Е.Е., Воронаев Е.В. Биологические аспекты метилирования ДНК // Пробл. здоровья и экологии. 2012. (3). 55–59.
22. Чехун В. Эпигенетика рака // Онкология. 2008. 10. (3). 301–312.
23. Ширин А.Д., Калетин Г.И., Баранова О.Ю. Эпигенетика в онкогематологии: краткий реферативный обзор // Клин. онкогематологии. 2015. 8. (1). 26–30.
24. Barr M.L., Bertram E.G. A morphological distinction between neurones of the male and female, and the behaviour of the nucleolar satellite during accelerated nucleoprotein synthesis // Nature. 1949. 163. (4148). 676–677.
25. Bégin P., Nadeau K. C. Epigenetic regulation of asthma and allergic disease // Allergy Asthma Clin. Immunol. 2014. 10. (1). 27–28.
26. Benyajati C.W., Worcel A. Isolation, characterization, and structure of the folded interphase genome of *Drosophila melanogaster* // Cell. 1976. 9. (3). 393–407.

27. Borunova V.A., Iarovaia O.V., Vassetzky Y.S., Razin S.V. The upstream area of the chicken α -globin gene domain is transcribed in both directions in the same cells // FEBS Lett. 2005. 579. (21). 4746–4750.
28. Castel S.E., Martienssen R.A. RNA interference in the nucleus: roles for small RNAs in transcription, epigenetics and beyond // Nat. Rev. Genet. 2013. 14. (2). 100–112.
29. Catherine H., Antoine B., Laure T. et al. Paramutation in drosophila requires both nuclear and cytoplasmic actors of the piRNA pathway and induces cis-spreading of piRNA Production // Genetics. 2015. 201. 1381–1396.
30. Hale C.J., Stonaker J.L., Gross S.M., Hollick J.B. A novel *Snf2* protein maintains trans-generational regulatory states established by paramutation in maize // PLoS Biol. 2007. 5. (10). e275.
31. Dawson M.A., Kouzarides T. Cancer epigenetics: from mechanism to therapy // Cell. 2012. 150. (1). 12–27.
32. Fitch K.R., Wakimoto B.T. The paternal effect gene *ms(3)sneaky* is required for sperm activation and the initiation of embryogenesis in *Drosophila melanogaster* // Dev. Biol. 1998. 197. (2). 270–282.
33. Gavrilov A.A. Mapping of the nuclear matrix bound chromatin hubs by a new M3C experimental procedure // Nucleic Acids Res. 2010. 38. (22). 8051–8060.
34. Gavrilov A.A., Razin S.V. Spatial configuration of the chicken (alpha) globin gene domain: Immature and active chromatin hubs // Nucleic Acids Res. 2008. 36. 4629–4640.
35. Gavrilov A.A., Zukher I.S., Philonenko E.S. et al. Mapping of the nuclear matrix-bound chromatin hubs by a new M3C experimental procedure // Nucleic Acids Res. 2010. 38. 8051–8060.
36. Gurvich N., Berman M.G., Wittner B.S. et al. Association of valproate-induced teratogenesis with histone deacetylase inhibition *in vivo* // FASEB J. 2004. 19. (9). 1166–1168.
37. Harring M., Bader R., Louwers M. et al. The role of DNA methylation, nucleosome occupancy and histone modifications in paramutation // Plant J. 2010. 63. (3). 366–378.
38. Hoki Y., Kimura N., Kanbayashi M. et al. A proximal conserved repeat in the *Xist* gene is essential as a genomic element for X-inactivation in mouse // Development. 2009. 136. 139–146.
39. Herzog L.B., Romer J.T., Horn J.M. et al. *Xist* has properties of the X-chromosome inactivation centre // Nature. 1997. 386. 272–275.
40. Jeffrey J.J., Chang H.Y. Unique features of long non-coding RNA biogenesis and function // Nat. Rev. Genet. 2015. 17. (1). 47–62.
41. Kaminskis E., Farrell A., Abraham S. Approval summary: azacitidine for treatment of myelodysplastic syndrome subtypes // Clin. Cancer Res. 2005. 11. (10). 3604–3608.
42. Kaneko-Ishino T., Ishino F. Retrotransposon silencing by DNA methylation contributed to the evolution of placentation and genomic imprinting in mammals // Development. 2010. 52. (6). 533–543.
43. Klochkov D., Rincón-Arango H., Ioudinkova E.S. et al. A CTCF-dependent silencer located in the differentially methylated area may regulate expression of a housekeeping gene overlapping a tissue-specific gene domain // Mol. Cell. Biol. 2006. 26. 1589–1597.
44. Knoll J.H., Nicholls R.D., Magenis R.E. Angelman and Prader-Willi syndromes share a common chromosome deletion but differ in parental origin of the deletion // Am. J. Med. Genet. 1989. 32. (2). 285–290.
45. Laubach J.P., Moreau P., San-Miguel J.F. Panobinostat for the treatment of multiple myeloma // Clin. Cancer Res. 2015. 21. (21). 4767–4773.
46. Law J.A., Jacobsen S.E. Establishing, maintaining and modifying DNA methylation patterns in plants and animals // Nat. Rev. Genet. 2010. 11. (3). 204–220.
47. Lee T.I., Young R.A. Transcriptional regulation and its misregulation in disease // Cell. 2013. 152. (6). 1237–1251.
48. Lee J.T., Jaenisch R. Long-range cis effects of ectopic X-inactivation centres on a mouse autosome // Nature. 1997. 386. 275–279.
49. Li W., Notani D., Rosenfeld M.G. Enhancers as non-coding RNA transcription units: recent insights and future perspectives // Nat. Rev. Genet. 2016. 17. (4). 207–223.
50. Mann J.R. Imprinting in the germ line // Stem Cells. 2001. 19. (4). 287–294.
51. Martínez J.A., Milagro F.I., Claycombe K.J., Schalinske K.L. Epigenetics in adipose tissue, obesity, weight loss, and diabetes // Adv. Nutr. 2014. 5. (1). 71–81.
52. Mehler M.F. Epigenetic principles and mechanisms underlying nervous system functions in health and disease // Progr. Neurobiol. 2008. 86. 305–341.
53. Merry C.R., Forrest M.E., Sabers J.N. et al. DNMT1-associated long non-coding RNAs regulate global gene expression and DNA methylation in colon cancer // Hum. Mol. Genet. 2015. 24. (21). 231–233.
54. Rassoulzadegan M., Grandjean V., Gounon P. et al. RNA-mediated non-mendelian inheritance of an epigenetic change in the mouse // Nature. 2006. 441. 469–474.
55. Rassoulzadegan M., Cuzin F. From paramutation to human disease: RNA-mediated heredity // Semin. Cell Dev. Biol. 2015. 44. 47–50.
56. Ng K., Pullirsch D., Leeb M., Wutz A. *Xist* and the order of silencing // EMBO Rep. 2007. 8. 34–29.
57. Ohno S., Kaplan W.D., Kinoshita R. Formation of the sex chromatin by a single X-chromosome in liver cells of *rattus norvegicus* // Exp. Cell Res. 1959. 18. 415–419.

58. Petrova N.V., Iarovaia O.V., Verbovoy V.A. Specific radial positions of centromeres of human chromosomes X, 1, and 19 remain unchanged in chromatin-depleted nuclei of primary human fibroblasts: evidence for the organizing role of the nuclear matrix // *J. Cell. Biochem.* 2005. 96. 850–857.
59. Razin S.V., Rynditch A., Borunova V. et al. The 33 kb transcript of the chicken α -globin gene domain is part of the nuclear matrix // *J. Cell Bioch.* 2004. 92. 445–457.
60. Reik W. Genomic imprinting and genetic disorders in man // *Trends Genet.* 1989. 5. (10). 331–336.
61. Tanaka K., Matsumoto K., Toh-e A. Dual regulation of the expression of the gene by cyclic AMP and heat shock in yeast // *EMBO J.* 1988. 7. (2). 495–502.
62. Tang W.Y., Ho S.M. Epigenetic reprogramming and imprinting in origins of disease // *Rev. Endocr. Metab. Disord.* 2007. 8. 173–182.
63. True H.L., Berlin I., Lindquist S.L. Epigenetic regulation of translation reveals hidden genetic variation to produce complex traits // *Nature.* 2004. 431. 184–187.
64. True H.L., Lindquist S.L. A yeast prion provides a mechanism for genetic variation and phenotypic diversity // *Nature.* 2000. 407. 477–483.
65. Valadez-Graham V., Razin S.V., Recillas-Targa F. CTCF-dependent enhancer blockers at the upstream region of the chicken α -globin gene domain // *Nucleic Acids Res.* 2004. 32. 1354–1362.
66. Li W., Notani D., Rosenfeld M.G. Enhancers as non-coding RNA transcription units: recent insights and future perspectives // *Nat. Rev. Genet.* 2016. 17. 207–223.
67. Wilkins M. Proteomics data mining // *Expert Rev. Proteomics.* 2009. 6. (6). 599–603.
68. Wilkinson M., Lawrence S., William D. et al. Genomic imprinting effects on brain development and function // *Nat. Rev. Neurosci.* 2007. 8. (11). 832–843.
69. Fu Y., Lee I., Lee Y.S., Bao X. Small non-coding transfer RNA-derived RNA fragments (tRFs): their biogenesis, function and implication in human diseases // *Genomics Inform.* 2015. 13. (4). 94–101.

EPIGENETICS AND METHODS OF ITS REALIZATION

**Andrey Gennadievich SHCHUKO^{1,2}, Alexey Alexandrovich VESELOV¹,
Tatyana Nikolaevna YURIEVA^{1,2}, Nataliya Vasilievna VOLKOVA^{1,2},
Gennadiy Anatolievich SHABANOV³, Alexandr Alekseevich RYBCHENKO³,
Tatyana Vasilievna POCHTARENKO¹**

¹ *Irkutsk State Medical University of Minzdrav of Russia
664003, Irkutsk, Krasnogo Vosstania str., 1*

² *Eye Microsurgery Institute n.a. academician S.N. Fedorov of Minzdrav of Russia, Irkutsk Branch
664033, Irkutsk, Lermontov str., 337*

³ *Research Center «Arctic» FEB RAS
690022, Vladivostok, Kirov str., 95*

The most actual aspects of genetics associated with the epigenetic component of the regulation of gene expression are considered. Attention is paid to the development of ideas on epigenetics, as a separate field of knowledge on the functioning of genes, and an integral part of classical genetics. The concepts of epigene and epigenetic reprogramming are highlighted. The most known molecular mechanisms of epigenetic regulation of the gene function are considered. The importance of research in the field of epigenetics for the development of science and medicine was emphasized.

Key words: epigenetics, expression, epigenome, paramutation, DNA methylation, imprinting.

Shchuko A.G. – doctor of medical sciences, professor, head of chair of eye diseases, director

Veselov A.A. – candidate of medical sciences, associate professor of the chair of eye diseases,
e-mail: Magicjack@mail.ru

Yurieva T.N. – doctor of medical sciences, professor, deputy director on research work, professor
of the chair of eye diseases

Volkova N.V. – candidate of medical sciences, associate professor in the chair of eye diseases,
head of scientific and educational department

Shabanov G.A. – candidate of biological sciences, senior researcher of the laboratory
for ecological neurocybernetics

Rybchenko A.A. – doctor of technical sciences, director of the laboratory for ecological neurocybernetics

Pochtarenko T.V. – assistant of the department of eye diseases

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ИММОБИЛИЗИРОВАННЫХ СУБТИЛИЗИНОВ НА РЕПРОДУКТИВНУЮ ТОКСИЧНОСТЬ. I. АНТЕНАТАЛЬНЫЙ ПЕРИОД

**Татьяна Анновна ЭМЕДОВА¹, Светлана Владимировна МИШЕНИНА¹,
Павел Геннадьевич МАДОНОВ¹, Татьяна Геннадьевна БОРОВСКАЯ²,
Анна Владимировна ВЫЧУЖАНИНА², Валерия Александровна МАШАНОВА²**

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

² *НИИ фармакологии и регенеративной медицины им. Е.Д. Гольдберга Томского НИМЦ
634028, г. Томск, просп. Ленина, 3*

При изучении возможных эмбриотоксических свойств иммобилизованных субтилизинов, реализуемых в антенатальном периоде развития, установлено, что при его введении крысам-самкам в дозе 195 ЕД/кг в течение всего периода беременности токсических эффектов не выявлялось. При дозе 1950 ЕД/кг возрастает гибель плодов после имплантации, у живых плодов увеличивается количество наружных кровоизлияний, патологических изменений внутренних органов, тормозятся процессы оссификации.

Ключевые слова: иммобилизованные субтилизины, репродуктивная токсичность, антенатальный период.

В современной фармакологии для полноценного изучения лекарственного препарата необходимо выполнение экспериментальных исследований их репродуктивной токсичности. Эксперименты проводятся на различных животных, преимущественно грызунах, оценивается способность лекарственного препарата оказывать токсическое воздействие на репродуктивные органы с последующим снижением половой функции и способности к размножению, а также патологическое воздействие на развитие потомства [3, 4]. Результаты экспериментов по репродуктивной токсичности дают возможность, во-первых, оценить риск применения препарата и предотвратить развитие бесплодия у пациентов, во-вторых, исключить негативное влияние на плод, с последующим влиянием на новорожденного ребенка.

Цель исследования – изучить возможное эмбриотоксическое и тератогенное действие лекарственного средства на основе иммобилизованных субтилизинов при введении его во время беременности, реализуемое в антенатальном периоде развития.

Задачи исследования соответствуют основным критериям токсичности при изучении влияния на антенатальный период развития. Предстояло исследовать изменение динамики массы беременных крыс, увеличение показателей эмбриональной гибели, размера и массы плодов, изменение распределения крысят по полу, появление в потомстве плодов с увеличением (уменьшением) точек оссификации, с патологическими изменениями наружных и внутренних органов.

Эмедова Т.А. – аспирант кафедры акушерства и гинекологии

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

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

Боровская Т.Г. – д.б.н., проф., зав. лабораторией фармакологии репродуктивной системы, e-mail: repropfarm@yandex.ru

Вычужанина А.В. – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории фармакологии репродуктивной системы

Машанова В.А. – младший научный сотрудник лаборатории фармакологии репродуктивной системы

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследовании использовали лекарственное средство на основе иммобилизованных субтилизинов (ЛПИС) – тромбовазим®. Активной фармакологической субстанцией тромбовазима® является иммобилизованный на полиэтилен-оксиде с помощью технологии радиационного синтеза субтилизин. Субтилизин тромбовазима® состоит из 275 аминокислот, его молекулярная масса 27,7 кДа. В настоящее время зарегистрированы две лекарственные формы препарата с одинаковым названием. Показание к применению парентеральной формы – лечение острого инфаркта миокарда с подъемом сегмента ST, энтеральной формы – лечение хронической венозной недостаточности.

Для исследования репродуктивной токсичности ЛПИС препарат применялся в жидком виде, вводился перорально. Приготовление доз для введения осуществлялось в день введения в необходимом количестве. ЛПИС вводился крысам в терапевтической дозе 195 ЕД/кг и в дозе 1950 ЕД/кг (максимальная доза) в соответствии с Руководством по экспериментальному доклиническому изучению новых фармакологических веществ [4].

Эксперименты выполнены на половозрелых животных: аутбредных крысах сток CD массой 250–300 г, в возрасте 2,5–3 мес., полученных из отдела экспериментального биомоделирования НИИ фармакологии и регенеративной медицины им. Е.Д. Гольдберга (НИИФиРМ, г. Томск). Дизайн экспериментов одобрен этическим комитетом НИИФиРМ. Крысы содержались в неполной барьерной системе в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (Страсбург, 1986). Животные были адаптированы в виварии в отдельной комнате в течение трех дней до начала введения. Во время этого периода осуществляли ежедневный осмотр их внешнего состояния.

При изучении возможного эмбриотоксического и тератогенного действия ЛПИС, реализуемого в антенатальном периоде развития, препарат вводился беременным крысам-самкам перорально с 1 по 19 день беременности в терапевтической (195 ЕД/кг массы тела) и максимальной (1950 ЕД/кг массы тела) дозе. Контрольные животные получали растворитель (физиологический раствор) в те же сроки в эквивалентном объеме. В исследовании использовались данные контрольных групп прежних подобных экспериментов, обобщенные в группу «исторический контроль». Первый день беременности фиксировали

с помощью цитологической оценки вагинального мазка после подсаживания самок к интактным крысам-самцам. В течение периода беременности оценивалась динамика массы тела крыс (животных взвешивали на 1, 7, 14 и 20 дни беременности). Крысам на 20 день беременности проводилась эвтаназия (с помощью CO₂-камеры). Затем их вскрывали и подсчитывали количество желтых тел в яичниках, мест имплантации в матке, число живых и мертвых плодов. Преимплантационную смертность определяли по разности между количеством желтых тел в яичниках и количеством мест имплантации в матке, постимплантационную смертность – по разности между количеством мест имплантации и количеством живых плодов [4]. Живые плоды выделялись, определялась их масса, краниокаудальный размер, пол. Проводился макроскопический осмотр плодов на наличие у них внешних патологических изменений. В дальнейшем исследовалось состояние их внутренних органов (по методу Вильсона) и процессов оссификации (по методу Доусона) [4]. Для проведения этих исследований использовались 20 крыс-самок опытной группы (две дозы), 10 контрольных самок и 10 крыс-самцов.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась методами вариационной статистики. Вычисляли среднее арифметическое (X), ошибку среднего арифметического (m), результаты представляли в виде $X \pm m$. Различие двух сравниваемых величин считалось статистически значимым в том случае, если вероятность их тождества была меньше 5 % ($p < 0,05$). В случаях нормального распределения признаков для статистической оценки применяли параметрический t -критерий Стьюдента. При больших отклонениях распределений признака от нормального вида для независимых выборок был использован непараметрический U -критерий Манна – Уитни. Для выявления достоверности различий качественных показателей использовался критерий углового преобразования Фишера.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате исследований установлено, что поведение и внешний вид крыс-самок, получавших ЛПИС в различные периоды беременности в исследуемых дозах, не отличались от таковых в контрольных группах. Крысы не проявляли признаков беспокойства и агрессии, имели хороший аппетит, были подвижны, имели гладкий шерстяной покров. Масса тела животных после 7-дневного введения ЛПИС в максимальной дозе не отличалась от фоновых значений (исторический контроль), но достоверно снижалась по сравне-

Таблица 1

Прирост массы тела (г) беременных крыс, которым вводили ЛПИС с 1 по 19 день беременности

Группа	Дни беременности			
	1–7	7–14	14–20	1–20
ЛПИС (195 ЕД/кг), n = 12	30,08 ± 1,63 [#]	33,83 ± 2,53	47,17 ± 4,45	107,58 ± 7,12
ЛПИС (1950 ЕД/кг), n = 11	22,73 ± 4,38 [*]	33,18 ± 4,03	47,64 ± 4,01	103,55 ± 5,94
Контроль, n = 12	33,33 ± 2,10 [#]	34,17 ± 2,90 [#]	46,83 ± 7,17	113,50 ± 9,73
Исторический контроль, n = 46	27,26 ± 1,34	31,41 ± 1,41	53,22 ± 1,69	111,89 ± 3,81

Примечание. Здесь и в табл. 2–4 обозначены статистически значимые ($p < 0,05$) отличия от величин соответствующих показателей: * – соответствующего контроля, # – исторического контроля.

Таблица 2

Влияние ЛПИС на эмбриональное развитие крыс, полученных от самок, которым вводили ЛПИС с 1 по 19 день беременности

Группа	Число желтых тел на 1 самку	Число мест имплантации на 1 самку	Число живых плодов на 1 самку	Преимплантационная гибель, %	Постимплантационная гибель, %	Средняя масса плодов, г	Средний размер плодов, мм
ЛПИС (195 ЕД/кг), n = 11	14,08 ± 0,78	11,58 ± 1,14	10,58 ± 1,07	17,91 ± 6,71	8,99 ± 3,08	2,43 ± 0,04	28,88 ± 0,86
ЛПИС (1950 ЕД/кг), n = 10	14,40 ± 0,52	12,50 ± 1,13	10,40 ± 1,28	14,41 ± 6,18	18,27 ± 4,90 ^{#*}	2,37 ± 0,04	29,46 ± 0,37
Контроль, n = 11	14,10 ± 0,82	12,60 ± 0,85	12,30 ± 0,86	10,74 ± 2,83	2,49 ± 1,32	2,41 ± 0,06	29,43 ± 0,27
Исторический контроль, n = 46	13,91 ± 0,30	12,85 ± 0,32	12,02 ± 0,31	7,65 ± 1,23	6,38 ± 1,20	2,16 ± 0,03	29,24 ± 0,11

нию с контролем, что не отразилось на общем приросте массы тела за весь период беременности (табл. 1). Повышение исследуемого показателя по сравнению с фоном не является результатом действия ЛПИС, так как и в контроле он оказался увеличенным по сравнению с фоном. Фармакокинетика ЛПИС указывает на то, что наряду с высокой энтеральной биодоступностью оно не депонируется в тканях и, соответственно, не может вызвать существенных морфофункциональных повреждений. Ранее изучено положительное действие терапевтических доз ЛПИС на периферическое кровообращение [1]. Влияние ЛПИС в терапевтической дозе на эмбриональное развитие крыс подтвердило предположение об отсутствии негативного влияния ввиду низкой тканевой кумуляции.

При введении ЛПИС в максимальной дозе (1950 ЕД/кг) число желтых тел, мест имплантации и преимплантационная гибель не отличались от контрольных значений. При этом число плодов имело выраженную тенденцию к снижению, достоверно возростала постимплантационная гибель по сравнению с контролем и фоном (табл. 2).

Фетоплацентарный комплекс беременной самки уязвим для 10-кратного повышения дозы ЛПИС. Высокие дозы ЛПИС вызывают избыточную перфузию материнской части плаценты с формированием локальной гиперемии и последующего отека, что понижает диффузию в фетоплацентарном комплексе. Это предположение согласуется с особенностями формирования и функционирования фетоплацентарного комплекса крыс, у которых с 16 дня беременности происходит уменьшение материнской части плаценты до 32 % со снижением капиллярной перфузии [2].

Установлен дозозависимый эмбриотоксический эффект ЛПИС. Введение беременным крысам ЛПИС в максимальной дозе (1950 ЕД/кг) влияет на скорость процессов оссификации (табл. 3). На 20 день беременности выявилось снижение числа точек окостенения плюсны, количества плодов со сформировавшимися костями черепа по сравнению с контрольными и фоновыми показателями. При уменьшении дозы до терапевтической количество точек оссификации в экспериментальной группе уже не отличалось от величины показателя в контрольной и фоновой

Таблица 3

Влияние ЛПИС на состояние процессов оссификации плодов, полученных от самок, которым вводили ЛПИС с 1 по 19 день беременности

Группа	Количество точек оссификации, n					Количество плодов со сформировавшимися костями черепа, %
	плюсна	пястье	крестец	грудина	ребра	
ЛПИС (195 ЕД/кг), n = 51	2,92 ± 0,06	2,49 ± 0,08	1,82 ± 0,15	1,90 ± 0,10	13,00 ± 0,00	90,20
ЛПИС (1950 ЕД/кг), n = 51	2,65 ± 0,12*#	2,25 ± 0,11	1,45 ± 0,17	1,53 ± 0,11	13,00 ± 0,00	72,55*#
Контроль, n = 56	3,00 ± 0,00	2,48 ± 0,07	1,93 ± 0,13	2,13 ± 0,09	13,00 ± 0,00	94,64
Исторический контроль, n = 263	2,93 ± 0,03	2,90 ± 0,02	1,30 ± 0,08	2,05 ± 0,07	13,00 ± 0,00	83,27

Таблица 4

Патологические изменения внутренних органов плодов, полученных от самок, которым вводили ЛПИС с 1 по 19 день беременности

Группа	Количество плодов в группе, n	Количество плодов с аномалиями, %					
		с обширными кровоизлияниями	с умеренными кровоизлияниями	с полнокровием сосудов печени	с холестаазом	с умеренными расширениями желудочков головного мозга	с гемоперикардом
ЛПИС (195 ЕД/кг), n = 6	66	7,58*#	35,15#	74,24*#	27,27*#	4,55#	12,12
ЛПИС (1950 ЕД/кг), n = 6	60	10,00*#	31,67#	48,33#	0,0	3,33#	21,67*#
Контроль, n = 6	58	1,72#	34,48#	39,66#	0,0	3,45#	10,34
Исторический контроль, n = 25	270	23,03	10,00	23,70	12,96	11,48	8,15

группах. Анализ данных осмотра внутренних органов плодов методом Вильсона (n = 184, из них 126 плодов экспериментальных групп) показал, что введение ЛПИС в максимальной дозе с 1 по 19 день беременности приводило к возрастанию числа плодов с гемоперикардом (по сравнению с контролем и фоном) с обширными кровоизлияниями (по сравнению с контролем) (табл. 4). При снижении дозы до терапевтической число кровоизлияний не повышается. Совершенно очевидно, что ЛПИС обладает уникальной способностью к фетоплацентарному транспорту и проявляет свои фибринолитические свойства в крови эмбрионов.

Таким образом, можно утверждать, что ЛПИС в терапевтической дозе является безопасным для репродуктивного здоровья женщины. Одна-

ко установленный факт дозозависимой эмбриотоксичности 10-кратной терапевтической дозы (1950 ЕД/кг) безусловно настораживает. С позиции клинициста можно рассматривать безопасный вариант применения ЛПИС в повышенной дозе только в случае продолжения гормональной контрацепции или использования барьерных методов, исключающих беременность. Можно позволить себе рассуждать о некоей безопасной промежуточной дозе, но фактологический материал проведенного исследования исключает подобного рода допущения. Возможно, компании-производителю ЛПИС следует провести дополнительные доклинические исследования для установления предельно безопасной терапевтической дозы для репродуктивной системы.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Мадонов П.Г., Кинит Д.Н., Ершов К.И. и др. Опыт клинического применения нового лекарственного препарата Тромбовазим в сосудистой хирургии // Ангиол. и сосуд. хирургия. 2015. 21. (1). 99–104.
2. Мацюк Я.Р., Барабан О.В. Структура плаценты крыс в разные сроки нормально протекающей беременности // Журн. Гродненск. гос. мед. ун-та. 2012. (1). 54–58.
3. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / Ред. Н.Д. Бунятян, А.Н. Васильев, О.Л. Верстакова и др. М.: Гриф и К, 2012. 944 с.
4. Integration of Study Results to Assess Concerns about Human Reproductive and Developmental Toxicities. 2001. <https://www.fda.gov/OHRMS/DOCKETS/98fr/992079gd.pdf>.

EXPERIMENTAL STUDY OF IMMOBILIZED SUBTILYZINES INFLUENCE ON REPRODUCTIVE TOXICITY. I. ANTENATAL PERIOD

Tatyana Annovna EMEDOVA, Svetlana Vladimirovna MISHENINA,
Pavel Gennad'evich MADONOV, Tatyana Gennad'evna BOROVSKEYA²,
Anna Vladimirovna VYCHUZHANINA², Valeriya Aleksandrovna MASHANOVA²

¹ Novosibirsk State Medical University of Minzdrav of Russia
630091, Novosibirsk, Krasny av., 52

² Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine
634028, Tomsk, Lenin av., 3

The study of the possible embryotoxic properties of immobilized subtilisins realized in the antenatal period showed that its administration to female rats at a dose of 195 U / kg throughout the pregnancy period did not reveal toxic effects. At a dose of 1950 U / kg, the death of embryos after implantation increased, and the number of external hemorrhages, pathological changes in internal organs, and inhibition of ossification increased in living embryos.

Key words: immobilized subtilisins, reproductive toxicity, antenatal period.

Emedova T.A. – post-graduate student of the department of obstetrics and gynecology

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

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

Borovskaya T.G. – doctor of biological science, professor, head of laboratory of pharmacology of genital system, e-mail: repropharm@yandex.ru

Vychuzhanina A.V. – candidate of biological science, senior research associate of laboratory of pharmacology of genital system

Mashanova V.A. – junior researcher of laboratory of pharmacology of genital system

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ИММОБИЛИЗИРОВАННЫХ СУБТИЛИЗИНОВ НА РЕПРОДУКТИВНУЮ ТОКСИЧНОСТЬ. II. ПОСТНАТАЛЬНЫЙ ПЕРИОД

**Татьяна Геннадьевна БОРОВСКАЯ¹, Анна Владимировна ВЫЧУЖАНИНА¹,
Валерия Александровна МАШАНОВА¹, Татьяна Анनावна ЭМЕДОВА²,
Светлана Владимировна МИШЕНИНА², Павел Геннадьевич МАДОНОВ²**

¹ *НИИ фармакологии и регенеративной медицины им. Е.Д. Гольдберга Томского НИМЦ
634028, г. Томск, просп. Ленина, 3*

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

Введение иммобилизованных субтилизинов в 10-кратной терапевтической дозе вызывает ряд токсических эффектов, реализуемых в постнатальном периоде развития. Такие эффекты, как сниженная жизнеспособность, замедление сроков физического развития, скорости формирования сенсорно-двигательных рефлексов, снижение способности к обучению, замедление выполнения безусловных рефлексов, выявлялись у потомства крыс, получавших иммобилизованные субтилизины во время беременности.

Ключевые слова: иммобилизованные субтилизины, репродуктивная токсичность, постнатальный период.

Лекарственные препараты принадлежат к числу химических веществ, способных оказывать неблагоприятное воздействие на воспроизводящую функцию и потомство, что определяет необходимость изучения их репродуктивной токсичности. В соответствии с методическими указаниями [3, 4], все новые лекарственные средства должны подвергаться изучению репродуктивной токсичности на лабораторных животных (крысах). Это исследование предполагает изучение возможности применения нового лекарственного средства во время беременности (тератогенность, эмбриотоксичность в антенатальном и постнатальном периодах).

Цель исследования – изучить возможное эмбриотоксическое и тератогенное действие лекарственного средства на основе иммобилизованных субтилизинов при введении его во время

беременности, реализуемое в постнатальном периоде развития. Для этого было исследовано его влияние на продолжительность беременности, снижение индекса выживаемости, нарушение физического развития потомства, изменение скорости формирования у потомства сенсорно-двигательных рефлексов, снижение способности к обучению и адаптивному поведению.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследовании использовали лекарственное средство на основе иммобилизованных субтилизинов (ЛПИС) – тромбовазим®. Его активной фармакологической субстанцией является иммобилизованный на полиэтиленоксиде с помощью технологии радиационного синтеза субтилизин. Субтилизин тромбовазима® состо-

*Боровская Т.Г. – д.б.н., проф., зав. лабораторией фармакологии репродуктивной системы,
e-mail: repropfarm@yandex.ru*

*Вычужанина А.В. – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории фармакологии
репродуктивной системы*

Машанова В.А. – младший научный сотрудник лаборатории фармакологии репродуктивной системы

Эмедова Т.А. – аспирант кафедры акушерства и гинекологии

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

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

ит из 275 аминокислот, его молекулярная масса 27,7 кДа. В настоящее время зарегистрированы две лекарственные формы препарата с одинаковым названием. Показание к применению парентеральной формы – лечение острого инфаркта миокарда с подъемом сегмента ST, у энтеральной формы – лечение хронической венозной недостаточности.

При изучении возможного эмбриотоксического и тератогенного действия ЛПИС, реализуемого в постнатальном периоде развития, лекарственное средство вводили перорально крысам-самкам с 6 по 20 день беременности в дозе 1950 ЕД/кг (10-кратная терапевтическая доза) [3]. Контрольные животные получали растворитель (физиологический раствор) в те же сроки в эквивалентном объеме. Самок оставляли до родов и на весь период вскармливания. Крысята выращивались до двухмесячного возраста. Фиксируемые показатели у крыс-самок: день родов, динамика массы тела, продолжительность беременности, численность помета. Фиксируемые показатели у крысят: динамика массы тела, индекс выживаемости до 28 дня жизни, сроки физического развития, скорость формирования сенсорно-двигательных рефлексов в период вскармливания [3]. В одномесячном возрасте изучалось поведение крысят в условиях «открытого поля» [2]. В двухмесячном возрасте крысята тестировались на способность к обучению в тесте «условный рефлекс пассивного избегания» и адаптивному поведению в тесте Хендерсона в модификации Бондаренко [1]. При изучении влияния ЛПИС на постнатальное развитие все исследуемые показатели фиксировались отдельно для крысят-самцов и для крысят-самок. Для этих экспериментов использовали 20 самок и 10 самцов.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась методами вариационной статистики. Вычисляли среднее арифметическое (X), ошибку среднего арифметического (m), результаты представляли в виде $X \pm m$. Различия

Таблица 1

Динамика массы тела крыс, которым вводили ЛПИС с 6 по 20 день беременности

Дни беременности	ЛПИС	Контроль
1–7	31,90 ± 3,78	33,90 ± 1,93
7–14	35,70 ± 2,88	34,80 ± 2,65
14–20	63,70 ± 4,43	69,20 ± 4,29
1–20	131,30 ± 5,86	137,90 ± 5,26

Примечание. Здесь и в табл. 2–4 * – отличие от величины соответствующего показателя в контроле статистически значимо при $p < 0,05$.

двух сравниваемых величин считалось статистически значимым в том случае, если вероятность их тождества была меньше 5 % ($p < 0,05$). В случаях нормального распределения признаков для статистической оценки применяли параметрический t-критерий Стьюдента. При больших отклонениях распределений признака от нормального вида для независимых выборок был использован непараметрический U-критерий Манна – Уитни. Для выявления достоверности различий качественных показателей использовался критерий углового преобразования Фишера.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Внешний вид самок, получавших ЛПИС с 6 по 20 день беременности, не отличался от такового в контроле (крысы вели себя активно, имели гладкий шерстяной покров, хороший аппетит). Введение ЛПИС не влияло на динамику массы тела беременных крыс (табл. 1). Беременность всех животных закончилась благополучными родами на 22–23 день беременности, что соответствует видовой норме. Численность крысят в пометах в экспериментальной и контрольной группах оказалась сходной (табл. 2). Сравнимые группы крысят не отличались друг от друга по срокам отлипания ушных раковин, появления первичного волосяного покрова, прорезывания резцов, открытия глаз (табл. 2). Внешних аномалий развития у потомства крыс самок опытной

Таблица 2

Индекс выживаемости и физическое развитие крысят, полученных от крыс-самок, которым вводили ЛПИС с 6 по 20 день беременности

Показатель	ЛПИС	Контроль
Индекс выживаемости		
1–4 день жизни	86,67 ± 9,46	99,17 ± 0,83
4–7 день жизни	94,76 ± 3,18	100,00 ± 0,00
7–14 день жизни	58,16 ± 6,80*	98,13 ± 1,88
14–21 день жизни	86,05 ± 5,21*	97,17 ± 1,50
21–28 день жизни	84,00 ± 11,08	100,00 ± 0,00
1–28 день жизни	34,81 ± 6,97*	94,54 ± 2,43
День родов	22,60 ± 0,16	22,70 ± 0,15
Число крысят в помете	15,30 ± 0,15	14,80 ± 0,47
Отлипание ушной раковины	3,19 ± 0,05	2,96 ± 0,14
Появление волосяного покрова	4,11 ± 0,10	3,89 ± 0,09
Прорезание резцов	7,65 ± 0,23	7,14 ± 0,19
Открытие глаз	15,38 ± 0,08	15,54 ± 0,14
Опускание семенников	24,75 ± 0,51*	23,24 ± 0,09
Открытие влагалища	39,59 ± 0,69*	33,23 ± 0,69

Таблица 3

Способность крысят, полученных от крыс-самок, которым вводили ЛПИС с 6 по 20 день беременности, удерживаться на горизонтальной веревочке и формирование сенсорно-двигательных рефлексов на 5 и 15 день жизни

Показатель	ЛПИС		Контроль	
	Самки	Самцы	Самки	Самцы
	5 день жизни			
Способность удерживаться передними лапами: число животных [†] , %	97,22 ± 2,78	90,00 ± 5,53*	96,67 ± 3,33	100,00 ± 0,00
время удерживания, с	7,33 ± 1,70	4,05 ± 0,54	7,52 ± 0,93	5,18 ± 0,63
Число подтягивающихся животных, %	86,11 ± 7,35	62,50 ± 10,03*	89,17 ± 4,49	92,50 ± 3,82
«Рефлекс избегания края», число животных [†] , %	69,44 ± 8,10	65,00 ± 10,67	77,50 ± 10,17	85,00 ± 6,67
Время переворачивания на плоскости, с	5,83 ± 0,72*	5,93 ± 1,04*	3,14 ± 0,38	3,10 ± 0,31
	15 день жизни			
Время удерживания передними лапами, с	20,23 ± 3,51*	16,55 ± 1,89*	26,73 ± 2,46	29,07 ± 4,01
Способность удерживаться задними лапами, число животных [†] , %	81,48 ± 7,58	87,50 ± 8,54	94,17 ± 3,94	96,67 ± 3,33
Способность подтягиваться передними лапами, число животных [†] , %	100,00 ± 0,00	92,50 ± 5,34	100,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00

Примечание. † – число животных со сформировавшимся рефлексом.

группы, как и в контроле, при рождении не было. Потомство крыс, получавших ЛПИС в 10-кратной терапевтической дозе, характеризовалось более поздними сроками опускания семенников и открытия влагалища по сравнению с контролем (см. табл. 2). В опытных группах крысята родились с нормальной массой тела, но впоследствии (на 21 и 28 дни жизни) они набирали вес хуже, чем контрольные животные.

Наряду с этим установлено, что потомство самок, получавших ЛПИС, характеризовалось сниженной жизнеспособностью, отставанием в физическом развитии, в скорости формирования сенсорно-двигательных рефлексов. Индексы выживаемости потомства в первые дни и до 14 дня жизни в сравниваемых группах оказались сходными. Впоследствии количество крысят потомства самок экспериментальных групп стало сокращаться. Проявление этого токсического эффекта не зависело от принадлежности крысят к полу. На 28 день жизни численность помётов экспериментальной группы сократилась более чем в 2,5 раза.

При изучении способности крысят удерживаться на горизонтальной веревочке на 15 день жизни оказалось, что у опытной группы время удерживания передними лапами достоверно снижено по сравнению с контрольными группами (табл. 3). При исследовании способности к обучению потомства в тесте «условный рефлекс пассивного избегания» все животные в первый день опыта обладали «норковым» рефлексом (заходили в темный отсек камеры). Во второй день

опыта у потомства экспериментальной группы этот показатель оказался статистически значимо меньше, чем у животных группы контроля. Полученные данные свидетельствуют о том, что введение ЛПИС в 10-кратной терапевтической дозе беременным самкам приводит к снижению способности их потомства к обучению. Введение ЛПИС беременным самкам в 10-кратной терапевтической дозе не приводило к нарушению адаптивного поведения их потомства, но крысята осуществляли эту реакцию в течение более продолжительного времени, чем контрольные. При постановке теста Хендерсона в модификации Бондаренко установлено, что все крысята опытной и контрольной групп подныривали под край внутреннего цилиндра. Однако у животных опытной группы отмечалось увеличение по сравнению с контролем времени плавания во внутреннем и внешнем цилиндре, время поднятия на сетку и повышенная эмоциональность, что можно охарактеризовать как повышенную психомоторную активность (табл. 4).

Поскольку для ЛПИС не характерны фармакологические эффекты, присущие психотропным препаратам, вышеуказанная патологическая постнатальная симптоматика представляет собой проявления энцефалопатии, возникшей по причине фетоплацентарной недостаточности. Вероятно, высокие дозы ЛПИС создают гемодинамические проблемы в фетоплацентарном комплексе, что затрудняет двустороннюю диффузию. Сниженное поступление нутриентов наряду с избыточным накоплением продуктов метаболизма в организ-

Таблица 4

Поведение крысят, полученных от крыс-самок, которым вводили ЛПИС с 6 по 20 день беременности, в «открытом поле», способность к обучению и к избавлению от стресс-реакции на 30 день жизни

Показатель	ЛПИС		Контроль	
	Самки	Самцы	Самки	Самцы
	Тест «открытое поле»			
Количество пересеченных квадратов	57,04 ± 2,42*	58,30 ± 2,75*	50,83 ± 1,92	53,13 ± 1,27
Количество поднятий на задние лапы	6,68 ± 1,43	5,43 ± 0,88	7,50 ± 1,41	5,79 ± 0,55
Количество заглядываний в отверстия	14,45 ± 1,89*	13,83 ± 1,00*	22,64 ± 0,86	19,39 ± 1,07
Количество фекальных шариков	2,19 ± 0,42	2,0,4 ± 0,23	1,70 ± 0,35	2,22 ± 0,20
Тест «условный рефлекс пассивного избегания»				
Время пребывания в светлой камере, с				
1 день	13,89 ± 1,04	16,88 ± 1,81	15,35 ± 2,18	16,40 ± 1,45
2 день	127,61 ± 10,72*	144,65 ± 8,87*	175,45 ± 3,14	170,30 ± 4,39
Тест Хендерсона в модификации Бондаренко				
Количество поднырывающих крысят, %	100,00	100,00	100,00	100,00
Время плавания во внутреннем цилиндре, с	40,88 ± 4,08*	29,94 ± 3,50*	21,60 ± 1,70	18,25 ± 1,78
Время плавания во внешнем цилиндре, с	31,00 ± 2,91*	31,35 ± 5,03*	15,95 ± 2,08	11,65 ± 1,93
Время поднятия на сетку, с	9,12 ± 1,30*	10,47 ± 1,44*	5,45 ± 0,47	7,20 ± 0,97
Количество фекальных шариков	3,12 ± 0,19*	2,65 ± 0,23*	1,85 ± 0,23	1,35 ± 0,23

ме эмбрионов способно негативно влиять на внутриклеточный метаболизм в нейронах, изменять их функциональную активность. В современной неонатологии именно так трактуется одна из причин патологической неврологической симптоматики у новорожденных детей, матери которых страдают фетоплацентарной недостаточностью. Таким образом, введение ЛПИС в 10-кратной дозе вызывает ряд токсических эффектов, реализуемых в постнатальном периоде развития. У этого потомства выявлялись сниженная жизнеспособность, замедление сроков физического развития, скорости формирования сенсорно-двигательных рефлексов. При введении в терапевтической дозе токсические эффекты не отмечались (данные не представлены).

Приведенные выше сведения являются предметом добросовестного следования современной концепции оценки репродуктивной токсичности и представляют академический интерес в большей степени, чем практический. Дело в том, что ЛПИС (тромбовазим®) в инструкции по медицинскому применению имеет противопоказания к применению во время беременности. Принимая во внимание это обстоятельство, очень маловероятно,

что женщина начнет лечить возникшую у нее хроническую венозную недостаточность тромбовазимом®, будучи беременной. Разумеется, нельзя исключать возможность возникновения незапланированной беременности в период приема ЛПИС, поэтому чрезвычайно важно не превышать рекомендуемую терапевтическую дозу.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бондаренко Н.А. Зависимость реакции поведения избавления из стрессогенной ситуации от типологической принадлежности животных // Деп. в ВИНТИ. 1980. № 2038.
2. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Дж.П. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. М.: Высш. шк., 1991. 399 с.
3. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / Ред. Н.Д. Бунятян, А.Н. Васильев, О.Л. Верстакова и др. М.: Гриф и К, 2012. 944 с.
4. Integration of Study Results to Assess Concerns about Human Reproductive and Developmental Toxicities. 2001. <https://www.fda.gov/OHRMS/DOCKETS/98fr/992079gd.pdf>.

EXPERIMENTAL STUDY OF IMMOBILIZED SUBTILYZINES INFLUENCE ON REPRODUCTIVE TOXICITY. II. POSTNATAL PERIOD

**Tatyana Gennad'evna BOROVSKEYA¹, Anna Vladimirovna VYCHUZHANINA¹,
Valeriya Aleksandrovna MASHANOVA¹, Tatyana Annovna EMEDOVA²,
Svetlana Vladimirovna MISHENINA², Pavel Gennad'evich MADONOV²**

¹ *Goldberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine
634028, Tomsk, Lenin av., 3*

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

The introduction of immobilized subtilisins causes a number of toxic effects in the postnatal period of development. Reduced viability, slower physical development, speed of formation of sensory-motor reflexes, decreased ability to learn, delay of unconditioned reflexes were detected in the offspring of rats that received immobilized subtilisins during pregnancy.

Key words: immobilized subtilisins, reproductive toxicity, postnatal period.

***Borovskaya T.G.** – doctor of biological science, professor, head of laboratory of pharmacology of genesial system, e-mail: repropharm@yandex.ru*

***Vychuzhanina A.V.** – candidate of biological science, senior research associate of laboratory of pharmacology of genesial system*

***Mashanova V.A.** – junior researcher of laboratory of pharmacology of genesial system*

***Emedova T.A.** – post-graduate student of the department of obstetrics and gynecology*

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

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

ПОЗИТИВНЫЙ ЭФФЕКТ ИММОБИЛИЗИРОВАННЫХ СУБТИЛИЗИНОВ ПРИ ЛЕЧЕНИИ ХРОНИЧЕСКОЙ ЭСТРОГЕН-ИНДУЦИРОВАННОЙ ВЕНОЗНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Татьяна Аннавна ЭМЕДОВА, Константин Юрьевич МАКАРОВ,
Павел Геннадьевич МАДОНОВ, Татьяна Михайловна СОКОЛОВА,
Светлана Владимировна АЙДАГУЛОВА, Игорь Олегович МАРИНКИН

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

Цель исследования – изучить клиническую эффективность иммобилизованных субтилизинов при лечении эстроген-индуцированной хронической венозной недостаточности (ХВН) у женщин репродуктивного возраста. **Материал и методы.** Проведено комплексное изучение объективного статуса с использованием шкалы VCSS, гемостаза, биохимических показателей крови и УЗИ сосудов малого таза у 73 женщин в возрасте $32,8 \pm 2,9$ года с ХВН, впервые возникшей на фоне приема комбинированных оральных контрацептивов, принимающих иммобилизованные субтилизины по 800 ЕД 2 раза в сутки в течение 15 дней. **Результаты.** После лечения отмечено значимое позитивное влияние иммобилизованных субтилизинов на объективный статус по данным модифицированной шкалы VCSS. Выявлено снижение концентрации маркеров тромбинемии. При доплерометрии обнаружено улучшение показателей кровотока со стабилизацией состояния сосудистого русла. **Вывод:** прием иммобилизованных субтилизинов эффективен при лечении ХВН у женщин на фоне длительного приема комбинированных оральных контрацептивов.

Ключевые слова: осложнения гормональной контрацепции, эстроген-индуцированная хроническая венозная недостаточность, иммобилизованные субтилизины, доплерометрия.

Женщины репродуктивного возраста часто используют комбинированные оральные контрацептивы (КОК) как наиболее удобные средства контрацепции. Возможность их длительного применения ограничена ввиду развития осложнений, среди которых наиболее частое – эстроген-индуцированная хроническая венозная недостаточность (ХВН), повышение риска тромбообразования и снижение лимфооттока [1, 7]. Ведущими симптомами становятся чувство тяжести в ногах и отеки, венозная боль, внешние проявления в виде телеангиоэктазий, расширенных ретикулярных вен и пигментации. Для лечения ХВН в подобных случаях показаны флеботоники [6, 7], но их терапевтический ресурс ограничен тонирующим влиянием на гладкомышечный слой венозной стенки без существенной противовос-

палительной активности и без коррекции патологической гиперкоагуляции.

На фармацевтическом рынке России представлен инновационный лекарственный препарат тромбовазим[®], который при пероральном приеме обладает тромболитической и лимфостимулирующей активностью при тромботических состояниях и сосудистой патологии, с выраженной эффективностью и хорошей переносимостью [3–5]. Фармакологически активными агентами препарата являются высокоочищенные ферменты субтилизины, иммобилизованные на полиэтиленоксиде. По фармакологическим свойствам препарат принадлежит к группе лекарственных средств, действующих на сердечно-сосудистую систему, и может быть отнесен одновременно к двум подгруппам: а) средства, ингибирующие и стимули-

Эмедова Т.А. – ассистент кафедры акушерства и гинекологии, e-mail: tatianameddkb@ngs.ru
Макаров К.Ю. – д.м.н., доцент, проф. кафедры акушерства и гинекологии, e-mail: fdpngma@mail.ru
Мадонов П.Г. – д.м.н., проф., зав. кафедрой фармакологии, клинической фармакологии и доказательной медицины, e-mail: kaffarm@yandex.ru
Соколова Т.М. – д.м.н., проф. кафедры акушерства и гинекологии, e-mail: tatyana3965@mail.ru
Айдагулова С.В. – д.б.н., проф., зав. лабораторией клеточной биологии и фундаментальных основ репродукции, e-mail: s.aydagulova@gmail.com
Маринкин И.О. – д.м.н., проф., зав. кафедрой акушерства и гинекологии, e-mail: rector@ngmu.ru

рующие систему свертывания крови; б) средства, улучшающие кровоснабжение органов и тканей в подразделе «средства, улучшающие кровоснабжение и метаболизм миокарда». Наряду с этим имеются данные о противовоспалительной активности субтилизинов и позитивном влиянии при трофических изменениях в тканях [8–10].

В настоящий момент в клинической практике нет общепринятой шкалы или тест-системы для определения достоверных критериев связи ХВН и приема КОК. Между тем известно, что манифестная картина ХВН, возникшая в первые 4–6 мес. приема КОК, с высокой степенью вероятности считается эстроген-индуцированной [4, 7]. Цель нашей работы – изучить клиническую эффективность иммобилизованных субтилизинов при лечении хронической венозной недостаточности, впервые возникшей у женщин репродуктивного возраста на фоне приема комбинированных оральные контрацептивов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Проведено наблюдательное исследование для оценки эффективности и переносимости лекарственного препарата на основе иммобилизованных субтилизинов. Диагностика симптомов и лечение ХВН проводились в соответствии с клиническими рекомендациями Ассоциации флебологов России по лечению хронических заболеваний вен. Работа выполнена с соблюдением требований Хельсинкской декларации по обследованию и лечению людей и одобрена комитетом по этике Новосибирского государственного медицинского университета 23 ноября 2014 г., протокол № 3.

Обследовано 73 женщины репродуктивного возраста ($32,8 \pm 2,9$ года) с клинической картиной ХВН, непрерывно принимающих КОК в течение 2–5 лет. У всех пациенток впервые выявленная ХВН развилась в течение 6 первых месяцев приема КОК. Критерии включения в исследование: возраст 18–45 лет; симптомы хронических заболеваний вен клинического класса C0s–C1s по шкале CEAP, впервые возникших на фоне приема КОК; отсутствие беременности на протяжении исследования; отсутствие новых модифицируемых факторов риска варикозной болезни на фоне приема КОК. Критерии исключения: отказ пациентки от участия в исследовании; клинические и лабораторные признаки гипокоагуляции; прием препаратов, влияющих на свертывающую систему крови; онкологические заболевания; тромбозы вен нижних конечностей в анамнезе и на протяжении исследования.

Всем пациенткам проведено комплексное обследование: сбор анамнеза, общий и гинекологический осмотр, биохимический анализ крови, исследование гемостаза, УЗИ органов малого таза с доплерометрией. Иммобилизованные субтилизин были назначены в дозе 1600 ЕД в сутки в 2 приема за 30–40 мин до еды в течение 15 дней.

В ходе работы использована классификация CEAP (Clinical, Etiological, Anatomical and Pathophysiological – клиническая, этиологическая, анатомическая и патофизиологическая), которая была издана в середине 1990-х годов и пересмотрена в 2004 г. [10]. В настоящее время классификация CEAP рекомендована к использованию в повседневной клинической практике международными научными объединениями, а также Ассоциацией флебологов России [7]. Шкала VCSS (Venous Clinical Severity Score – оценка значимости венозных клинических проявлений) была разработана специальным комитетом Американского венозного форума в 2000 г. с целью дополнения классификации CEAP инструментом оценки состояния пациента при динамическом наблюдении [11].

Выраженность субъективных симптомов ХВН до и после лечения оценивали по шкале VCSS. Данная шкала использует ряд клинических признаков, которым присваивают балльный эквивалент в зависимости от их выраженности. При клиническом осмотре по шкале VCSS оценивали боль в ногах, наличие варикозно-измененных вен и отека, пигментацию кожи, проявления воспаления и индурации, а также режим ношения компрессионного трикотажа – каждый признак от 0 до 3 баллов. Оценка суммы баллов при динамическом наблюдении позволяет объективизировать жалобы при ХВН и самые незначительные изменения. Результаты биохимического анализа крови и показателей гемостаза пациенток получены в клинической сертифицированной лаборатории.

УЗИ проводили на ультразвуковом аппарате SonoScape SSI-6000 (SonoScape Medical Corp., Китай) в комплекте мультисигментных трансабдоминальных и трансвагинальных датчиков по общепринятой методике обследования органов малого таза у женщин. Исследование кровотока в матке начинали с обеих маточных артерий на уровне перешейка или в области трубных углов с соблюдением угла инсонации. Для оценки кровоснабжения матки и придатков использованы такие показатели, как максимальная систолическая скорость, конечно-диастолическая скорость и уголнезависимые индексы периферического сопротивления (резистентности и систолодиастолическое отношение) [2].

В зашифрованную индивидуальную карту каждой пациентки на момент включения в исследование вносили следующие данные: возраст, рост, масса тела; диагноз по клинической шкале СЕАР; результаты оценки по балльной шкале VCSS; показатели биохимического анализа крови; показатели гемостаза; данные УЗИ сосудов малого таза. На момент окончания курса терапии вносили результаты повторных осмотров и всех выполненных исследований, а также данные о безопасности применения препарата. В качестве параметров безопасности фиксировали такие нежелательные явления, как кровотечение, аллергия и другие.

При статистической обработке данных вычисляли среднее арифметическое (M), ошибку среднего арифметического (m), уровень значимости (p). Различие двух сравниваемых величин считалось достоверным при уровне $p < 0,05$. В случаях нормального распределения признаков для статистической оценки применяли параметрический t -критерий Стьюдента. При больших отклонениях распределений признака от нормального вида для повторных измерений зависимых выборок был использован непараметрический W -критерий Вилкоксона. Для выявления достоверности различий качественных показателей использовали критерий Фишера.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Средний возраст пациенток составил $32,8 \pm 2,9$ года, масса тела $69,4 \pm 11,0$ кг, рост $167,7 \pm 6,1$ см. По социальному статусу пациентки распределились следующим образом: служащие – 51 %, домохозяйки – 21,3 %, студентки – 14,9 % и рабочие – 12,7 % случаев. Таким образом, обследованные женщины имели, как правило, высшее или среднее специальное образование, преимущественно сидячую работу и гиподинамию. Все пациентки были осмотрены флебологом для оценки состояния венозной системы нижних конечностей, клинический класс C0s (СЕАР) диагностирован у 28 % пациенток, C1s по СЕАР – у 72 %. В структуре экстрагенитальной патологии первое ранговое место (10,4 %) занимало ожирение. Относительно высокий удельный вес имел хронический пиелонефрит (9,1 %).

Средний возраст менархе составил $13,0 \pm 1,4$ года. В структуре нарушений менструального цикла у женщин с ХВН, возникшей на фоне приема КОК, преобладала дисменорея – 13,1 %; в 10,4 % случаев – синдром поликистозных яичников. Анализ гинекологических заболеваний выявил наличие вагинитов у 13,1 %, эндометриоза у 10,4 %, эрозии шейки матки у 10 % и

миомы тела матки у 3,0 % пациенток. При анализе репродуктивной функции установлено, что каждая пятая пациентка в исследовании не имела беременности в анамнезе (в 19,5 % случаев). Своевременные роды: одни – у 37,6 %, двое и более – у 12,9 % женщин. Медицинские аборты в анамнезе имели место в 23,3 % случаев, самопроизвольный выкидыш – у 6,5 % пациенток. Таким образом, отягощенный акушерский анамнез имели около половины обследуемых женщин. По длительности приема КОК на момент включения в исследование пациентки расположились следующим образом: менее 2 лет – 21 женщина (29 %), от 2 до 4 лет – 22 (30 %), 5 лет и более – 30 (41 %).

Суммирование баллов по шкале VCSS при осмотре в начале лечения и по прошествии курса терапии субтилизинами продемонстрировало значимое улучшение состояния венозной системы нижних конечностей. Выявлены статистически значимые изменения ($p < 0,05$) таких признаков, как боль, отеки и субъективное ощущение тяжести в голенях после курса лечения (табл. 1).

Оценка показателей биохимического анализа крови у пациенток с ХВН, возникшей на фоне приема КОК (табл. 2), показала, что уровни общего белка и фибриногена существенно не изменялись в результате проводимой терапии, составив от 63 до 67 г/л. Содержание альбуминов до лечения было значимо ниже ($p < 0,05$), чем после лечения; повышенная концентрация гамма-глобулинов после лечения достоверно уменьшилась.

При анализе динамических показателей гемостаза статистически достоверно показана нормализация показателей свертывающей системы крови – активированное парциальное тромбопластиновое время (АПТВ), международное нормализованное отношение (МНО), агрегация

Таблица 1

Показатели шкалы VCSS до и после курса лечения субтилизинами

Показатель шкалы VCSS	Пациентки с ХВН ($n = 73$)	
	До лечения	После лечения
Боль	$1,6 \pm 0,1^*$	$1,2 \pm 0,05^*$
Варикозные вены	$1,5 \pm 0,03$	$1,4 \pm 0,07$
Отек	$2,1 \pm 0,21^*$	$1,5 \pm 0,3^*$
Тяжесть в голенях	$2,4 \pm 0,3^*$	$1,7 \pm 0,38^*$
Пигментация кожи	$0,6 \pm 0,01$	$0,7 \pm 0,01$
Воспаление	$0,1 \pm 0,01$	$0,1 \pm 0,01$
Компрессионная терапия	$1,9 \pm 0,28$	$2,1 \pm 0,21$

Примечание. Здесь и в табл. 2–4 * – отличие от величины соответствующего показателя до лечения статистически значимо при $p < 0,05$.

Таблица 2

Показатели биохимического анализа крови пациенток до и после курса лечения субтилизинами

Показатель, содержание	Нормативный показатель	Пациентки с ХВН (n = 73)	
		До лечения	После лечения
Общий белок, г/л	68,5 ± 1,5	63,0 ± 4,2	67,0 ± 3,4
Альбумины, г/л	61,1 ± 0,5	51,0 ± 1,0*	55,0 ± 0,9*
Альфа-1-глобулины, г/л	5,9 ± 0,1	5,3 ± 0,7	5,4 ± 0,9
Альфа-2-глобулины, г/л	8,4 ± 0,2	8,7 ± 0,5	8,6 ± 0,4
Гамма-глобулины, г/л	15,2 ± 0,8	18,9 ± 0,6*	16,0 ± 0,3*
Фибриноген, г/л	3,21 ± 0,15	3,52 ± 0,13	3,31 ± 0,11
С-реактивный белок, мг/л	0,9 ± 0,5	0,30 ± 0,10*	0,16 ± 0,08*

Таблица 3

Показатели гемостаза до и после курса лечения субтилизинами

Показатель гемостаза	Нормативный показатель	Пациентки с ХВН (n = 73)	
		До лечения	После лечения
АПТВ, с	31,0 ± 2,7	32,6 ± 1,8	33,1 ± 2,6
МНО, усл. ед.	1,10 ± 0,17	1,18 ± 0,30	1,09 ± 0,09
Содержание РФМК, мг/дл	3,1 ± 0,8	5,7 ± 1,2	3,50 ± 1,03*
Содержание Д-димеров, мкг/л	386 ± 173	590 ± 127	406 ± 119*
Агрегация с коллагеном, %	36,70 ± 2,83	34,90 ± 1,90	37,40 ± 3,82

Таблица 4

Допплер-показатели кровотока у пациенток с ХВН до и после курса лечения субтилизинами

Показатель	Нормативный показатель [2]	Пациентки с ХВН (n = 73)	
		До лечения	После лечения
Индекс резистентности	0,58 ± 0,04	0,73 ± 0,05	0,62 ± 0,07*
Систолю-диастолическое отношение	3,0 ± 0,2	3,52 ± 0,19	3,34 ± 0,20

с коллагеном, что подтверждает снижение влияния на один из основных факторов тромбообразования (табл. 3). Также обнаружена отчетливая тенденция изменения содержания растворимых фибрин-мономерных комплексов (РФМК) и Д-димеров, которые являются наиболее информативными показателями тромбинемии и активации внутрисосудистого свертывания. Так, уровень РФМК до начала приема субтилизинов превышал нормативный показатель в 1,83 раза, уровень Д-димеров имел тенденцию к увеличению (в 1,53 раза в сравнении с физиологической нормой). После курса лечения отмечено достоверное уменьшение маркеров тромбинемии.

Для оценки реологических и вазопротективных свойств иммобилизованных субтилизинов оценивали количественные показатели доплерометрии сосудов малого таза маточных, аркуатных и радиальных артерий. Изучение характеристик кровотока в маточных артериях у обследуемых женщин до лечения показало, что величина ин-

декса резистентности была выше референсных значений, а после курса лечения достоверно снизилась и практически пришла в норму (табл. 4). При этом на величину систоло-диастолического отношения, также изначально повышенного у женщин с ХВН, курс проведенной терапии существенного влияния не имел, однако выявлена тенденция к снижению данного показателя.

Таким образом, в исследовании продемонстрирована эффективность иммобилизованных субтилизинов в лечении ХВН на фоне приема КОК. Выявлены объективные статистически значимые улучшения согласно клинической шкале VCSS по таким признакам, как боль в ногах, венозные отеки и чувство тяжести в голенях. Одним из важнейших целевых эффектов субтилизинов является уменьшение признаков гиперкоагуляции и соответствующее снижение риска тромбообразования – к окончанию курса лечения были снижены и стабилизированы такие показатели тромбинемии, как АПТВ, МНО и проба агре-

гации с коллагеном. Кроме того, в исследовании продемонстрированы ключевые противовоспалительные эффекты субтилизинов – снижение содержания С-реактивного белка и гамма-глобулинов у пролеченных пациенток. Вазопротективное влияние препарата на венозные и артериальные сосуды продемонстрировано в ходе ультразвукового доплеровского исследования сосудов малого таза, и статистически значимая положительная динамика выявлена в реологических показателях.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование позволяет сделать вывод, что применение иммобилизованных субтилизинов при эстроген-индуцированной ХВН позволяет получить положительный эффект даже после одной курсовой дозы. Отмечено позитивное влияние на объективный статус пациенток по данным обследований по шкале VCSS. У пациенток, принимавших препарат на основе иммобилизованных субтилизинов, выявлено значимое улучшение показателей кровотока в сосудах матки со стабилизацией свертывающей системы крови и уменьшением воспалительного компонента. У препарата благоприятное соотношение эффективности и безопасности. Таким образом, тромбовазим® является эффективным и безопасным для лечения ХВН у женщин на фоне длительного приема КОК.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов и финансовой заинтересованности.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гребенникова Г.А. Менеджмент побочных эффектов комбинированной гормональной контрацепции (обзор международных рекомендаций) // Репродуктив. медицина. 2014. (3-4). 107–109.

2. Зыкин Б.И., Проскуракова О.В., Буланов М.Н. и др. Стандартизация ультразвукового исследования в гинекологии. II. Допплерографические нормативы артериального кровотока // Эхография. 2001. 2. (3). 289–296.

3. Мадонов П.Г., Киншит Д.Н., Ершов К.И. и др. Опыт клинического применения нового лекарственного препарата Тромбовазим в сосудистой хирургии // Ангиол. и сосуд. хирургия. 2015. 21. (1). 99–104.

4. Мишенина С.В. Эффективность перорального препарата Тромбовазим® в терапии тромбозов глубоких вен нижних конечностей // Ангиол. и сосуд. хирургия. 2016. 22. (3). 91–95.

5. Плотников М.Б., Дыгай А.М., Алиев О.И. и др. Антитромботический и тромболитический эффект нового отечественного протеолитического препарата тромбовазима // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 2009. 147. (4). 418–421.

6. Российские клинические рекомендации по диагностике и лечению хронических заболеваний вен // Флебология. 2013. 2. (2). 6–47.

7. Цуканов Ю.Т., Цуканов А.Ю. Опыт 6-месячного применения экстракта красных листьев винограда при гормон-индуцированной флебопатии // Ангиол. и сосуд. хирургия. 2014. 20. (3). 102–107.

8. Mao R., Zhou K., Han Z., Wang Y. Subtilisin QK-2: secretory expression in *Lactococcus lactis* and surface display onto gram-positive enhancer matrix (GEM) particles // Microb. Cell. Fact. 2016. 15. ID 80.

9. Tamura Y., Okada K., Kawao N. et al. Profibrinolytic effect of Enzamin, an extract of metabolic products from *Bacillus subtilis* AK and *Lactobacillus* // J. Thromb. Thrombolysis. 2011. 32. (2). 195–200.

10. Yan F., Yan J., Sun W. et al. Thrombolytic effect of subtilisin QK on carrageenan induced thrombosis model in mice // J. Thromb. Thrombolysis. 2009. 28. (4). 444–448.

11. Rutherford R.B., Padberg F.T., Comerota A.J. et al. Venous severity scoring: An adjunct to venous outcome assessment // J. Vasc. Surg. 2000. 31. (6). 1307–1312.

POSITIVE EFFECT OF IMMOBILIZED SUBTILISINS AT THE TREATMENT OF ESTROGEN-INDUCED CHRONIC VENOUS INSUFFICIENCY

Tatyana Annavna EMEDOVA, Konstantin Yur'evich MAKAROV,
Pavel Gennad'evich MADONOV, Tatyana Mihaylovna SOKOLOVA,
Svetlana Vladimirovna AYDAGULOVA, Igor' Olegovich MARINKIN

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

Objective. To study the clinical efficacy of immobilized subtilisins in ten times dosage for the treatment of estrogen-induced chronic venous insufficiency (CVI) in women of reproductive age. **Material and methods.** 73 women $32,8 \pm 2,9$ years old with CVI occurred for the first time on the background of combined oral contraceptives. Women were treated by immobilized subtilisins in dose 800 units twice a day for 15 days. An observational study of the objective status was carried out before and after treatment using the VCSS scale, hemostasis, blood biochemical parameters and the ultrasound study of the small pelvic vessels. **Results.** The significant positive effect on objective status was revealed after treatment according to the modified VCSS scale. The decrease in the concentration of thrombinemia markers indices was revealed. Dopplerometry revealed an improvement in blood flow with stabilization of the vascular bed. **Conclusion.** Immobilized subtilisins are effective and safe for the treatment of chronic venous insufficiency and dishormonal thrombophilic status for women on the background of long-term combined oral contraceptives using.

Key words: complications of hormonal contraception, estrogen-induced chronic venous insufficiency, immobilized subtilisins, Doppler analysis.

Emedova T.A. – assistant of the chair for obstetrics and gynecology, e-mail: tatianameddkb@ngs.ru

Makarov K. Yu. – doctor of medical sciences, associate professor, professor of the chair for obstetrics and gynecology, e-mail: fdpngma@mail.ru

Madonov P.G. – doctor of medical sciences, professor, head of the chair for pharmacology, clinical pharmacology and evidence-based medicine, e-mail: kaffarm@yandex.ru

Sokolova T.M. – doctor of medical sciences, professor of the chair for obstetrics and gynecology, e-mail: tatyana3965@mail.ru

Aydagulova S.V. – doctor of biological sciences, professor, head of the laboratory for cellular biology and fundamental basis of reproduction, e-mail: s.aydagulova@gmail.com

Marinkin I.O. – doctor of medical sciences, professor, head of the chair for obstetrics and gynecology

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ ОПЫТ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ НИЗКОПОТОЧНОЙ АНЕСТЕЗИИ НА ОСНОВЕ СЕВОФЛЮРАНА И ДЕСФЛЮРАНА И ТОТАЛЬНОЙ ВНУТРИВЕННОЙ АНЕСТЕЗИИ ПРИ МАЛОИНВАЗИВНЫХ ВМЕШАТЕЛЬСТВАХ

Максим Владимирович КРОТОВ¹, Рамазан Амирович БИЧУРИН²,
Алексей Иванович ГРИЦАН¹

¹Красноярский государственный медицинский университет
им. профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России
660022, г. Красноярск, ул. Партизана Железняка, 1

²Красноярская межрайонная клиническая больница № 4
660094, г. Красноярск, ул. Кутузова, 71

Целью исследования явилось сравнительное изучение состояния и изменений параметров гемодинамики, выраженности стресс-реакций, синдрома послеоперационной тошноты и рвоты и удовлетворенности пациентов анестезией при проведении эндоскопических операций с использованием низкопоточной анестезии на основе севофлюрана, десфлюрана и тотальной внутривенной анестезии на основе пропофола. В исследование включено 150 пациенток с трубными формами бесплодия, которым проводилось оперативное лечение под общей анестезией на основе севофлюрана или десфлюрана с использованием надгортанного воздуховода и применением вентиляции поддержкой давлением и тотальной внутривенной анестезией с искусственной вентиляцией легких. По результатам исследования установлено, что все виды анестезии, применявшиеся у пациентов, показали свою состоятельность, адекватность и безопасность для пациента с точки зрения анестезиологических осложнений. Ни один из видов анестезии не вызвал серьезных гемодинамических сдвигов. Однако методы низкопоточной ингаляционной анестезии на основе севофлюрана и десфлюрана оказывают меньшее влияние на гемодинамику. Показано, что методики низкопоточной ингаляционной анестезии являются перспективными при малоинвазивных вмешательствах как обеспечивающие наиболее адекватную защиту от операционного стресса и наименьшую частоту послеоперационных побочных эффектов.

Ключевые слова: низкопоточная анестезия, севофлюран, десфлюран, надгортанный воздуховод, тотальная внутривенная анестезия, пропофол.

Несмотря на значительное количество исследований, степень защиты организма от операционной травмы до сих пор продолжает оставаться предметом дискуссии [4]. По мнению специалистов, одним из перспективных направлений следует считать ингаляционную анестезию, которая в данный момент времени переживает своеобразную «эпоху возрождения» [1, 5]: в 2012 г. доля анестезий на основе севофлюрана превысила 70 % от числа общих анестезий в России (в 2004 г. она составляла 21 %) [3]. Этому в значительной степени способствует использование современных ингаляционных анестетиков – изофлюрана, десфлюрана, севофлюрана и других. Они, при минимальном уровне биотрансформации, своей

нетоксичности, быстрой индукции в анестезию и хорошей управляемости, а также коротком периоде полувыведения из организма, практически не оказывают повреждающего воздействия на жизненно важные органы [7, 8], что делает возможным их широкое использование в анестезиологии. Однако высокая стоимость современной наркозно-дыхательной аппаратуры до недавнего времени ограничивала их использование.

Усилия исследователей в последнее время были направлены на создание и внедрение новых технических решений в сфере ингаляционной анестезии, позволяющих обеспечить снижение расхода указанных препаратов. По данным J. Baum [6], желаемый эффект достигается вве-

Кротов М.В. – ассистент кафедры анестезиологии и реаниматологии, e-mail: krotov_mv@mail.ru

Бичурин Р.А. – к.м.н., ассистент кафедры анестезиологии и реаниматологии, зав. отделением анестезиологии и реанимации, e-mail: biramir@yandex.ru

Грицан А.И. – д.м.н., проф., зав. кафедрой анестезиологии и реаниматологии, e-mail: gritsan67@mail.ru

дением ингаляционных анестетиков с использованием низкочастотной методики анестезии и закрытого контура наркозно-дыхательного аппарата, надежно обеспечивающих адекватную анестезию, проведение искусственной вентиляции легких и поддержание газообмена. Однако в литературе практически отсутствуют сведения об изменениях газообмена и наличии стресс-реакций у пациентов в ходе применения низкочастотной ингаляционной анестезии на основе севофлурана и десфлурана. Кроме того, отдельный интерес представляют особенности течения стадий анестезии, раннего послеоперационного периода и удовлетворенность пациента анестезиологическим пособием, выполненным с использованием надгортанного воздуховода, при малоинвазивных вмешательствах.

Целью настоящего исследования явилось сравнительное изучение реакции органов и систем у пациенток, которым применялись различные тактики анестезиологического обеспечения эндоскопических операций по поводу трубных форм бесплодия: низкочастотная анестезия на основе севофлурана с применением надгортанного воздуховода I-gel и режима вентиляции с поддержкой давлением (PS), низкочастотная анестезия на основе десфлурана с применением надгортанного воздуховода I-gel и режима вентиляции с PS и тотальная внутривенная анестезия на основе пропофола с искусственной вентиляцией легких. При этом для оценки адекватности анестезиологического обеспечения использовались следующие параметры: контроль гемодинамики (неинвазивное измерение артериального давления, измерение частоты сердечных сокращений (ЧСС), мониторинг ЭКГ и сегмента ST во II стандартном отведении), выраженность стресс-реакций, контроль скорости пробуждения, выраженность синдрома послеоперационной тошноты и рвоты (СПОТР) и удовлетворенности пациентов анестезией. Кроме того, в случае ингаляционной анестезии дополнительно проводилась оценка параметров внешнего дыхания [2].

С целью объективного контроля глубины анестезии пациентам проводилось мониторирование биспектрального индекса (BIS), также осуществ-

лялся контроль парциального давления углекислого газа в конце выдоха с целью оценки адекватности вентиляции легких.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В проспективное рандомизированное исследование включены 150 женщин в возрасте от 18 до 40 лет с трубными формами бесплодия, не имеющие экстрагенитальной сопутствующей патологии, с риском анестезиологического пособия по ASA I-II. Всем пациенткам проводились оперативные вмешательства в плановом порядке с выполнением следующих объемов оперативного лечения: лапароскопия, рассечение спаек, хроматосальпингография, гистероскопия. Некоторым больным дополнительно выполнялся оварио- или фимбриолизис. Исследование одобрено локальным этическим комитетом.

Премедикация на операционном столе: внутримышечно назначался атропин в дозе 15 мкг/кг и внутривенно мидазолам в дозе 85 мкг/кг и фентанил в дозе 1,5 мкг/кг. В зависимости от методики анестезиологического пособия пациенты были разделены на три равные группы по 50 человек (табл. 1). Как видно из табл. 1, группы пациентов однородны и не имеют статистически значимых различий по возрасту и массе тела.

В первой группе применялась низкочастотная анестезия на основе севофлурана и наркотических анальгетиков. Индукция осуществлялась пропофолом в средней дозе $2,5 \pm 0,3$ мг/кг и фентанилом в средней дозе $1,7 \pm 0,2$ мкг/кг. После индукции устанавливался надгортанный воздуховод I-gel, больная переводилась на вспомогательную вентиляцию легких (PS), поддержание анестезии осуществлялось ингаляционным введением севофлурана в концентрации 1,5–2,5 об.% с кислородом, а анальгезия достигалась дробным введением фентанила в суммарной дозе 250 мкг/ч.

Во второй группе использовалась низкочастотная анестезия на основе десфлурана и наркотических анальгетиков. Индукция осуществлялась пропофолом в средней дозе $2,6 \pm 0,4$ мг/кг и фентанилом в средней дозе $1,7 \pm 0,2$ мкг/кг. После индукции устанавливался надгортанный

Таблица 1

Характеристика исследуемых пациенток

Показатель	Группа исследования		
	1-я группа	2-я группа	3-я группа
Число пациенток, n (%)	50 (33,33)	50 (33,33)	50 (33,33)
Возраст, лет (min–max)	$29,9 \pm 5,6$ (19–40)	$32,8 \pm 6,1$ (18–40)	$31,3 \pm 7,7$ (19–40)
Масса тела, кг (min–max)	$60,6 \pm 8,6$ (48–85)	$59,9 \pm 8,8$ (48–82)	$62,1 \pm 9,0$ (47–84)

воздуховод I-gel, пациентка переводилась на вспомогательную вентиляцию легких (PS), поддержание анестезии осуществлялось ингаляционным введением десфлюрана в концентрации 6–7 об. % с кислородом, а анальгезия достигалась дробным введением фентанила в суммарной дозе 250 мкг/ч.

В третьей группе применялась тотальная внутривенная анестезия на основе пропофола и наркотических анальгетиков. Индукция осуществлялась пропофолом в средней дозе $2,4 \pm 0,6$ мг/кг и фентанилом в средней дозе $1,6 \pm 0,5$ мкг/кг. После индукции вводился сукцинилхолин в дозе 1–1,5 мг/кг, производилась прямая ларингоскопия и интубация трахеи. Больная переводилась на управляемую вентиляцию легких в режиме заданного дыхательного объема (VC) с параметрами: дыхательный объем V_t 8 мл/кг, частота вентиляции f 14 в минуту, положительное давление конца выдоха РЕЕР 4 см вод. ст., содержание кислорода во вдыхаемой газовой смеси FiO_2 0,3. Поддержание анестезии осуществлялось внутривенным введением пропофола со скоростью 12–14 мл/ч, а анальгезия достигалась дробным введением фентанила в суммарной дозе 300 мкг/ч.

Для проведения ингаляционной анестезии и респираторной поддержки использовался наркозно-дыхательный аппарат ChiranaVenarLibera Screen (Словакия) в режиме вентиляции с PS с параметрами: РЕЕР = 5 см вод. ст., давление поддержки P_s = 5 см вод. ст., чувствительность триггера – 5 л/мин.

У всех пациенток отслеживались параметры гемодинамики, регистрировалась ЭКГ, проводился мониторинг сегмента ST во II стандартном отведении, кривой пульсоксиметрии SpO_2 , концентрации CO_2 в конце выдоха $etCO_2$ и уровня кортизола. Оценка удовлетворенности пациента анестезией и выраженности синдрома послеоперационной тошноты и рвоты проводилась через 4 часа после операции. В первом случае критерии были следующие: плохая анестезия – вызвала неприятные ощущения и в дальнейшем ее применение нежелательно; приемлемая – есть отдельные жалобы, но считает проведенную анестезию вполне допустимой; хорошая – жалоб нет, в дальнейшем хотела бы получить аналогичное анестезиологическое пособие. Выраженность СПОТР оценивалась по 4-балльной шкале: 0 – тошноты и рвоты нет, 1 – легкая тошнота и рвота, 2 – выраженная тошнота, 3 – рвота; седация – по шкале Ramsey: 0 – полное бодрствование, 1 – легкая сонливость, 2 – выраженная сонливость, 3 – состояние сна.

Исследование осуществлялось в четыре этапа: 1-й этап – поступление больного в операци-

онную, 2-й этап – после индукции в анестезию, 3-й этап – через 15 мин после наложения карбоксиперитонеума, 4-й этап – перед удалением надгортанного воздуховода. Все пациенты в предоперационном периоде были осмотрены анестезиологом. При этом производилась стратификация анестезиологического риска по системе Американского общества анестезиологов. При поступлении в операционную всем пациентам обеспечивался периферический венозный доступ, проводилась премедикация. Ни у одной из 150 пациенток не отмечено значимой гипертензии и тахикардии непосредственно перед началом анестезиологического пособия. У всех пациенток по ЭКГ регистрировался синусовый ритм. Также не выявлено случаев нарушений ритма сердца и подъема или депрессии сегмента ST более 2 и 1 мм соответственно. Не зарегистрировано ни одного случая десатурации или гиперкапнии. У всех пациенток перед началом анестезиологического пособия были взяты образцы венозной крови для определения уровня кортизола.

Описательная статистика для количественных значений в случае нормального распределения по критерию Шапиро – Уилка представлена в виде среднего и его стандартного отклонения ($M \pm SD$). Оценка нулевой гипотезы об отсутствии различий при условии равенства дисперсий осуществлялась по критерию Стьюдента. Различия расценивали как статистически значимые начиная со значения $p < 0,05$.

Исследование выполнено на клинической базе кафедры анестезиологии и реаниматологии Красноярского государственного медицинского университета им. профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России в Красноярской межрайонной клинической больнице № 4.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Сравнительный анализ параметров гемодинамики показал, что в первой и второй группах пациентов отмечается статистически значимое снижение систолического, диастолического и, как следствие, среднего артериального давления к третьему этапу исследования по сравнению с исходными параметрами, что связано с достаточно выраженным гипотензивным действием ингаляционных анестетиков. Указанные изменения имеют однонаправленный характер. При этом статистически значимых различий по указанным параметрами между первой и второй группами на соответствующих этапах исследования не выявлено. В третьей группе изменения параметров гемодинамики носят сходный характер, однако на четвертом этапе исследования отмечается ста-

Таблица 2

Сравнительный анализ параметров гемодинамики и содержания кортизола в крови пациентов

Параметр	Группа	1-й этап	2-й этап	3-й этап	4-й этап
АДсис, мм рт. ст.	1	119,4 ± 12,8	125,7 ± 13,1	101,7 ± 10,8*	107,7 ± 11,5 ^{#^}
	2	118,1 ± 11,8	126,4 ± 12,6	103,9 ± 10,3*	106,4 ± 10,6 ^{#^}
	3	116,0 ± 13,1	127,2 ± 14,3	105,4 ± 11,9	139,1 ± 15,8 ^{*†}
АДд, мм рт. ст.	1	77,3 ± 9,9	81,2 ± 10,4	66,0 ± 8,4 [#]	69,7 ± 9,0 ^{#^}
	2	76,0 ± 8,2	81,2 ± 8,8	66,8 ± 7,2 [#]	68,4 ± 7,4 ^{#^}
	3	74,9 ± 10,9	82,4 ± 12,0	68,9 ± 10,1	88,4 ± 12,8
АДср, мм рт. ст.	1	91,3 ± 10,0	96,0 ± 10,4	77,9 ± 8,4*	82,4 ± 9,1 [^]
	2	90,0 ± 8,6	96,2 ± 9,5	79,2 ± 7,8 ^{*#}	81,1 ± 8,0 ^{#^}
	3	88,6 ± 11,2	97,3 ± 12,1	81,1 ± 10,3 [#]	105,3 ± 13,2 [†]
ЧСС, уд./мин	1	73,4 ± 9,1	84,4 ± 10,5	77,1 ± 9,7	84,4 ± 10,6
	2	72,5 ± 10,9	79,7 ± 12,0	78,1 ± 11,7	84,8 ± 12,7
	3	74,1 ± 11,6	82,2 ± 13,0	84,5 ± 13,2	90,4 ± 14,2
Содержание кортизола, нмоль/л (min–max)	1	447,8 ± 46,0 (377–551)		515,0 ± 52,9 [#] (433–633)	
	2	451,8 ± 52,1 (390–590)		501,5 ± 57,9 [#] (432–654)	
	3	450,9 ± 39,9 (398–550)		574,0 ± 50,8 [*] (506–700)	

Примечание. АДсис, АДд и АДср – соответственно систолическое, диастолическое и среднее артериальное давление. Обозначены статистически значимые ($p < 0,05$) отличия от величин соответствующих показателей пациентов: * – на 1-м этапе исследования, # – на 2-м этапе исследования, † – на 3-м этапе исследования, ^ – 1 группы на одном этапе исследования.

статистически значимая разница между первой и третьей, а также второй и третьей группами пациентов. Гипердинамическая реакция пациентов третьей группы обусловлена, по всей видимости, раздражением гортани эндотрахеальной трубкой. В целом ни в одной группе пациентов на всех этапах исследования не отмечено серьезных гемодинамических сдвигов. Также не установлено статистически значимой разницы в частоте сердечных сокращений между группами пациентов на всех этапах исследования.

Глубина анестезии оценивалась по величине BIS, значения которого на уровне 40–50 ед. считаются адекватными и обеспечивающими глубину анестезии, достаточную для проведения хирургических вмешательств. Она составила $44,2 \pm 3,3$ ед. в первой, $44,0 \pm 3,0$ ед. во второй и $45,1 \pm 4,2$ ед. в третьей группе пациентов. Не зарегистрировано ни одного случая интраоперационного пробуждения или эффекта присутствия больного в операционной.

Выраженность стресс-реакций оценивалась нами на основании определения уровня кортизола в крови исследуемых пациентов. Кортизол был выбран в качестве маркера стресс-реакций в виду того, что он самый информативный и специфический гормон симпатoadреналовой системы. Содержание кортизола на первом этапе исследова-

ния принималось как базовое, вне влияния операционного стресса, контрольное определялось на третьем этапе исследования, как на наиболее хирургически агрессивном. Установлено, что исходный уровень кортизола в крови исследуемых пациентов соответствует средним физиологическим нормам (табл. 2). К третьему этапу исследования в первых двух группах пациентов отмечается незначительное увеличение содержания кортизола в крови. В третьей группе значение регистрируемого параметра существенно возрастает (более чем на 27,3 % по отношению к исходному уровню). По всей видимости, изменения в третьей группе исследуемых пациентов объясняются интубацией трахеи, которая является более травматичной манипуляцией по сравнению с установкой надгортанного воздуховода и затрагивает гортань – сильную рефлексогенную зону. Вероятно, немаловажную роль играет и потенцирование эффекта наркотических анальгетиков ингаляционными анестетиками.

Детальный сравнительный анализ состояния и изменений параметров внешнего дыхания при низкпоточной анестезии на основе севофлюрана (первая группа пациентов) и десфлюрана (вторая группа) представлен нами ранее [2]. В связи с этим лишь отметим, что SpO₂ составила $98,6 \pm 1,1$ %, а etCO₂ – $36,2 \pm 4,2$ мм рт. ст. Исследуемые группы

пациенток по величине указанных параметров не различались. Время пробуждения определялось с момента прекращения подачи анестетика до восстановления уровня BIS до 85 ед. Минимальное время пробуждения отмечено во второй группе, оно составило $127,9 \pm 20,3$ с, максимальное – в третьей группе, $562,0 \pm 117,7$ с. Наименьшее время пробуждения во второй группе обусловлено фармакологическими свойствами десфлюрана, а именно, кратчайшим временем элиминации его из организма по сравнению с севофлюраном и пропофолом.

Удовлетворенность пациента анестезией оценивалась на основании субъективных ощущений. Пациенты всех трех групп оценили анестезию как хорошую или удовлетворительную, не зарегистрировано ни одной жалобы пациентов на низкое качество анестезии или неприятные ощущения. Выраженность СПОТР зафиксирована у 13 пациентов, из них 9 – из третьей группы. При этом у двух пациентов (1,33 %) отмечалась однократная послеоперационная рвота, у одиннадцати (7,33 %) – тошнота, остальные 137 пациентов жалоб на тошноту и рвоту не предъявляли.

ВЫВОДЫ

1. Изменения гемодинамики при проведении всех трех видов анестезии являются однонаправленными. Ни в одной группе пациентов не отмечено серьезных гемодинамических сдвигов. Однако методы ингаляционной низкпоточной анестезии обеспечивают менее выраженные изменения гемодинамики по сравнению с тотальной внутривенной анестезией.

2. Выраженность стресс-реакций при тотальной внутривенной анестезии существенно (в 1,8–2,5 раза) превышает аналогичный показатель при использовании методов ингаляционной низкпоточной анестезии. Это связано с низкой травмоопасностью манипуляций при установке надгортанного воздуховода, а также с потенцированием эффекта наркотических анальгетиков ингаляционными анестетиками (севофлюраном и десфлюраном).

3. Время пробуждения пациентов зависит от применяемого базисного анестетика, наименьшее отмечается при использовании десфлюрана, наибольшее – при использовании пропофола.

4. Выраженность синдрома послеоперационной тошноты и рвоты при всех исследованных

методах анестезии низкая, лишь несколько пациентов отметили неприятные ощущения после тотальной внутривенной анестезии.

5. Удовлетворенность пациентов анестезией высокая, все больные оценили ее как приемлемую или хорошую.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, все исследованные методы анестезиологического пособия показали свою состоятельность и безопасность. Однако методики низкпоточной ингаляционной анестезии на основе севофлюрана и десфлюрана с использованием надгортанного воздуховода и вспомогательных режимов вентиляции легких являются перспективными при малоинвазивных вмешательствах как обеспечивающие наиболее адекватную защиту от операционного стресса и наименьшую частоту послеоперационных побочных эффектов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Габитов М.В., Шадрин В.Н. Опыт применения низкпоточной ингаляционной анестезии севофлюраном в абдоминальной хирургии // *Клин. анестезиология и реаниматология*. 2008. (4). 2–5.
2. Грицан А.И., Кротов М.В., Бичурин Р.А. Сравнительный анализ параметров внешнего дыхания в процессе анестезии на основе севофлюрана и десфлюрана при малоинвазивных вмешательствах // *Сиб. науч. журн.* 2016. 36. (3). 23–27.
3. Лихванцев В.В. Перспективы ингаляционной анестезии // *Вестн. интенсив. терапии*. 2012. (1). 21–24.
4. Осипова Н.А., Петрова В.В., Митрофанов С.В., Береснев В.А. Системная и регионарная антиноцицептивная защита пациентов в хирургии: проблема выбора // *Анестезиология и реаниматология*. 2006. (4). 12–16.
5. Шадуз В.С., Доброносова М.В., Григорьев Е.В. Ингаляционная анестезия – преимущества и недостатки // *Сиб. мед. журн.* 2014. (5). 5–9.
6. Baum J. Low flow anaesthesia. 2nd Edn. Butterworths, 2001. 242 p.
7. Nyktari V., Papaioannou A., Volakakis N. et al. Respiratory resistance during anaesthesia with isoflurane, sevoflurane, and desflurane: a randomized clinical trial // *Br. J. Anaesth.* 2011. 107. (3). 454–461.
8. Zhang B., Tian M., Zhen Y. et al. The effects of isoflurane and desflurane on cognitive function in humans // *Anesth. Analg.* 2014. 114. (2). 410–415.

COMPARATIVE EXPERIENCE OF USING LOW-FLOW SEVOFLURANE- AND DESFLURANE-BASED ANESTHESIA AND TOTAL INTRAVENOUS ANESTHESIA IN MINIMAL INVASIVE SURGERY

Maxim Vladimirovich KROTOV¹, Ramazan Amirovich BICHURIN², Alexey Ivanovich GRITSAN¹

¹ *Krasnoyarsk State Medical University n.a. V.F. Voyno-Yasenetsky
660022, Krasnoyarsk, Partizan Zheleznyak str., 1*

² *Krasnoyarsk Interdistrict Clinical Hospital № 4
660094, Krasnoyarsk, Kutuzov str., 71*

The investigation aim was a comparative study of the status and changes of hemodynamic parameters, severity of stress reactions, syndrome of postoperative nausea and vomiting and patient satisfaction with anesthesia when performing endoscopic surgery with the use of low flow sevoflurane-, desflurane-based anesthesia and total intravenous propofol-based anesthesia. 150 patients with tubal forms of infertility underwent surgical treatment under general sevoflurane- or desflurane-based anesthesia with the use of the epiglottic airduct and ventilation with pressure support and total intravenous anesthesia with artificial lung ventilation have been examined. Based on the research findings it has been found that all applied types of anesthesia demonstrated their validity, adequacy and safety for the patient. None of the types of anesthesia did cause serious hemodynamic changes. However, low flow techniques of inhalational sevoflurane- and desflurane-based anesthesia have less influence on the hemodynamics. It is shown that low-flow techniques of inhalation anesthesia are promising for minimally invasive interventions as providing the most adequate protection against the operating stress and the least frequency of postoperative side effects.

Key words: low-flow anaesthesia, sevoflurane, desflurane, epiglottic airduct, total intravenous anesthesia, propofol.

Krotov M.V. – postgraduate student, assistant of department of anesthesiology and critical care medicine,
e-mail: krotov_mv@mail.ru

Bichurin R.A. – candidate of medical sciences, assistant of department of anesthesiology and critical care medicine,
head of the department of anesthesiology and intensive care, e-mail: biramir@yandex.ru

Gritsan A.I. – doctor of medical sciences, professor; head of department of anesthesiology and critical care medicine,
e-mail: gritsan67@mail.ru

УЛЬТРАЗВУКОВАЯ БИОМИКРОСКОПИЯ ПЕРИФЕРИИ СЕТЧАТКИ У ПАЦИЕНТОВ С КАТАРАКТОЙ ПРИ МИОПИИ ВЫСОКОЙ СТЕПЕНИ

Олег Львович ФАБРИКАНТОВ^{1,2}, Анастасия Александровна ПИЛЯГИНА¹

¹ МНТК «Микрохирургия глаза» им. академика С.Н. Федорова Минздрава России, Тамбовский филиал
392000, г. Тамбов, Рассказовское шоссе, 1

² Тамбовский государственный университет им. Г.Р. Державина
392000, г. Тамбов, ул. Советская, 93

Миопия высокой степени часто приводит к развитию хориоретинальных дистрофических изменений, которые в свою очередь определяют высокий риск развития отслойки сетчатки. Непрозрачные оптические среды глаза препятствуют визуализации крайней периферии глазного дна общепринятыми методами осмотра. Ультразвуковая биомикроскопия (УБМ) периферии сетчатки выполнима при различной степени помутнения хрусталика. **Цель исследования** – изучить состояние периферического витреоретинального интерфейса и оценить динамику его изменения методом УБМ у пациентов с миопией высокой степени до и после факоэмульсификации катаракты. **Материал и методы.** Обследовано 74 пациента (96 глаз) с миопией высокой степени и катарактой в возрасте $65,04 \pm 1,16$ года. Сферический эквивалент рефракции составлял $13,63 \pm 0,59$ дптр, длина переднезадней оси глаза – $28,17 \pm 0,23$ мм. Исследование периферии сетчатки с помощью УБМ проводилось на аппарате UD-6000, Tomey (Япония) до факоэмульсификации катаракты, в первые дни после операции, через 1 мес., через 6 мес. **Результаты.** УБМ позволила диагностировать акустические изменения периферии сетчатки в 85 % случаев (82 глаза) при миопии высокой степени и катаракте. Нормальная акустическая картина периферии сетчатки выявлена в 15 % случаев (14 глаз). Акустические изменения прилежащего к периферии сетчатки стекловидного тела обнаружены в 39 % случаев (37 глаз). Изменения периферии сетчатки и прилежащего стекловидного тела, выявляемые методом УБМ, носят прогрессирующий характер. Статистически значимые изменения отмечаются к 6 месяцу наблюдения. **Заключение.** Информация о состоянии периферии сетчатки и прилежащего стекловидного тела, полученная с помощью УБМ, расширяет возможности диагностики при миопии высокой степени и наличии помутнений хрусталика, помогая в определении тактики ведения пациента и проведении своевременной профилактики ретинальных осложнений.

Ключевые слова: катаракта, миопия высокой степени, ультразвуковая биомикроскопия, ретиношизис, периферия сетчатки.

Миопия высокой степени сопровождается изменениями в различных структурах глазного яблока, часто приводит к развитию дистрофических изменений в сетчатке, стекловидном теле [1, 6–8, 13]. Периферические витреохориоретинальные дистрофии определяют высокий риск развития отслойки сетчатки, особенно при дегенеративной высокой миопии [4, 10]. Известно, что помутнения хрусталика при высокой близорукости встречаются в 15–55 % случаев и развиваются на 10 лет раньше, чем при других видах рефракции [5]. Непрозрачные оптические среды глаза препятствуют визуализации крайней периферии глазного дна общепринятыми методами осмотра.

Ультразвуковая биомикроскопия (УБМ) является одним из высокоинформативных методов диагностики в офтальмологии, позволяет изучать структуры глаза независимо от прозрачности оптических сред и ширины зрачка [11, 14]. Разработанный и внедренный в офтальмологическую практику С.Ј. Pavlin et al. в 1990 г. [17] метод УБМ в настоящее время широко применяется для изучения патологии переднего отрезка глаза [9, 12].

Ряд авторов [15–17] применили УБМ для обнаружения изменений периферии сетчатки при передней пролиферативной витреоретинопатии, ретинопатии недоношенных. А.Р. Амбарцумян с соавт. [2] отмечают информативность УБМ

Фабрикантов О.Л. – д.м.н., директор, зав. кафедрой офтальмологии, e-mail: naukatmb@mail.ru
Пилягина А.А. – врач-офтальмолог, e-mail: naukatmb@mail.ru

при диагностике кист плоской части цилиарного тела, данный метод предоставляет возможность оценки увеального тракта в «немой зоне» и на периферии сетчатки; автор указывает на то, что «существует единый патомеханизм формирования кист в области плоской части цилиарного тела и периферии сетчатки». Н.А. Винник изучила состояние крайней периферии сетчатки и прилежащего стекловидного тела с использованием метода УБМ при различной патологии глаза [3, 4]. Визуализация периферии сетчатки с помощью метода УБМ представляет особую ценность у пациентов с миопией высокой степени и наличием помутнений хрусталика. Целенаправленных исследований по изучению состояния периферии сетчатки и оценке динамики изменений у пациентов с миопией высокой степени и помутнениями хрусталика до и после хирургии катаракты на достаточном клиническом материале не проводилось. Вышеизложенное определило целесообразность и актуальность настоящего исследования.

Цель работы – изучить состояние периферического витреоретинального интерфейса и оценить динамику его изменения методом УБМ у пациентов с миопией высокой степени до и после фактоэмульсификации катаракты.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

На базе Тамбовского филиала МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Федорова обследовано 74 пациента (96 глаз) с миопией высокой степени и помутнениями хрусталика различной степени выраженности. Все пациенты получили полную информацию и дали письменное осознанное добровольное согласие на участие в исследовании. Работа одобрена Локальным этическим комитетом. Возраст пациентов варьировал от 37 до 88 лет ($65,04 \pm 1,16$ года). Сферический эквивалент рефракции составил от $-6,75$ до $-24,0$ дптр, в среднем $13,63 \pm 0,59$ дптр. Максимально скорректированная острота зрения до операции варьировала от светоощущения с правильной светопроекцией до 0,8, среднее значение составило $0,24 \pm 0,02$. Длина переднезадней оси (ПЗО) глаза по данным ультразвуковой биометрии составила от 25,4 до 34,8 мм ($28,17 \pm 0,23$ мм).

Всем пациентам, вошедшим в анализ данной работы, было проведено полное офтальмологическое обследование, включавшее визометрию, рефрактометрию, тонометрию, эхобиометрию, биомикроскопию, офтальмоскопию, ультразвуковое В-сканирование, а также исследование периферии сетчатки с помощью ультразвуковой биомикроскопии (УБМ) на аппарате UD-6000, Tomey

(Япония). УБМ выполняли до операции, в первые дни после операции, через 1 мес., через 6 мес.

Исследование периферии сетчатки методом УБМ проводилось в положении пациента лежа на спине. После эпibuльбарной анестезии в конъюнктивальный свод помещалась силиконовая чашечка, которая заполнялась иммерсионной жидкостью, в нее погружалась головка ультразвукового датчика и осуществлялось сканирование структур глаза с помощью меридиональных и фронтальных алгоритмов. В ходе ультразвукового исследования оценивались акустические изменения периферии сетчатки и прилежащего стекловидного тела в четырех сегментах глазного дна: верхневнутренний, нижневнутренний, верхненаружный, нижненаружный.

Непрерывные переменные представлены при нормальном распределении в виде среднего арифметического и ошибки среднего среднеквадратического отклонения ($M \pm m$), номинальные данные представлены в виде абсолютных и относительных частот объектов исследования, за «N (общее)» принято общее количество обследованных глаз, а за «N (доля)» взято количество глаз с выявленными изменениями. Для оценки различий количественных данных использовали критерий Стьюдента, для номинальных данных – критерий Мак-Нимара. Критический уровень значимости нулевой статистической гипотезы (p) принимали равным 0,01.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Использование метода УБМ позволило диагностировать акустические изменения периферии сетчатки в 85 % случаев (82 глаза) при миопии высокой степени и катаракте. Нормальная акустическая картина периферии сетчатки выявлена в 15 % случаев (14 глаз). Для оценки акустических изменений периферии сетчатки использовали классификацию Н.А. Винник [3]. Начальный ретиношизис (I тип УБМ-изменений) на этапе дооперационного обследования определялся в 12 % (12 глаз) (рисунок а), прогрессирующий ретиношизис (II тип УБМ-изменений) – в 8 % (8 глаз) (см. рисунок б), выраженный ретиношизис (III тип УБМ-изменений) – в 65 % случаев (62 глаза) (см. рисунок в).

В послеоперационном периоде наблюдается прогрессирование акустических изменений периферии сетчатки. До операции и в первые дни после фактоэмульсификации катаракты нормальная акустическая картина периферии сетчатки определялась в 15 % (14 глаз), к 1 месяцу наблюдения – в 7 % (4 глаза), к 6 месяцу наблюдения – в 5 % случаев (1 глаз). При сравнении показателей

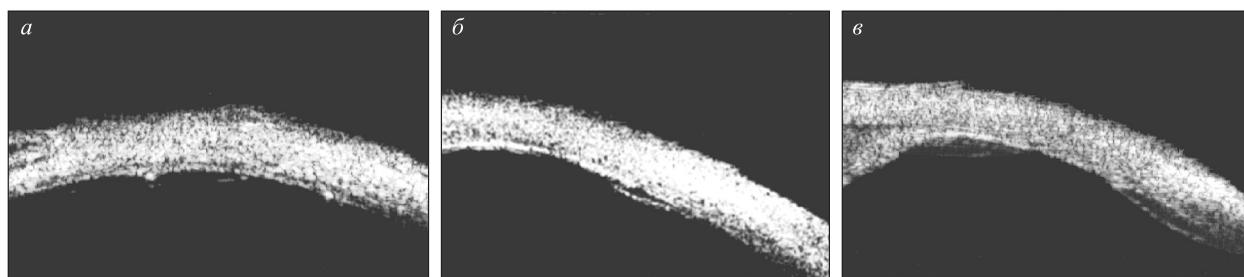


Рис. УБМ-изображение периферии сетчатки при миопии высокой степени: а – при I типе изменений (начальный ретиношизис), высота проминенции сетчатки 200 мкм, ширина 470 мкм); б – при II типе изменений (прогрессирующий ретиношизис), высота ретиношизиса 270 мкм; в – при III типе изменений (выраженный ретиношизис), высота ретиношизиса 500 мкм, протяженность 2 сегмента

высоты (табл. 1) и протяженности ретиношизиса (табл. 2) в послеоперационном периоде наблюдается тенденция к прогрессированию ретиношизиса. По результатам дисперсионного анализа отмечается статистически значимое увеличение высоты и протяженности ретиношизиса к 6 месяцу послеоперационного наблюдения ($p < 0,001$).

Методом УБМ также изучалось состояние прилежащего к периферии сетчатки стекловидного тела у пациентов с высокой миопией до и после проведения факэмульсификации катаракты. Акустические изменения прилежащего к периферии сетчатки стекловидного тела обнаружены в 39 % случаев (37 глаз). Изменения стекловидного тела определялись в виде локальных помутнений

различной формы, плавающих преретинально или фиксированных к оболочкам. В табл. 3 представлена динамика изменений прилежащего стекловидного тела в послеоперационном периоде. Нами отмечено достоверное увеличение числа глаз с локальными помутнениями стекловидного тела во внутреннем сегменте через 1 и 6 мес. наблюдения и в наружном сегменте – через 1 мес. Через 6 мес. изменения стекловидного тела в наружном сегменте также нарастали по сравнению с показателями до операции, однако различия были статистически недостоверны, что, возможно связано с небольшим количеством наблюдений в эти сроки и требует продолжения исследований.

Таблица 1

Динамика высоты ретиношизиса (мм) у пациентов с миопией высокой степени после факэмульсификации катаракты по данным УБМ

Сегмент	Сроки наблюдения			
	До операции	1–3 день	1 мес.	6 мес.
Верхневнутренний	0,27 ± 0,02	0,28 ± 0,02	0,31 ± 0,03	0,39 ± 0,04***
Нижневнутренний	0,25 ± 0,03	0,26 ± 0,03	0,31 ± 0,04	0,37 ± 0,05***
Верхненааружный	0,43 ± 0,05	0,46 ± 0,05	0,6 ± 0,08	0,71 ± 0,1***
Нижненааружный	0,42 ± 0,07	0,48 ± 0,09	0,76 ± 0,18	0,78 ± 0,27**

Примечание. Здесь и в табл. 2, 3 обозначены статистически значимые отличия от величин соответствующих показателей до операции: * – при $p < 0,05$, ** – при $p < 0,01$, *** – при $p < 0,001$.

Таблица 2

Динамика протяженности ретиношизиса (мм) у пациентов с миопией высокой степени после факэмульсификации катаракты по данным УБМ

Сегмент	Сроки наблюдения			
	До операции	1–3 день после операции	1 мес. после операции	6 мес. после операции
Верхневнутренний	4,06 ± 0,41	4,04 ± 0,42	5,15 ± 0,54	6,3 ± 0,9***
Нижневнутренний	4,13 ± 0,69	4,16 ± 0,69	4,45 ± 0,87	5,56 ± 1,57**
Верхненааружный	3,41 ± 0,42	3,56 ± 0,45	4,33 ± 0,59	5,94 ± 0,96***
Нижненааружный	2,85 ± 0,45	3,18 ± 0,51	4,6 ± 0,79	4,95 ± 1,14***

Таблица 3

Динамика изменений стекловидного тела после факоэмульсификации при миопии высокой степени по данным УБМ

Срок наблюдения	Помутнения стекловидного тела, внутренний сегмент			Помутнения стекловидного тела, наружный сегмент		
	N (общее)	N (доля)	%	N (общее)	N (доля)	%
До операции	93	19	20,43	93	18	19,35
1–3 день после операции	89	22	24,72	89	21	23,60
1 мес. после операции	57	22	37,93**	57	22	38,60*
6 мес. после операции	26	12	46,15**	26	7	26,92

ВЫВОДЫ

1. С помощью метода УБМ для оценки состояния периферических отделов сетчатки выявлено, что поражения периферии сетчатки и прилежащего стекловидного тела наблюдаются в 85 и 39 % случаев соответственно при помутнениях хрусталика и миопии высокой степени.

2. Акустические изменения периферии сетчатки и прилежащего стекловидного тела, выявляемые методом УБМ, носят прогрессирующий характер. Статистически значимые изменения отмечаются к 6 месяцу наблюдения.

3. Информация о состоянии периферии сетчатки и прилежащего стекловидного тела, полученная с помощью УБМ, расширяет возможности диагностики при миопии высокой степени и наличии помутнений хрусталика, помогая в определении тактики ведения пациента и проведении своевременной профилактики ретинальных осложнений.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аветисов Э.С. Близорукость. М., 2002. 288 с.
2. Аветисов С.Э., Амбарцумян А.Р. Ультразвуковая визуализация кист плоской части цилиарного тела // Вестн. офтальмологии. 2011. (1). 3–6.
3. Винник Н.А. Ультразвуковая биомикроскопия в диагностике патологии крайней периферии глазного дна: автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 2014.
4. Егорова Э.В., Узунян Д.Г., Винник Н.А. и др. Пред- и интраоперационная диагностика патологии периферии сетчатки у больных с макулярными разрывами // Офтальмохирургия. 2011. (4). 28–31.
5. Зуев В.К., Туманян Э.Р., Сороколетов Г.В. и др. Мягкая «реверсная-М» ИОЛ в хирургии катаракты при миопии высокой степени // Офтальмохирургия. 2012. (3). 26–30.

6. Матросова Ю.В. Предварительные результаты аккомодографии у пациентов с миопией на фоне очковой и ортокератологической коррекции // Вестн. Тамб. ун-та. Сер. Естеств. и техн. науки. 2015. (4). 781–783.

7. Матросова Ю.В. Сравнительная оценка эффективности различных методов лечения миопии // Вестн. Тамб. ун-та. Сер. Естеств. и техн. науки. 2015. (3). 642–644.

8. Мачехин В.А. Клинические особенности глаукомы при высокой близорукости // Вестн. ОГУ. 2015. (12). 133–138.

9. Михина И.В., Фабрикантов О.Л. Ультразвуковая биомикроскопия в оценке положения МИОЛ-Аккорд после факоэмульсификации осложненной катаракты на фоне псевдоэкзофолиативного синдрома // Вестн. Тамб. ун-та. Сер. Естеств. и техн. науки. 2013. (1). 262–264.

10. Османов Р.Э. Современные методы хирургического лечения регматогенной отслойки сетчатки // Вестн. Тамб. ун-та. Сер. Естеств. и техн. науки. 2015. (3). 658–661.

11. Синг А.Д. Ультразвуковая диагностика в офтальмологии. М., 2015. 280 с.

12. Тахчиди Х.П., Егорова Э.В., Узунян Д.Г. Ультразвуковая биомикроскопия в диагностике патологии переднего сегмента глаза. М., 2007. 128 с.

13. Шамишинова А.М. Наследственные и врожденные заболевания сетчатки и зрительного нерва. М., 2001. 528 с.

14. Щуко А.Г., Жукова С.И., Юрьева Т.Н. Ультразвуковая диагностика в офтальмологии. М., 2013. 128 с.

15. Gentile J., Berinstein D.M., Liebmann J. et al. Ultrasound biomicroscopy of the periphery retina // Ophthalmology. 1998. 105. (3). 478–484.

16. Liu W., Wu Q., Huang S. Ultrasound biomicroscopic features of anterior proliferative vitreoretinopathy // Retina. 1999. (3). 204–212.

17. Pavlin C.J., Foster F.S. Ultrasound biomicroscopy of the eye. N. Y., 1995. 214 p.

ULTRASOUND BIOMICROSCOPY OF THE RETINAL PERIPHERY IN CATARACT PATIENTS WITH HIGH MYOPIA

Oleg Lvovich FABRIKANTOV^{1,2}, Anastasiya Alexandrovna PILYAGINA¹

¹ *S.N. Fyodorov Eye Microsurgery Complex, Tambov branch
392000 Tambov, Rasskazovskoe hwy, 1*

² *Tambov State University n.a. G.R. Derzhavin, Medical Institute
392000 Tambov, Sovetskaya str., 93*

High myopia often leads to the development of chorioretinal dystrophies, which, in their turn, determine the high risk of retinal detachment. The opaque optical medium impede the visualization of the extreme fundus periphery when using the standard methods of examination. Ultrasound biomicroscopy (UBM) of retinal periphery is feasible at different degrees of lens opacity. Aim of the study – to investigate the status of the peripheral vitreoretinal interface and to assess the dynamics of its alteration by ultrasound biomicroscopy (UBM) in patients with high myopia before and after cataract phacoemulsification. **Material and methods.** 74 patients (96 eyes) with high myopia and cataract were examined. Age was 65.04 ± 1.16 years, spherical equivalent refraction – 13.63 ± 0.59 D, anterior posterior ocular axis length – 28.17 ± 0.23 mm. The examination of retinal periphery by means of ultrasound biomicroscopy was performed using the device UD-6000, Tomey (Japan) before cataract phacoemulsification, within the first days after surgery, in 1 month, in 6 month. **Results.** UBM allowed diagnosing the acoustic alterations in the retinal periphery in 85 % of cases (82 eyes) in high myopia and cataract. Normal acoustic clinical picture of the retinal periphery was revealed in 15 % of cases (14 eyes). The acoustic alterations of the vitreous body adjoining retinal periphery was detected in 39 % of cases (37 eyes). The alterations of the retinal periphery and adjoined vitreous body, detected by UBM are progressive. The statistically significant alterations were noted by the 6th month of follow-up. **Conclusion.** The information about the status of retinal periphery and adjoining vitreous body, obtained with UBM, enhances the diagnostic capabilities in high myopia and lens opacity, helps in determining the course of patient's management and preventing retinal complications in time.

Key words: cataract, high myopia, ultrasound biomicroscopy, retinoschisis, retinal periphery.

*Fabrikantov O.L. – doctor of medical sciences, director, head of the ophthalmology department,
e-mail: naukatmb@mail.ru*

Pilyagina A.A. – ophthalmologist, e-mail: naukatmb@mail.ru

ЭТИОЛОГИЯ, ПАТОГЕНЕЗ, КЛИНИКА, КЛАССИФИКАЦИЯ, ЛЕЧЕНИЕ КЕРАТОКОНУСА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Олег Львович ФАБРИКАНТОВ^{1,2}, Галина Евгеньевна МАНАЕНКОВА^{1,2}

¹ МНТК «Микрохирургия глаза» им. академика С.Н. Федорова Минздрава России, Тамбовский филиал
392000, г. Тамбов, Рассказовское шоссе, 1

² Тамбовский государственный университет имени Г.Р. Державина
392000, г. Тамбов, ул. Советская, 93

В статье освещены основные причины развития кератоконуса: наследственная, эндокринная, обменная, иммунологическая, аллергическая и некоторые другие, что подтверждает мультифакторную природу этого заболевания. В ранней диагностике кератоконуса помогают офтальмометрия, ультразвуковая кератопахиметрия, компьютерная видеокератопография, аберрометрия, конфокальная микроскопия, оптическая когерентная томография. Для лечения на ранних стадиях кератоконуса используются жесткие контактные линзы, кросслинкинг, имплантация интрастромальных роговичных сегментов или применяется комбинация этих методов лечения, на поздних стадиях выполняются различные виды кератопластик роговицы.

Ключевые слова: офтальмология, кератоконус, этиология, патогенез, классификация, ранняя диагностика, кросслинкинг, интрастромальные роговичные сегменты.

Кератоконус составляет основную группу кератоэктазий, при которых происходят невоспалительное прогрессирующее двустороннее дистрофическое истончение и протрузия (выпячивание) роговицы [7, 9, 16, 23, 26]. По данным ВОЗ, на долю болезней роговицы приходится до четверти от общего числа заболеваний глаз, при этом в структуре патологии роговицы кератоэктазии являются одной из причин слабости зрения и слепоты [15, 16]. К кератоэктазиям относят первичные идиопатические дистрофии – кератоконус, кератоглобус, пеллюцидную маргинальную (краевую) дегенерацию (кераторус) и маргинальную (краевую) дегенерацию Террына. С конца 90-х годов появилась новая группа эктазий роговицы – ятрогенная, как осложнение кераторефракционной хирургии. К вторичным кератоэктазиям относят врожденные заболевания, являющиеся последствием перенесенного внутриутробного кератита [9]. Кератоконус представляет собой прогрессирующее невоспалительное заболевание, в результате которого роговица принимает коническую форму. Характерными признаками болезни являются истончение стромы роговицы в центральных или парацентральных отделах, протрузия верхушки конуса и неправильный астигматизм [9, 15].

Распространенность кератоконуса. Идет уже четвертое столетие с момента описания конусообразной роговицы (1748 г.), однако до настоящего времени этиология кератоконуса остается неизвестной, а патогенез – малоизученным [2]. Распространенность этого заболевания составляет от 50 до 230 случаев на 100 тыс. населения в зависимости от качества диагностики конуса на доклинических стадиях [28]. По другим источникам, частота встречаемости кератоконуса среди населения варьирует от 1 : 250 до 1 : 500 тыс. человек, что зависит от различных факторов [7, 11, 15, 28, 33]. В штате Миннесота (США) частота кератоконуса составила 54,5 : 100 тыс. человек [26]. По данным Y.S. Rabinowitz [28], в среднем в США кератоконус возникает у 1 из 2 тыс. человек. Некоторые авторы обращают внимание на этнические особенности проблемы кератоконуса и отмечают увеличение заболеваемости в южных и высокогорных районах, что, возможно, связано с длительным изолированным проживанием этносов и высоким уровнем близкородственных связей [5, 7, 9, 15, 21, 25, 33]. По данным Е.Н. Севостьянова с соавт., в 1995 г. в Челябинской области кератоконус встречался с частотой 11 случаев на 100 тыс. населения [16]. Процесс манифестирует в пубертатном периоде,

Фабрикантов О.Л. – д.м.н., директор, зав. кафедрой офтальмологии, e-mail: naukatmb@mail.ru
Манаенкова Г.Е. – к.м.н., врач-офтальмолог 1-го офтальмологического отделения, доцент кафедры офтальмологии, e-mail: naukatmb@mail.ru

медленно прогрессирует до 3–4 декады жизни, затем, как правило, приостанавливается в своем развитии [5, 7, 9, 15]. Односторонний кератоконус развивается в 4,3–15 % случаев [1, 16], в течение следующих 16 лет приблизительно в 50 % случаях развивается на втором глазу [10, 11, 16]. Первая манифестация заболевания происходит в 21–37 лет [2, 5, 7, 11, 16]. С увеличением количества рефракционных вмешательств возросло количество пациентов с ятрогенными эктазиями, возникающими как осложнения лазерных рефракционных вмешательств [4–6, 10, 11, 18, 20, 22, 26, 29–32].

Этиология и патогенез кератоконуса. В последние десятилетия описаны основные теории развития кератоконуса (наследственная, механическая, эндокринная, обменная, иммунологическая, аллергическая, экологическая и др.), наличие которых свидетельствует о мультифакторной природе заболевания [2, 7, 9, 11, 24–26]. Исследователи отмечают увеличение заболеваемости на территориях с неблагоприятной экологической обстановкой, особенно с повышенным радиационным фоном. Это подтверждают исследования пациентов с кератоконусом на Урале; максимальная заболеваемость кератоконусом отмечается в зонах радионуклидного загрязнения [15, 16].

Выявленная при кератоконусе дисфункция желез внутренней секреции послужила доказательством в пользу эндокринной гипотезы происхождения заболевания. Описаны случаи сочетания кератоконуса с гипо- и гипертиреозами, патологией тимуса, нарушением функции гипофизарно-диэнцефальной системы и адипозо-генитальной недостаточностью. Начало заболевания у большинства пациентов наблюдается в пубертатный период, когда в организме происходит максимальная выработка гормонов желез внутренней секреции [7]. Установлено, что уровень тироксина в слезе в норме в 2 раза ниже, чем в сыворотке крови. Содержание гормона в сыворотке крови пациентов с кератоконусом может быть различным в зависимости от функции щитовидной железы, но в слезе оно в 2–50 раз больше, чем у здоровых людей. При сочетании сахарного диабета и кератоконуса отмечено более тяжелое течение последнего [24].

При кератоконусе имеет место срыв аутоагрессивности к антигенам роговицы, дефектность в состоянии Т-супрессорного иммунологического контроля, гиперглобулинемия, что свидетельствует о вовлечении в патогенез заболевания аутоиммунных механизмов. Заболевание сопровождается изменениями состояния иммунитета как местного, так и системного характера [7, 9, 24]. При исследовании биоптатов конъюнктивы

выявлены признаки иммунного воспаления: дисбаланс в популяциях лимфоцитов, увеличение уровня IgM, некоторых компонентов компонента и циркулирующих иммунных комплексов, а также снижение содержания IgA и общей активности компонента [2, 9, 24]. Системное изменение иммунитета характеризуется уменьшением относительного содержания Т-лимфоцитов, увеличением количества фагоцитирующих клеток, дисбалансом субпопуляций лимфоцитов [7, 24]. Установлена ассоциация кератоконуса с рядом аутоиммунных нарушений (ревматоидный артрит, язвенный колит, аутоиммунный хронический активный гепатит, синдром раздраженного кишечника, астма, артропатия, тиреоидит Хашимото, гиперчувствительность к аллергенам окружающей среды) [2, 7, 16, 22, 23, 28]. В 35–57 % случаев кератоконус может сочетаться с атопическими заболеваниями (экзема, сенная лихорадка, аллергический ринит, весенний катар, аллергический блефарит, витилиго) [2, 5, 7, 9–11, 13].

В литературе встречается описание механической теории развития кератоконуса. При этом провоцирующими моментами являются ношение контактных линз и трение глаз руками (пациенты с кератоконусом на 22 % чаще, чем люди без данного заболевания, имеют привычку тереть глаза [28]). Один из этих факторов или их совокупность приводят к хроническому повреждению эпителия роговицы. Несомненно, эта теория актуальна только для генетически предрасположенных лиц. В качестве предрасполагающих факторов кератоконуса, факторов механической травмы, рассматривают синдром «болтающего века», положение вниз головой во время сна, апноэ [24]. В развитии кератоконуса прослеживается определенная роль центральной нервной системы [16].

Наиболее признанной в современной офтальмологии является наследственно-метаболическая этиология кератоконуса. В ее пользу свидетельствует связь кератоконуса с такими наследственными заболеваниями, как амавроз Лебера, гемофилии, синдром «голубых склер» Крузона, болезнь Элерса – Данлоса, пролапс митрального клапана, синдром Коэна, пигментная дегенерация сетчатки, гранулярная дистрофия роговицы [2, 11, 15, 16, 26]. Большинство опубликованных работ указывают на аутосомно-доминантный тип наследования; также описаны аутосомно-рецессивный тип, редкие случаи сцепленного типа наследования [28, 34]. Неоспоримым доказательством наследственной теории развития заболевания служат семейные случаи кератоконуса, установлены особенности его течения у моно- и дизиготных близнецов [10, 16, 27]. Дизиготные близнецы имеют различные генотипы, поэтому

и тяжесть заболевания у них менее конкордантна, чем у монозиготных близнецов [34].

Кератоконус – наследственное заболевание, но его фенотипические проявления зависят от множества факторов окружающей среды, поэтому авторы отмечают неполную пенетрацию и вариабельность экспрессии генов [2, 3, 10]. Обнаружена повышенная экспрессия трансмембранной фосфотирозинфосфатазы (LAR) и фактора транскрипции Sp1, регулирующих дифференцировку клеток стромы роговой оболочки, что также подтверждает наличие определенных генетических основ для возникновения кератоконуса. При кератоконусе обнаружено увеличение экспрессии транскрипционного фактора KLF6, подавляющего активность ингибитора α 1-протеиназы, который обеспечивает целостность эпителия роговицы [7, 14, 25]. Продолжаются исследования генов, ответственных за развитие кератоконуса. Одним из них стал ген *COL4A1*, кодирующий коллаген IV типа. Большое разнообразие фенотипических признаков означает, что генетический анализ остается сложным процессом, и идентификация возможного гена должна продолжаться; по данным A. Bochert et al. [22], с кератоконусом связано 9 разных хромосом. Ген лизилоксидазы (*LOX*) играет роль в образовании поперечных сшивок коллагена, и его мутации могут играть определенную роль в развитии кератоконуса. Первый молекулярный дефект при кератоконусе установлен Y.S. Rabinowitz [28]; в 2004 г. локус ауто-сомно-доминантного наследования кератоконуса у человека картирован на хромосоме 3p14–q13. Установлено, что в генотипах финских семей с ауто-сомно-доминантным типом наследования кератоконуса локус заболевания картирован в пределах региона q22.3–q23.1 хромосомы 16q, у жителей Италии патологический ген локализован в хромосоме 3p14–q13, среди семей Эквадора – в хромосоме 13q32 [9, 11, 25]. Таким образом, кератоконус является генетически неоднородным заболеванием.

Роговица является основной преломляющей средой глаза, которая обладает высоким индексом рефракции. Для правильного преломления света роговой оболочкой важна ее биомеханическая стабильность, которая определяется состоянием волокон коллагена, межколлагеновых связей и их архитектоники. Каркас роговой оболочки формируют роговичные пластинки, натянутые от лимба до лимба и состоящие из дугообразных изогнутых волокон коллагена. В норме коллагеновые волокна располагаются в роговице строго упорядоченно, горизонтально и вертикально под углом 90–180° и параллельно друг другу и поверхности роговой оболочки. Для поверхностных слоев

стромы характерны более тонкие коллагеновые волокна и расположены они более хаотично; в глубоких слоях роговицы волокон толще и диаметр их больше. В центральных отделах коллагеновые волокна располагаются перпендикулярно, а к периферии угол пересечения становится более косым. Коллагеновые волокна связаны между собой в переднезаднем направлении с помощью матричных белков. Кроме того, коллаген IV типа участвует в образовании мостиков, соединяющих между собой коллагеновые фибриллы I типа.

В формировании поперечных мостиков участвуют и кератоциты, с помощью отростков взаимодействующие между собой и с коллагеновыми волокнами. При кератоконусе с точки зрения биомеханики прочность роговицы по сравнению с нормой снижается вдвое. Происходит нарушение структуры экстрацеллюлярного матрикса, ослабление связей между фибриллами и матриксом, смещение коллагеновых волокон. Коллагеновые волокна меняют свою ориентацию с перпендикулярного на косое, волокна могут ориентироваться тангенциально и циркулярно. В ходе дистрофических изменений в строме роговицы происходит апоптоз и некроз кератоцитов, дефект и истончение боуеновой мембраны в зоне наибольшей эктазии. Изменения претерпевают все слои роговицы. В зоне кератоконуса истончается передний эпителий, возникают вакуольная дистрофия и некробиоз отдельных клеток. Для боуеновой мембраны характерна неоднородность структуры и ее полное отсутствие в зоне наибольшей эктазии, что приводит к контакту эпителия и стромы роговой оболочки.

В патогенезе кератоконуса происходят характерные изменения структуры коллагена. В роговой оболочке присутствуют четыре типа коллагена: в строме располагаются коллаген I и III типа, в передней и задней пограничных мембранах – II типа, в базальной мембране переднего эпителия – IV типа. При кератоконусе снижается объемная доля всех четырех типов коллагена в 3,6–6,0 раза [23]. Гистологический анализ показал неравномерное расположение протеогликанов и гликопротеинов в строме роговой оболочки; увеличение межфибрилярных промежутков; доля гликозаминогликанов, регулирующих синтез коллагена, уменьшается в 2 раза, в то же время усиливается функция многих ферментов, участвующих в распаде коллагена: лизосомальных, протеолитических, а также фосфатазы, эстеразы, коллагеназы [15]. Повышение активности коллагеназы подтверждается увеличением в 2,5 раза в слезе пациентов с кератоконусом содержания С-телопептидов, являющихся продуктами распада коллагена; в роговице пациентов усилена

активность протеаз и снижена экспрессия ингибиторов протеаз [10, 11, 16].

Ряд ученых выявили, что при кератоконусе значительно снижена активность антиоксидантных ферментов, которая необходима для нейтрализации свободных радикалов, образующихся в результате обмена веществ в роговице. Установлено повышение активности катепсина В и G, желатиназы, дефект синтеза гликопротеинов, различные нарушения в регуляции синтеза протеогликанов. Исследования, проводимые в НИИ глазных болезней, были направлены на изучение механизмов возникновения развития кератоконуса и базировались на анализе состава микроэлементов и их миграции в роговице, а также факторов, влияющих на эти механизмы. Получены данные о влиянии кислотности слезы на миграцию меди в роговице. Медь накапливается в зоне возможного формирования кольца Флейшера, а ее дефицит в центральной зоне приводит к дезактивации медьзависимого фермента лизилоксидазы, формирующего поперечные шивки в коллагене, что приводит к развитию кератоконуса. На основании рентгенофлуоресцентной спектроскопии на базе сканирующего электронного микроскопа обнаружено, что в строме «здоровых» роговиц железо, медь и цинк присутствуют и в центре, и на периферии в незначительных концентрациях. При кератоконусе имеет место накопление этих элементов, а также накопление свинца и никеля в зоне формирования кольца Флейшера, и их отсутствие в центре роговицы. Концентрация железа в зоне потенциального формирования пигментного кольца превышает норму в 3,7, меди – в 20,6 и цинка – в 7,8 раза. Это приводит к формированию физико-химического барьера, препятствующего миграции ионов в биодоступной форме (что подтверждают «диаграммы Пурбе», отражающие поля устойчивости различных соединений элементов в растворах при изменении величины pH и окислительно-восстановительного потенциала) и к образованию водонерастворимых соединений. Также высказано предположение о формировании кольца Флейшера в основании эктазии при кератоконусе, что является следствием развития физико-химического барьера в тканях роговицы и приводит к алкализации среды и окислительному стрессу в тканях, а также способствует осаждению минеральных элементов в основании эктазии, что снижает синтез коллагена и влияет на нарушение организации основного вещества [2, 3].

С 1998 г. стали появляться исследования о возникновении кератоконусов после рефракционных операций. Частота возникновения ятрогенной кератоконусной эктазии колеблется от 0,04 до 0,6 % [7].

Индукцированный кератоконус является одним из наиболее тяжелых осложнений кераторефракционной хирургии (одно на 1000 операций), может развиваться через несколько недель или лет после проведенной операции [20]. Эксиммерная хирургия меняет биомеханические свойства роговицы, особенно при начальной недиагностированной форме кератоконуса, астигматизме высокой степени, миопии высокой степени, подвергающей абляции задние слои стромы роговицы. Чаще всего индуцированный кератоконус развивается после выполненного кератомилеза. Фоторефракционная хирургия (ФРК) в 4,1 % случаев осложняется кератоконусом [5, 17]. После ФРК образуется фиброцеллюлярная мембрана, прочность которой предотвращает выпячивание истонченной роговицы. Методика проведения ФРК не сопряжена с выкраиванием лоскута, поэтому она вполне может быть использована при коррекции миопии, в случаях, когда проведение метода LASIK увеличивает риск возникновения ятрогенной кератоконусной эктазии. Воздействие методики ФРК приходится на поверхностные слои роговицы, поэтому в меньшей степени способно оказывать влияние на риск формирования кератоконусной эктазии. В ряде работ описаны возможности применения ФРК при клинически тонких роговицах, т. е. при субклинической стадии кератоконуса [6, 17, 18]. Но при этом вопрос об эффективности и безопасности недостаточно изучен.

К развитию кератоконуса могут привести остаточная толщина ложа менее 250 мкм и абляция диаметром менее 5,5 мм, которые нарушают биомеханическую стабильность роговицы. Ятрогенная эктазия развивается у пациентов, которым проведена LASIK по поводу миопии выше –8,0 D. Механические напряжения в роговице являются следствием воздействия на нее внутриглазного давления; несоответствие прочности роговицы и уровня механического напряжения в ней приводит к развитию рефракционных нарушений при таких заболеваниях, как кератоконус, кератоглобус, периферическая дистрофия роговицы [4]. В современной офтальмологической практике используются много методов, которые напрямую воздействуют на биомеханические параметры роговицы (ФРК, LASIK, все виды кератотомий, включая фемтосекундные лазерные вмешательства) [4–6, 17, 18, 29–31]. Также хирургическая операция становится источником окислительного стресса в роговой оболочке, что приводит к неправильному функционированию клеток и ее истончению [24].

Клиническая картина кератоконуса. Как правило, начальный кератоконус очень плохо выявляют в наших лечебных учреждениях из-за не-

достаточной изученности начальных проявлений данного заболевания. Определение остроты зрения и биомикроскопия не дают возможности диагностировать кератоконус на начальных стадиях. Врач ставит диагноз кератоконуса только видя при биомикроскопии истончение роговицы и ее конусообразное выпячивание, когда заболевание уже перешло в развитую стадию, при которой часто единственным методом лечения является кератопластика [10]. Пациенту ошибочно ставят диагноз близорукости или астигматизма и начинают подбирать бесконечное количество очков и контактных линз. Ранним симптомом кератоконуса являются прогрессирующее снижение остроты зрения, двоение, и вследствие этого – головные боли [7]. По мере прогрессирования заболевания возникает классический симптом – монокулярная полиопия, многоконтурность изображений и букв. В поздних стадиях развивается светобоязнь, зуд, сухость. Все эти жалобы обусловлены деформацией роговицы и возникновением неправильного астигматизма.

Другими клиническими проявлениями, помогающими подтвердить наличие кератоконуса, являются истончение стромы роговицы, отложение оксида железа (гемосидерина) в базальном слое эпителия (кольцо Флейшера) и разрывы в боуеновой мембране. Все они могут быть выявлены при осмотре со щелевой лампой. Кольцо Флейшера лучше просматривается в синем фильтре и может появиться на различных стадиях заболевания [7]. В развитых и далеко зашедших стадиях кератоконуса можно видеть полосы Фогта, тонкие вертикальные линии на поверхности роговицы, исчезающие при легком нажатии на глаз. Симптом Мансона (V-образная выемка) создается роговицей на поверхности нижнего века, когда пациент смотрит вниз. К моменту проявления этого симптома кератоконус находится в далеко зашедшей стадии. В ряде случаев, в результате развившихся изменений роговицы, при исследовании в проходящем свете, происходит изменение рефлекса с глазного дна – он становится размытым и негомогенным в пределах определенной зоны (предполагаемой вершины кератоконуса). Поздние стадии процесса также характеризует симптом эктазии (растяжение) роговицы; из-за неправильного преломления искривленной роговицы изменяется и внешний вид радужки.

Из инструментальных методов исследования в диагностике кератоконуса помогают офтальмометрия, ультразвуковая кератопахиметрия, компьютерная видеокератотопография, aberрометрия, конфокальная микроскопия, оптическая когерентная томография. Ряд исследований по-

зволяет доказать высокую информативность и выделить среди других методов диагностики кератоконуса топографическую кератометрию и пахиметрию, так как другие методы исследования не диагностируют начальные проявления, а отслеживают динамику патологических процессов, которые не являются патогномоничными признаками [2]. Принцип работы топографической кератометрии – это проецирование на роговицу колец Плачида. Топограф фиксирует отражение колец, измеряет их ширину и расстояние между ними: чем круче кривизна роговицы, тем ближе располагаются кольца друг к другу. Ранним признаком кератоконуса является парацентральное увеличение кривизны роговицы в нижневисочном квадрате. По мере прогрессирования кривизна распространяется в назальные отделы, охватывает нижненазальный квадрат, затем радиус кривизны включает центр роговицы и верхневисочный квадрат, самым последним обычно поражается верхненазальный квадрат. Для облегчения раннего выявления кератоконуса используют статистические индексы, характеризующие количественно роговицу конкретного пациента, и сравнивают со среднестатистическими значениями [10]. Несмотря на явные преимущества использования данного метода, существует и ряд недостатков: зона покрытия составляет 60 %, что не позволяет исследовать периферию роговицы, и невозможно получить данные о задней поверхности роговицы [10, 16].

Еще большие возможности диагностики демонстрирует прибор «Pentacam», который использует принцип фотографической регистрации оптического среза преломляющих сред глаза, основанный на принципе Шеймпфлюга. Этот метод позволяет обеспечить очень большую глубину резкости изображения по сравнению с обычной фотощелевой лампой, что дает возможность хорошей визуализации всего переднего отдела глаза от вершины роговицы до заднего полюса хрусталика [10, 25]. Снимки делаются под разными углами от 0 до 180° по отношению к роговице и охватывают весь ее диаметр (от лимба до лимба), что обеспечивает возможность реконструкции трехмерного изображения оптической системы глаз, результат которой отображается на экране компьютера [7]. Для диагностики раннего кератоконуса разработано программное обеспечение Белин/Амброзио для Pentacam, позволяющее анализировать кривизну передней и задней поверхности роговицы, ее толщину. В современной литературе все большее значение уделяется задней поверхности роговицы как более чувствительной при начальном кератоконусе. У 88 % пациентов с установленным диагнозом кератоконуса на глазу

элевазия задней поверхности роговицы выявляется раньше, чем передней [7, 12].

Оптическая когерентная томография, обладающая высокой разрешающей способностью и позволяющая визуализировать передний отрезок с точностью до 5 мкм, дает возможность исследовать глубину передней камеры, определить степень эктазии роговицы, оценить пахиметрические данные и, соответственно, выбрать методику лечения кератоконуса [12]. Конфокальная микроскопия роговицы является неинвазивным прижизненным методом исследования роговой оболочки, позволяющим изучить состояние всех ее слоев на микроструктурном уровне. Наибольшие изменения при конфокальной микроскопии выявляются в зоне эктазии. Типичными изменениями являются эпителиопатия с увеличением десквамации клеток поверхностного эпителия, их деформацией, нарушением адгезии с подлежащими слоями. Выявляются дефекты поверхностного и базального слоя эпителия.

Классификация кератоконуса. Первое деление кератоконуса на стадии было предложено специалистами по подбору контактных линз, оно основывалось на данных офтальмометрии в центре роговицы. Предлагаемые границы выбирались субъективно и, следовательно, не совпадали у разных авторов. Наиболее признанная и распространенная классификация кератоконуса была предложена М. Amsler в 1961 г. [19]. На I стадии наблюдается «разряжение» стромы, просматриваются нервы роговой оболочки, изменяются эндотелиальные клетки и офтальмометрические показатели, в основном идет «укручение» радиуса кривизны роговицы. Острота зрения находится в диапазоне 0,1–0,5 и поддается коррекции цилиндрическими стеклами. На II стадии отмечается появление линии кератоконуса, искажение офтальмометрических данных, возможно появление легкой эктазии и истончения роговой оболочки. Для III стадии характерно значительное выпячивание роговой оболочки, а также ее истончение. Острота зрения (0,02–0,12) поддается коррекции только жесткими газопроницаемыми линзами, причем часто отмечают их переносимость пациентами, помутнения боуеновой мембраны. IV стадия является терминальной. Возникают стромальные помутнения, изменения десцеметовой оболочки. Проведение офтальмометрии зачастую невозможно.

Наибольшее практическое значение для врачей получила классификация Т.Д. Абуговой [1]. Новая классификация сохранила деление на стадии по данным биомикроскопии роговицы и была дополнена 6 типами кератоконуса на основе компьютерного анализа кератотопографии

роговицы: островершинный, туповершинный, пикообразный, пикообразный атипичный, низковершинный и низковершинный атипичный. В зависимости от этапа развития болезни, на котором процесс остановился, было выделено еще три клинические формы кератоконуса: несостоявшийся кератоконус, abortивная форма и классический кератоконус. В зависимости от характера течения кератоконуса определены три формы заболевания: непрогрессирующая, медленно прогрессирующая и быстро прогрессирующая.

Лечение кератоконуса. Потенциальная направленность методов коррекции и лечения кератоконуса сводятся к воздействию на три основные мишени: коррекция рефракционных нарушений, стабилизация процесса и устранение структурных нарушений. Оптимальным методом рефракционных нарушений на сегодняшний день остаются жесткие газопроницаемые линзы, с помощью которых можно корригировать сферический компонент и восстановить регулярность передней поверхности роговицы [1, 35, 36]. Потенциальная возможность применения для коррекции первичных аметропий кераторефракционных хирургических вмешательств ограничена, с одной стороны, выраженностью миопического компонента и иррегулярностью роговицы, а с другой – ее истончением. Имплантация интрастромальных сегментов обеспечивает стабильное уменьшение сферического и астигматического компонентов. При прогрессировании кератоконуса возможно сочетание описанных методов коррекции рефракционных нарушений с процедурой формирования перекрестных швов коллагена или кросслинкинга. После проведения кросслинкинга по данным конфокальной микроскопии *in vitro* уменьшается количество кератоцитов и возникает отек стромы, даже спустя годы после процедуры не происходит восстановления популяции кератоцитов, поэтому совершенствуется методика проведения кросслинкинга, связанная с попытками исключения дезэпитализации, локальным кросслинкингом, в том числе с применением фемтосекундного лазера [2, 7, 10, 11].

Сквозную кератопластику следует рассматривать как радикальный метод хирургического лечения кератоконуса. Существуют две проблемы лечения кератоконуса: нет четких критериев перехода от контактной коррекции к сквозной кератопластике и внедрение селективного принципа кератопластики, т. е. избирательное замещение пораженных слоев роговицы. Селективный принцип кератопластики при кератоконусе технически осуществляется за счет удаления дистрофически измененной стромы роговицы и сохранения десцеметовой мембраны и заднего

эпителия. Основным достоинством операции является то, что интерфейс в зоне трансплантации образует интактные поверхности десцеметовой мембраны и стромы трансплантата, недостатком – отсутствие визуального контроля за отслоением десцеметовой мембраны. Комбинация фоторефракционной и фототерапевтической кератоэктомии помогает корректировать рефракционные нарушения и стабилизировать процесс за счет феномена формирования в результате фотоабляции поверхностных субэпителиальных помутнений роговицы. Но эта методика, несмотря на свое теоретическое обоснование, не нашла клинического распространения, так как уменьшается толщина уже пораженной роговицы.

Из вышеизложенного можно сделать вывод, что кератоконус не является изолированным заболеванием, а может быть частью патологии глаза, которая в свою очередь представляет собой проявление системного заболевания, имеющего генетическую основу. Для выявления начальных проявлений кератоконуса необходимо наличие современного оборудования, и прежде всего компьютерного кератотопографа, являющегося «золотым стандартом» в ранней диагностике кератоконуса. Эволюция современных топографических систем (одним из новейших приборов для исследования переднего отдела глазного яблока является сканирующий проекционный кератотопограф Pentacam) привела к возможности скрининга кератоконуса на ранних и субклинических стадиях и позволила с достаточно высокой точностью диагностировать начальные изменения, в том числе и задней поверхности роговой оболочки. При лечении данного процесса на ранних стадиях необходимо применение газопроницаемых жестких линз; для стабилизации процесса широко используется и кросслинкинг, и имплантация стромальных колец. Наиболее перспективным направлением в хирургии кератоконуса является внедрение послойной глубокой кератопластики, имеющей ряд преимуществ по отношению к глубокой кератопластике.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абугова Т.Д. Клиническая классификация первичного кератоконуса // Современная оптометрия. 2010. (5). 17–20.
2. Аветисов С.Э. Кератоконус: современные подходы к изучению патогенеза, диагностике, коррекции и лечению // Вестн. офтальмологии. 2014. (6). 37–43.
3. Аветисов С.Э., Новиков И.А., Патеев Л.С. Кератоконус: этиологические факторы и сопутствующие проявления // Вестн. офтальмологии. 2014. (4). 110–116.

4. Анисимов С.И., Анисимова С.Ю., Золотаревский К.А. Динамика изменений зрительных функций и топографических параметров роговицы у больных кератоконусом и вторичными кератэктазиями после локального кроссликинга // «Восток–запад»: тез. докл. Уфа, 2013. 64–65.

5. Анисимов С.И., Анисимова С.Ю., Смотрич Е.А., Завгородняя Т.С. Кератотензотопография – новые диагностические возможности изучения биомеханических свойств роговицы // Офтальмология. 2011. 8. (4). 13–17.

6. Балашевич Л.И., Качанов А.Б. Кератэктазии после проведения эксимерлазерных рефракционных операций // Сиб. науч. мед. журн. 2009. (4). 65–70.

7. Бикбов М.М., Бикбова Г.М. Эктазии роговицы. М., 2011. 164 с.

8. Бикбов М.М., Бикбова Г.М., Хабибуллин А.Ф. Кросслинкинг роговичного коллагена в лечении кератоконуса // Вестн. офтальмологии. 2011. (5). 21–25.

9. Григорян А.В., Торопыгин С.Г., Чащина Е.С. Этиология и патогенез различных форм эктазий роговицы // Катаракт. и рефракц. хирургия. 2012. 12. (4). 11–15.

10. Егорова Г.Б. Кератоконус. Методы диагностики и мониторинга // Вестн. офтальмологии. 2013. (1). 61–66.

11. Комаровских Е.Н., Подтынных Е.В. Кератоконус: некоторые вопросы этиопатогенеза // Medicus. 2016. (2). 71–73.

12. Маслова Н.А., Паиштаев Н.П., Бородина М.В. Опыт применения сканирующего проекционного топографа «Pentacam» в диагностике раннего кератоконуса // Современные технологии катарактальной и рефракционной хирургии: сб. науч. статей. М., 2009. 320–324.

13. Мороз З.И., Измайлова С.Б., Легких С.Л., Мерзлов Д.Е. Кросслинкинг как метод лечения прогрессирующего кератоконуса // Практ. медицина. 2012. (4). 104–106.

14. Подтынных Е.В., Басинская Л.А., Комаровских Е.Н. Современные представления о этиопатогенезе и методах диагностики кератоконуса // Вестн. ОГУ. 2015. (12). 188–196.

15. Севостьянов Е.Н., Горскова Е.Н. Кератоконус плюс. Челябинск: ПИРС, 2006. 148 с.

16. Севостьянов Е.Н., Горскова Е.Н., Эггардт В.Ф. Кератоконус. Челябинск, 2005. 18 с.

17. Сорокин Е.Л., Дутчин И.В., Шишкин С.А. Анализ безопасности и клинической эффективности методики ФРК при коррекции миопии у пациентов с субклиническим кератоконусом // Соврем. технол. в офтальмологии. 2015. (2). 10–15.

18. Щуко А.Г., Гребенюк Т.Н., Юрьева Т.Н. и др. Факторы риска и методы прогнозирования индуцированных кератэктазий // Катаракт. и рефракц. хирургия. 2013. 13. (4). 53–56.

19. *Amsler M.* Keratoconus // Bull. De Sos. Beige d'ophthalm. 1961. 129. 331–336.
20. *Binder P.S., Lindstrom R.L., Stulting R.D. et al.* Keratoconus and corneal ectasia after LASIK // J. Cataract Refract. Surg. 2005. 31. (11). 2035–2038.
21. *Bisceglia L., De Bonis P., Pizzicoli C. et al.* Linkage analysis in keratoconus: replication of locus 5q21.2 and identification of other suggestive loci // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2009. 50. (3). 1081–1086.
22. *Bochert A., Berlau J., Koczan D. et al.* Gene expression in keratoconus. Initial results using DNA microarrays // Ophthalmologie. 2003. 100. (7). 545–549. [In German].
23. *Daxer A., Fratzl P.* Collagen fibril orientation in the human corneal stroma and its implication in keratoconus // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1997. 38. (1). 121–129.
24. *Hashemi H., Khabazkhoob M., Fotouhi A.* Topographic keratoconus is not rare in an Iranian population: the Tehran eye study // Ophthalmic. Epidemiol. 2013. 20. (6). 385–391.
25. *Hughes A.E., Dash D.P., Jackson A.J. et al.* Familial keratoconus with cataract: linkage to the long arm of chromosome 15 and exclusion of candidate genes // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2003. 44. (12). 5063–5066.
26. *Kennedy R.H., Bourne W.M., Dyer J.A.* A 48-year clinical and epidemiologic study of keratoconus // Am. J. Ophthalmol. 1986. 101. (3). 267–73.
27. *Kymionis G.D., Portaliou D.M., Diakonis V.F. et al.* Management of post laser in situ keratomileusis ectasia with simultaneous topography guided photo-refractive keratectomy and collagen crosslinking // Open. Ophthalmol. J. 2011. (5). 11–13.
28. *Rabinowitz Y.S.* Keratoconus // Surv. Ophthalmol. 1998. 42. (4). 297–319.
29. *Randleman J.B., Woodward M., Lynn M.J., Stulting R.D.* Risk assessment for ectasia after corneal refractive surgery // Ophthalmology. 2008. 115. 37–50.
30. *Roberts C.* Biomechanics of the cornea and wavefront-guided laser refractive surgery // J. Refract. Surg. 2002. 18. S589–S592.
31. *Romero-Jimenez M., Santodomingo-Rubido J., Wolffsohn J.S.* Keratoconus: a review // Cont. Lens. Anterior Eye. 2010. 33. (4). 157–166.
32. *Tabbara K.F., Kotb A.A.* Risk factors for corneal ectasia after LASIK // Ophthalmology. 2006. 113. 1618–1622.
33. *Wang Y., Rabinowitz Y.S., Rotter J.I., Yang H.* Genetic epidemiological study of keratoconus: evidence for major gene determination // Am. J. Med. Genet. 2000. 93. (5). 403–409.
34. *Weed K.H., MacEwen C.J., McGhee C.N.* The variable expression of keratoconus within monozygotic twins: Dundee University Scottish Keratoconus Study (DUSKS) // Cont. Lens Anterior Eye. 2006. 29. (3). 123–126.
35. *Wilson M.S., Millis E.A.* Contact lenses in ophthalmology. Butterworths and Co. Ltd., 1989.
36. *Wollensak G., Spoerl E., Reber F., Seiler T.* Keratocyte cytotoxicity of riboflavin/UVA-treatment *in vivo* // Eye (Lond.). 2004. 18. 718–721.

ETIOLOGY, PATHOGENESIS, CLINICAL PICTURE, CLASSIFICATION, TREATMENT OF KERATOCONUS (REVIEW)

Oleg Lvovich FABRIKANTOV^{1,2}, Galina Yevgenievna MANAENKOVA^{1,2}

¹*The S.N. Fyodorov Eye Microsurgery Complex, Tambov branch
392000 Tambov, Rasskazovskoe hwy., 1*

²*Tambov State University named after G.R. Derzhavin
392000, Tambov, Sovetskaya str., 93*

The article provides information on the main causes of keratoconus: genetic, endocrine, exchange, immunologic, allergic and some others, that confirm the multifactor origin of this disease. Ophthalmometry, ultrasound keratopachymetry, computed videokeratopography, aberrometry, confocal microscopy, optical coherence tomography are helpful in the early diagnosis of keratoconus. The hard contact lenses, crosslinking, intrastromal corneal segment implantation or combination of these methods have been used for keratoconus treating at the early stage, different kinds of corneal keratoplasties have been carried out in the late stages.

Key words: ophthalmology, keratoconus, etiology, pathogenesis, classification, early diagnosis, crosslinking, intrastromal corneal segments.

Fabrikantov O.L. – doctor of medical sciences, director, head of the ophthalmology department,
e-mail: naukatmb@mail.ru

Manaenkova G.E. – candidate of medical sciences, ophthalmologist, associate professor,
e-mail: naukatmb@mail.ru

ЛЕЧЕНИЕ ОТЕКА КОСТНОГО МОЗГА ГОЛОВКИ БЕДРЕННОЙ КОСТИ ВНУТРИСУСТАВНЫМИ ИНЪЕКЦИЯМИ ПЕРФТОРАНА С ДИМЕКСИДОМ (КЛИНИЧЕСКИЕ СЛУЧАИ)

Алексей Геннадьевич ШУШАРИН¹, Валерий Михайлович ПРОХОРЕНКО²,
Марина Павловна ПОЛОВИНКА³

¹ Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН
630090, Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 8

² Новосибирский НИИ травматологии и ортопедии Минздрава России
630091, Новосибирск, ул. Фрунзе, 17

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

Цель работы – оценить влияние внутрисуставного введения перфторана с димексидом на отек костного мозга тазобедренного сустава, диагностированного по магнитно-резонансной томографии (МРТ), как стадии, предшествующей развитию некротических изменений в его головке. **Материал и методы.** В работе представлены результаты консервативного лечения девяти пациентов с отеком костного мозга головки бедренной кости (0–I стадия асептического некроза, МРТ), которым проводились курсы внутрисуставных инъекций смеси перфторан – димексид под контролем УЗИ. Оценка клинико-функционального состояния суставов проводилась по шкале Харриса. **Результаты и их обсуждение.** У всех девяти пациентов, включенных в исследование, в течение года наблюдалась только положительная динамика при лечении отека костного мозга внутрисуставными инъекциями смеси перфторан – димексид, которая отражалась на МРТ в уменьшении зоны костного отека. У семи из девяти пациентов (77,8 %) полное снятие отека было достигнуто после двух курсов инъекций перфторана с димексидом; у двух пациентов (22,2 %) – после трех курсов. **Заключение.** На дорентгенологической стадии асептического некроза головки бедренной кости, стадии отека костного мозга, проведение курсов внутрисуставных инъекций смеси перфторан – димексид предотвращает развитие структурных некротических изменений в тазобедренном суставе, позволяет сохранить целостность сустава и значительно отсрочить оперативное вмешательство.

Ключевые слова: отек костного мозга, тазобедренный сустав, магнитно-резонансная томография, консервативное лечение, внутрисуставные инъекции, перфторан, димексид.

Отек костного мозга – болезненное состояние костно-мышечной системы, обусловленное увеличением интерстициальной жидкости в костной ткани, которое часто диагностируется с запозданием из-за неспецифических симптомов и определяется по характерным признакам только на магнитно-резонансных (МР) томограммах [19]. Причины, вызывающие отек костного мозга, разнообразны (дефицит витамина D, остеоартроз, ревматоидный артрит, переломы и опухоли), кроме того, выделяют первичный, или идиопатический отек [16]. Этиология и патогенез

отека костного мозга мало изучены, предполагают различные механизмы его развития, включая микрососудистую травму, венозную обструкцию, вторичную локализованную гиперемию, аномальные механические нагрузки на сустав, метаболические причины, нейрогенный шок (сжатие периферических нервных окончаний) и т. д. [21].

По данным литературы, отек костного мозга чаще всего случается у пациентов среднего возраста и поражает крупные суставы [15]; наиболее часто его развитие наблюдают на МР-томограммах тазобедренных суставов (ТБС), при-

Шушарин А.Г. – к.м.н., зав. лабораторией восстановительной медицины Центра новых медицинских технологий, доцент по специальности, e-mail: shurin54@yandex.ru

Прохоренко В.М. – д.м.н., зам. директора по научно-лечебной работе, научный руководитель клиники эндопротезирования и эндоскопической хирургии суставов, проф., e-mail: vprohorenko@niito.ru

Половинка М.П. – к.х.н., доцент кафедры органической химии, e-mail: marinapolovinka@yandex.ru

чем чаще в левом, чем в правом. Одновременное двустороннее развитие отека происходит только в 25–30 % случаев. У 40 % пациентов отмечается отек костного мозга и в других суставах верхних и нижних конечностей, у таких больных, кроме миграции отека в другие суставы, в 25–50 % случаев отмечался также рецидив патологии после проведенного лечения [21]. При этом все большее количество специалистов сходятся во мнении, что в случаях отека костного мозга скорость локальной костной резорбции повышается [16], что приводит к асептическому некрозу головки бедренной кости (АНГБК) в случаях поражения ТБС. Таким образом, отек костного мозга ТБС обсуждается как ранняя обратимая стадия аваскулярного некроза головки бедренной кости [3, 4, 16]. На ранних стадиях АНГБК пациентам обычно проводится симптоматическое консервативное лечение: разгрузка сустава, прием нестероидных противовоспалительных препаратов, бисфосфонатов и простациклина, курсы гипербарической кислородной терапии и экстракорпоральной ударно-волновой терапии, которая может улучшить местные гемодинамические характеристики [6]. Эти же методы лечения используются при лечении пациентов, у которых по данным магнитно-резонансной томографии (МРТ) был диагностирован отек костного мозга [8, 12, 15, 17, 20].

Новый подход к лечению отека костного мозга суставов – использование генно-инженерных биологических препаратов нового поколения, в частности деносумаба [9, 18]. Количество таких исследований незначительно, как и количество включенных в исследования пациентов. Однако ретроспективный анализ результатов лечения в работе [18] показал, что деносумаб эффективен при лечении отека костного мозга различных суставов и, следовательно, представляет собой альтернативный вариант консервативного лечения АНГБК.

С 2009 по 2014 г. нами были разработаны методики консервативного лечения больных с АНГБК, включающие на ключевой стадии внутрисуставное введение перфторана [1, 5] или лекарственной смеси перфторана и димексида [2] в полость ТБС прямой навигацией под контролем УЗИ. Ретроспективный анализ полученных результатов показал, что патогенетически обоснованное лечение пациентов с ранними стадиями АНГБК, направленное на устранение ишемии в ТБС, с использованием внутрисуставных инъекций, особенно смеси перфторана и димексида, значительно улучшает функциональный статус больных, позволяет отсрочить проведение весьма травматичной операции эндопротезирования [7].

Цель настоящего исследования – оценить влияние внутрисуставного введения перфторана с димексидом на отек костного мозга тазобедренного сустава, диагностированного по МРТ, как стадии, предшествующей развитию некротических изменений в его головке.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Ретроспективное исследование включало девять симптоматических пациентов, четырех мужчин и пять женщин в возрасте от 28 до 70 лет, с нетравматическим отеком костного мозга головки бедренной кости. Объективизация морфологических изменений в ТБС до лечения, в процессе терапии и после лечения проводилась по данным МРТ пораженного сустава, так как стадия отека костного мозга – дорентгенологическая. МРТ-сканирование выполнялось по меньшей мере дважды: первый раз для диагностики отека костного мозга и второй раз через 4–6 недель от начала курса внутрисуставных инфекций.

Лечение проводили курсами внутрисуставных инъекций перфторана в смеси с димексидом в соотношении (мас. %): димексид – 14–18, перфторан – остальное [2, 7]. Большая часть пациентов получали по два курса внутрисуставных инъекций в год. Инъекции в ТБС осуществляли под контролем УЗИ (EUB-8500, «Hitachi», Япония). Препараты вводили в полость ТБС по 4–5 мл 3–5 раз в неделю в течение 1–2 мес. Доступ для внутрисуставного введения определяли индивидуально, с учетом данных МРТ пациента. Исследование одобрено Локальным этическим комитетом Института химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН (протокол № 16 от 14.04.2009). Все лица подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Диагноз «отек костного мозга» и «АНГБК» устанавливали в соответствии с критериями ARCO (Association Research Circulation Osseous) [10, 14]. Классификация ARCO – наиболее поздняя и фактически включает в себя все ранее разработанные классификации, оценку патологических изменений в ТБС при АНГБК с помощью методов современной лучевой диагностики: рентгенографии ТБС, компьютерной томографии, сцинтиграфии, МРТ. Согласно классификации ARCO, выделяют 5 стадий АНГБК. На 0 стадии данные всех лучевых диагностических методов в норме, морфологические изменения могут быть выявлены только при гистологическом исследовании. На I стадии по МРТ наблюдается отек костного мозга и начальные некротические изменения, соответствующие АНГБК, количественную оценку очагов поражения проводят также по МРТ.

II стадия АНГБК определяется по рентгенографии, сцинтиграфии, МРТ и компьютерной томографии; выявляют неровные края головки бедренной кости, остеосклероз, кистозные изменения или остеопению, но без проявлений коллапса кости. На III стадии по рентгенографии, сцинтиграфии, МРТ и компьютерной томографии отмечается наличие полулуний, субхондральная пластинка отграничена от некротических пораженной губчатой кости. IV стадия диагностируется по рентгенографии и характеризуется разрушением сустава и коксартрозом. 0, I, II стадии АНГБК считаются обратимыми при ранней диагностике и правильной стратегии лечения. У большинства пациентов, включенных в данное исследование, наблюдались отек костного мозга или отек и незначительные очаги субхондральной деструкции, что отвечает 0–I А–С стадии АНГБК по данной классификации.

Клинико-функциональное состояние ТБС оценивалось по шкале Харриса (Harris Hip Score) [13] до лечения, через 6 и 12 мес. после лечения. Оценка функций сустава по данной системе производится на основе четырех категорий, основные из которых – боль и функциональные возможности. Каждая категория оценивается в баллах. Максимальный балл для категории «Боль» – 44, для категорий «Функция», «Амплитуда движений» и «Деформация» – соответственно 47, 5 и 4 балла.

Расчет проводится автоматически при заполнении анкеты пациентом вместе с врачом. Все 44 балла в категории «боль» присваиваются при полном отсутствии боли, в то время как выраженная боль в покое означает 0 баллов. Оценка функции ТБС производится на основе 4 позиций: оценивается ежедневная активность (14 баллов), хромота (11), вспомогательные средства при ходьбе (11), максимальная длительность ходьбы (11). При оценке амплитуды движений в ТБС в разных плоскостях и разных диапазонах учитываются в градусах углы: сгибание-разгибание, внутренняя ротация – наружная ротация, отведение-приведение. Максимальное число баллов, которое можно получить, оценивая состояние пациента по системе Харриса, равно 100. Сумма баллов от 100 до 90 оценивается как отличная функция сустава, от 89 до 80 – как хорошая, от 79 до 70 – как удовлетворительная и менее 70 – как неудовлетворительная.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У всех девяти пациентов, включенных в исследование, в течение года наблюдалась только положительная динамика в лечении отека кост-

ного мозга внутрисуставными инъекциями смеси перфторана и димексидом, которая отражалась на МР-томограммах в уменьшении зоны трабекулярного отека. У семи из девяти пациентов (77,8 %) полное снятие отека было достигнуто после двух курсов инъекций перфторана с димексидом; у двух пациентов (22,2 %) – после трех курсов. У четырех молодых пациентов в возрасте до 40 лет (44,4 %) очаг трабекулярного отека по МРТ практически не определялся уже после первого курса перфторана с димексидом через полгода от начала лечения. Одна пациентка 54 лет обратилась в клинику повторно, через год после проведенного лечения с возобновившимися болями в правом ТБС; по данным МР-томограмм было обнаружено повторное развитие отека костного мозга. Пациентке было проведено дополнительно два курса внутрисуставных инъекций смеси перфторана с димексидом. На контрольной МР-томограмме через 6 мес. после проведенного дополнительного лечения нет данных о наличии отека костного мозга и АНГБК.

Согласно литературным данным [11], 0 и I стадии развития асептического (аваскулярного) некроза головки бедренной кости протекают у пациентов бессимптомно или с проявлением неспецифических болевых симптомов. У всех девяти пациентов в данном исследовании I стадия асептического некроза с характерным отеком костного мозга (МРТ) сочеталась с остеоартрозом ТБС I или II стадии, и клинико-функциональное состояние ТБС по шкале Харриса до лечения оценивалось в среднем на 56,3 балла. У пациентов периодически проявлялись боли при длительных нагрузках и ходьбе на дальние расстояния, иногда хромота. После проведенных курсов лечения внутрисуставными инъекциями перфторана с димексидом у всех пациентов был снят трабекулярный отек, а в некоторых случаях снижена стадия остеоартроза ТБС; клинико-функциональное состояние ТБС – хорошее или отличное (в среднем 91,8 балла по шкале Харриса).

На основании вышесказанного, с учетом уже известных свойств лекарственной смеси перфторана с димексидом, нами был сделан вывод о том, что при отеке костного мозга ТБС проведение курсов внутрисуставных инъекций этой смеси по ранее опубликованной методике [2, 7] может решить следующие проблемы:

1) улучшить насыщение кислородом тканей в области отека и некротических изменений, что предотвратит дальнейшую потерю костных клеток, обусловленную ишемией;

2) усилить регенеративный процесс путем направленной оксигенации, подавляющей остеокластическую резорбцию и способствующей

неоваскуляризации и остеосинтезу за счет улучшения микроциркуляции;

- 3) способствовать стимуляции ангиогенеза;
- 4) уменьшить отек костной ткани;
- 5) уменьшить внутрикостное давление в головке бедренной кости и, как следствие, способствовать снижению болевого синдрома.

Широкое использование МРТ в диагностике суставных патологий позволило расширить наши представления о механизме развития такой тяжелой суставной патологии, как АНГБК. Так, эпифизарный отек кости, характеризующийся гипоинтенсивным сигналом на T1-взвешенных изображениях и гиперинтенсивным сигналом на STIR-изображениях (МРТ), по сути определяет отек костного мозга, развитие которого ускоряет последующие деструктивные изменения в ТБС, приводит в ряде случаев к быстрому повышению стадийности АНГБК и к тяжелой операции тотального эндопротезирования как к единственному способу кардинального решения проблемы. Проблема разработки новых методов консервативного лечения на ранних стадиях АНГБК по-прежнему остается актуальной. Как показывают полученные результаты, чем раньше зафиксированы какие-либо морфологические изменения в костной ткани ТБС, тем эффективнее будет проводимое консервативное лечение.

КЛИНИЧЕСКИЕ СЛУЧАИ

Пациентка Г., 32 года, АНГБК слева. В анамнезе системная красная волчанка; жалобы на боли в левом ТБС в течение двух последних лет. Принимала анальгетики и периодически получала инъекции дексаметазона с незначительным непродолжительным обезболивающим эффектом. Изменения на рентгенограммах отсутствовали. При обращении в клинику Новосибирского НИИ травматологии и ортопедии (ННИИТО) пациентка была направлена на МРТ-исследование. По МРТ определялся обширный отек костного мозга в левом ТБС при сохранении формы головки (рис. 1, а), что соответствует I стадии АНГБК. Оценка клинико-функционального состояния по шкале Харриса до лечения соответствовала 50,1 балла. Получала курсы перфторана с димексидом дважды в течение 12 мес. В результате удалось полностью снять болевой синдром, отек костного мозга, остановить прогрессирование деструктивных процессов (рис. 1, б). Отрицательной динамики по основному заболеванию (системная красная волчанка) не было. По окончании лечения оценка по шкале Харриса составила 92,5 балла.

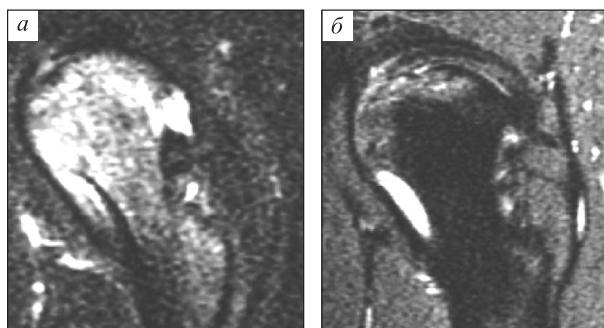


Рис. 1. МР-томограммы STIR пациентки Г. 32 лет с АНГБК I стадии на фоне системной красной волчанки; а – до лечения, б – через 12 мес после начала лечения

Пациентка К., 59 лет. Болеет несколько лет. До обращения в клинику ННИИТО неоднократно была на приеме у травматолога-ортопеда с жалобами на боли в области ТБС, усиливающимися при ходьбе. На основании рентгенографического обследования выставлен диагноз «двухсторонний коксартроз 2-й степени», назначена соответствующая терапия – нестероидные противовоспалительные препараты, физиолечение. Обратилась в клинику в ноябре 2015 г. На МР-томограммах от 05.12.2015 (до лечения, рис. 2, а) отмечается следующее. ТБС симметричны. Взаимоотношения суставных поверхностей костей, формирующих суставы, не нарушены. Ширина суставной щели справа 2 мм, слева – 2,5 мм. В головке правой бедренной кости имеется зона отека и субхондральные мелкие кисты. Ацетабулярные впадины имеют краевые костные разрастания и мелкие кисты. Повышенное скопление жидкости в полости правого ТБС. В заключении: двухсторонний коксартроз 2-й степени. Отек головки правой бедренной кости. Морфологическая картина соответствует асептическому некрозу 1-й стадии. Синовит правого ТБС.

Инъекции перфторана с димексидом проводились с латерального доступа в оба ТБС. После двух курсов инъекций перфторана с димексидом пациенткой отмечено значительное снижение болевого синдрома. На МР-томограмме правого ТБС от 15.07.2016. определяется уменьшение зоны трабекулярного отека: по сравнению с данными от 05.12.2015. отмечена зона трабекулярного отека с относительно четкими контурами, меньших размеров (около 20×30 мм). Признаки остеоартрозных диффузных дегенеративных изменений тканей правого ТБС соответствуют 2-й степени коксартроза, левого ТБС – 1-й степени. Признаки синовита правого ТБС.

После третьего курса внутрисуставных инъекций перфторана с димексидом на МР-то-

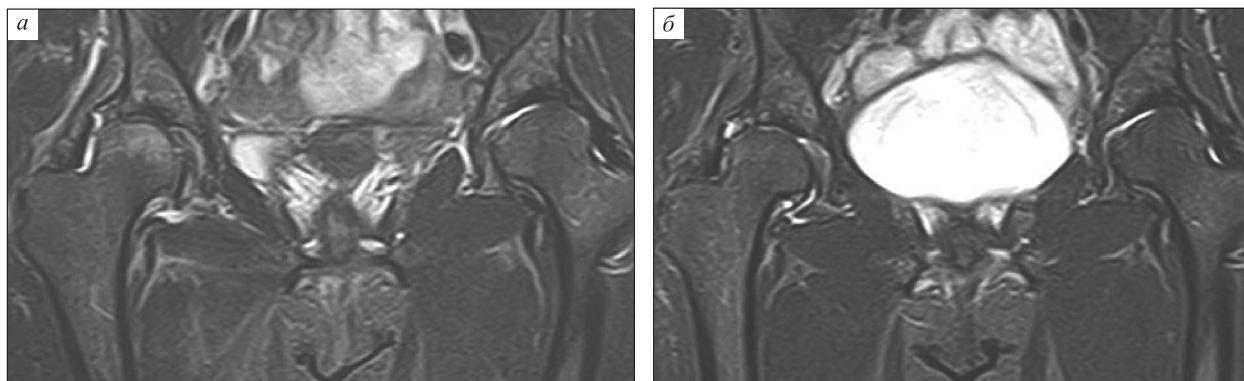


Рис. 2. МР-томограммы STIR пациентки К. 59 лет с АНГБК I стадии; а – до лечения, б – через 12 мес после начала лечения

мограмме через 12 мес. от начала лечения определяется двухсторонний коксартроз 1-й степени слева, 2-й степени справа. Синовит правого ТБС. По сравнению с МР-томограммой от 05.12.2015 и 15.07.2016 участков отека костной ткани в структуре головки правой головки бедренной кости не определяется (рис. 2, б). В динамике наблюдения показатель по шкале Харриса за 12 мес. вырос с 40,3 до 86,5 баллов.

Таким образом, в результате годового лечения (3 курса внутрисуставных инъекций перфторана с димексидом по два месяца) удалось полностью снять отек костного мозга, предотвратить развитие деструктивных процессов в костной ткани (аваскулярного некроза), снизить степень коксартроза в левом ТБС.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование еще раз подтвердило высокую эффективность и безопасность внутрисуставных инъекций лекарственной смеси перфторана и димексида под контролем УЗИ. На дорентгенологической стадии асептического некроза головки бедренной кости, стадии отека костного мозга проведение курсов таких инъекций предотвращает развитие структурных некротических изменений в суставе, а при соответствующем контроле с использованием МРТ позволяет сохранить целостность сустава и значительно отсрочить оперативное вмешательство.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Пат. 2426564 РФ. Способ лечения асептического некроза головки бедренной кости / А.Г. Шушарин, В.Г. Куликов, Г.И. Лифшиц и др. Оpubл. 20.08.2011.
2. Пат. 2487736 РФ. Способ лечения асептического некроза головки бедренной кости / А.Г. Шу-

шарин, М.П. Половинка, В.В. Морозов. Оpubл. 20.07.2013.

3. Саутина О.П., Хазов П.Д. МРТ-диагностика ранних стадий асептического некроза головок бедренных костей // Рос. мед.-биол. вестн. 2008. (1). 50–56.

4. Хазов П.Д., Казакова С.С. Магнитно-резонансная томография в диагностике асептического некроза головок бедренных костей // Радиол. – практ. 2011. (4). 106–107.

5. Шушарин А.Г., Куликов В.Г., Махотин А.А. и др. Опыт лечения асептического некроза головки бедренной кости перфтораном // Вестн. НГУ. Сер. Биол., клин. медицина. 2010. 8. (2). 127–129.

6. Шушарин А.Г., Половинка М.П., Прохоренко В.М. Асептический некроз головки бедренной кости: варианты консервативного лечения и результаты // Фундамент. исслед. 2014. 10. (2). 428–435.

7. Шушарин А.Г., Половинка М.П., Прохоренко В.М. Оценка эффективности лечения асептического некроза головки бедренной кости // Сиб. науч. мед. журн. 2015. 35. (3). 53–58.

8. d'Agostino C., Romeo P., Lavanga V. et al. Effectiveness of extracorporeal shock wave therapy in bone marrow edema syndrome of the hip // Rheumatol. Int. 2014. 34. (11). 1513–1518.

9. Amling M., Barvencik F. Denosumab in bone marrow oedema syndrome // Injury. 2017. 48. (6). 1275–1276.

10. ARCO (Association Research Circulation Osseous): Committee on Terminology and Classification // ARCO News. 1992. (4). 41–46.

11. Babis G.C., Sakellariou V., Parvizi J. et al. Osteonecrosis of the Femoral Head // Orthopedics. 2011. 34. (1). 39–47.

12. Baier C., Schaumburger J., Gotz J. et al. Bisphosphonates or prostacyclin in the treatment of bone-marrow oedema syndrome of the knee and foot // Rheumatol. Int. 2013. 33. (6). 1397–1402.

13. Harris W.H. Traumatic arthritis of the hip after dislocation and acetabular fractures: treatment by mold

- arthroplasty. An end-result study using a new method of result evaluation // *J. Bone Joint. Surg. Am.* 1969. 51. (4). 737–755.
14. Martínez-Ferrer M.A., Peris P., Guañabens N. Osteonecrosis. What is new? // *Reumatol. Clin.* 2007. 3. (2). 78–84.
15. Meizer R., Radda C., Stolz G. et al. MRI-controlled analysis of 104 patients with painful bone marrow edema in different joint localizations treated with the prostacyclin analogue iloprost // *Wien. Klin. Wochenschr.* 2005. 117. (7-8). 278–286.
16. Patel S. Primary bone marrow oedema syndromes // *Rheumatology (Oxford)*. 2014. 53. (5). 785–792.
17. Ringe J.D., Dorst A., Faber H. Effective and rapid treatment of painful localized transient osteoporosis (bone marrow edema) with intravenous ibandronate // *Osteoporos. Int.* 2005. 16. (12). 2063–2068.
18. Rolvien T., Schmidt T., Sebastian Butscheidt S. et al. Denosumab is effective in the treatment of bone marrow oedema syndrome // *Injury*. 2017. 48. (4). 874–879.
19. Sahni T., Gupta S. Case report: Treatment of bone marrow edema of femoral head with hyperbaric oxygen therapy // *Apollo Med.* 2016. 13. (1). 59–62.
20. Simon M.J., Barvencik F., Luttko M. Intravenous bisphosphonates and vitamin D in the treatment of bone marrow oedema in professional athletes // *Injury*. 2014. 45. (6). 981–987.
21. Watson R.M., Roach N.A., Dalinka M.K. Avascular necrosis and bone marrow edema syndrome // *Radiol. Clin. North Am.* 2004. 42. (1). 207–219.

TREATMENT OF BONE MARROW EDEMA FEMORAL HEAD BY INTRA-ARTICULAR INJECTIONS PERFTORAN WITH DIMEXIDUM. CLINICAL CASES

Alexey Gennadievich SHUSHARIN¹, Valeriy Mikhaylovich PROKHORENKO², Marina Pavlovna POLOVINKA³

¹ *Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine of the SB RAS*
630090, Novosibirsk, Academician Lavrentiev str., 8

² *Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopedics*
630091, Novosibirsk, Frunze str., 17

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

Aim of the study – to assess the effect of intra-articular introduction of perftorane with dimexide on the hip bone marrow edema diagnosed by MRI as a stage preceding the development of necrotic changes in the head of the hip joint. **Material and methods.** The paper presents the results of conservative treatment of 9 patients with bone marrow edema of the femoral head (0–I stage of aseptic necrosis, MRI), which underwent the courses of intra-articular injections of perfluorane-dimexide mixture under ultrasound guidance. Assessment of the clinical and functional state of the joints was carried out according to the Harris scale. **Results and discussion.** The only positive dynamics was observed throughout the year in all nine patients included in the study as the result of the treatment of bone marrow edema by intraarticular injections of perftorane-dimexide mixture, which was reflected in MR-tomograms by reducing the zone of bone edema. The complete removal of edema (77.8 %) was achieved in 7 out of 9 patients after two courses of injections of perftorane with dimexide; in two patients (22.2 %) – after three courses. **Conclusion.** The course of intraarticular injections of the mixture of perfluorane-dimexide prevents the development of structural necrotic changes in the hip joint, allows preserving the integrity of the joint and significantly postponing surgical intervention on the pre-roentgenologic stage of aseptic necrosis of the femoral head, the stage of the bone marrow edema.

Key words: bone marrow edema, hip joint, MRI, conservative treatment, intraarticular injections, perftorane, dimexide.

Shusharin A.G. – candidate of medical sciences, head of the laboratory of regenerative medicine, assistant professor, e-mail: shurin54@yandex.ru

Prokhorenko V.M. – doctor of medical sciences, deputy director for research and clinical work, scientific director of the clinic of arthroplasty and endoscopic, professor, e-mail: vprohorenko@niito.ru

Polovinka M.P. – candidate of chemical sciences, associate professor of the department of organic chemistry, e-mail: marinapolovinka@yandex.ru

ЭНЕРГОЭФФЕКТИВНОСТЬ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННОГО ПИТАНИЯ СПМ-17

**Валентина Владимировна ГУЛЬТЯЕВА, Маргарита Ивановна ЗИНЧЕНКО,
Дмитрий Юрьевич УРЮМЦЕВ**

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

Во избежание энергодефицита в экстремальных условиях физических нагрузок при походных ограничениях переносимого груза следует учитывать энергоэффективность используемых продуктов питания. Цель исследования – оценить энергоэффективность специализированного питания СПМ-17, предназначенного для экстремальных условий, и ее зависимость от пола. **Материал и методы.** 18 практически здоровых добровольцев от 20 до 59 лет (7 мужчин, 11 женщин) обследованы в течение 4 часов после приема СПМ-17 методом непрямой калориметрии. **Результаты.** Энергоэффективность СПМ-17 составила в среднем 95,6 %, не различаясь у мужчин и женщин.

Ключевые слова: пищевой термогенез, непрямая калориметрия, специализированное питание, СПМ-17, энергоэффективность пищевого продукта.

Пищевой термогенез, или специфическое динамическое действие пищи (ПТ), определяется как увеличение интенсивности энергообмена после приема пищи. Оно обусловлено повышением энерготрат, необходимых для переваривания, всасывания и резервирования в организме питательных веществ [6]. Уровень ПТ учитывается при расчете суточных энергозатрат и физиологической потребности в энергии. Известно, что в среднем ПТ составляет около 10 % общих, или суточных, энергозатрат (total energy expenditure) [12, 24]. Коэффициент ПТ (КПТ) пищевого продукта, или индивидуального рациона питания, определяется как уровень ПТ, отнесенный к потребленной пищевой энергии, выраженный в процентах [16]. КПТ жиров и углеводов составляет около 4 %, что почти в 10 раз меньше, чем КПТ белков. Для различных пищевых продуктов КПТ может варьировать от 4 до 32 %, что зависит прежде всего от содержания белка. Определенное значение имеют количество съеденной пищи, конституциональный тип, возраст, инсулинорезистентность, наличие лишнего веса и ряд других факторов, влияние которых на процесс ПТ часто изучается в рамках проблемы метаболического синдрома и ожирения [8, 11, 12, 23].

Энергетический баланс, как «равновесное соотношение между поступающей с пищей энерги-

ей и ее затратами» [4], нетрудно поддерживать в повседневной жизни, сохраняя сбалансированное питание в известной рекомендуемой пропорции белков, жиров и углеводов 1:1:4. Однако при длительных (более 4 ч) интенсивных физических нагрузках, особенно в экстремальных условиях высокогорной гипоксии, у человека практически всегда развивается энергетический дефицит [25], что ассоциировано со снижением аппетита [3, 27], нарушением процессов пищеварения [10] и адаптивным гипометаболизмом [1]. Речь идет о нагрузках, соответствующих горному марафону с элементами ориентирования продолжительностью от 1 до 5 дней, предполагающему самообеспечение провизией и необходимой для ночевки экипировкой. Энергозатраты на физическую нагрузку на таких маршрутах составляют от 3000 до 10000 [27], а по некоторым наблюдениям до 18000 ккал [20]. Подобные нагрузки на уровне «ультравыносливости» всегда сопровождаются энергодефицитом, поэтому в рационе питания на первый план выступает энергетическая ценность в сочетании с высокой усваиваемостью.

Большинство исследователей сходятся во мнении, что основным источником питания в таких условиях должны быть углеводы (60–70 %), жиры (20–25 %), белки (5–10 %) с минимальным содержанием клетчатки (0–2 %) и энергетической

Гультяева В.В. – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории функциональных резервов организма, e-mail: gultyayevavv@physiol.ru

Зинченко М.И. – к.м.н., научный сотрудник лаборатории функциональных резервов организма, e-mail: miz@physiol.ru

Урюмцев Д.Ю. – к.м.н., научный сотрудник лаборатории функциональных резервов организма, e-mail: piud@physiol.ru

плотностью не менее 500 ккал на 100 г продукта [3, 27]. Основные рекомендации, как правило, ограничиваются углеводами, поступление которых должно быть в пределах 5–7 г/кг массы тела в день [17]. Считается, что запасы эндогенного жира, в отличие от ограниченных запасов глюкозы и гликогена, «практически неисчерпаемы», поэтому строгих рекомендаций по липидам не предусмотрено [3]. Увеличение содержания протеинов или аминокислот при таких нагрузках не имеет принципиального значения, так как не влияет на восстановление гликогена в мышцах [14]. Белковый компонент становится обязательным начиная с 5 суток с рекомендованным поступлением в пределах 1,4–1,7 г/кг массы тела в день [20]. Очевидно, к этому времени у атлетов наряду с энергетическим дисбалансом возникает опасность «структурного истощения».

За рубежом в качестве специализированного питания предлагаются углеводные гели, напитки и «спортивные батончики» [3]. Отечественная продукция представлена так называемыми «аварийными», «экстренными» рационами, или «рационами выживания». Это брикетированные, не требующие варки продукты, весом до 500 г с длительным сроком хранения (Приказ Министерства обороны № 888 от 21.06.2011). Хотя в этих рационах большое содержание углеводов и, в некоторых случаях, жиров, они «стремятся» сохранить белковое содержание несмотря на большой КПП. При этом невысокие вкусовые свойства не способствуют аппетиту, а повышенное содержание клетчатки снижает скорость всасывания пищевого содержимого [15]. При длительных интенсивных физических нагрузках подобные свойства являются дополнительными факторами развития энергетического дефицита.

В рамках оценки энергетической эффективности специализированных видов питания, предназначенных для быстрого восполнения калорий с минимальными затратами на процесс пищеварения, можно использовать противоположную КПП величину – энергоэффективность пищевого продукта. Это условно «полезная», или «доступная», часть пищевых калорий за вычетом КПП, выраженная в процентах: 100 % – КПП %.

К особым типам рационов относится специализированное питание СПМ-17, предназначенное для использования при физических нагрузках в экстремальных условиях с высокой вероятностью развития энергетического дефицита. Кроме легко усваиваемых ингредиентов, в состав СПМ-17 входят адаптогены (олигонуклеотиды, экстракт левзеи, экстракт ганглиев кальмаров), а также витаминный комплекс брусники и клюквы. Продукт используется с 2009 г. при высокогорных

восхождениях, в том числе на Эверест [5]. По литературным данным, близкие по составу продукты имеют относительно высокую энергоэффективность, вызывая увеличение ПТ в среднем не более чем на 6–7 % [19, 21]. Вместе с этим содержание в СПМ-17 адаптогенов не позволяет исключить повышение термогенеза, снижающего энергоэффективность продукта. Другим важным фактором может оказаться пол и состав тела, которые также влияют на уровень ПТ [11, 22]. В связи с этим целью настоящей работы было исследовать энергоэффективность специализированного питания СПМ-17 в зависимости от пола.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследовании приняли участие 18 условно здоровых добровольцев в возрасте от 20 до 59 лет (7 мужчин, 11 женщин), у которых при скрининговом обследовании офисные показатели артериального давления (АД) находились в пределах до 139/89 мм рт. ст. Критериями исключения служили сахарный диабет, аллергия на компоненты СПМ-17, клинические и/или физические признаки любого острого инфекционного заболевания, любая форма гепатита, СПИД, беременность, прием медикаментозных препаратов. Испытуемые не должны были употреблять алкоголь в течение суток до момента исследования, принимать тонизирующие препараты в день исследования (элеутерококк, лимонник, родиола розовая, кофе, чай и т. д.) и курить в день исследования. Исследование проведено без риска для здоровья обследуемых, в соответствии с Хельсинкской декларацией. Все обследованные подписывали письменное информированное согласие на участие в исследовании.

Добровольцы приходили на исследование к 9 ч утра. После подписания информированного согласия измеряли антропометрические показатели (рост, вес, состав тела), АД, частоту сердечных сокращений (ЧСС), насыщение гемоглобина крови кислородом (SpO_2). Затем проводили опрос, связанный с критериями исключения. Между 9:30 и 10 ч измеряли исходный уровень энерготрат. После этого испытуемые в течение 10–20 мин потребляли питание СПМ-17 в количестве от 6 до 11 брикетов по 20 г, что соответствовало 600–1100 «пищевых» ккал. Через 30 мин после потребления первого брикета СПМ-17 и затем каждые 30 мин в течение 4 ч повторно измеряли энерготраты методом непрямой калориметрии. В перерыве между измерениями испытуемые отдыхали сидя.

Брикеты СПМ-17 представляют собой герметично упакованные батончики массой 20 г и

энергетической ценностью 100 ккал каждый. Специализированное питание разработано и производится ЗАО «Сибирский центр фармакологии и биотехнологии» (г. Новосибирск) для обеспечения пищевой энергией при интенсивных физических нагрузках в сочетании с экстремальными условиями (гипоксия, пониженные или повышенные температуры воздуха) с целью предупреждения или уменьшения энергетического дисбаланса. Содержание белков, жиров и углеводов составляет 4, 27 и 57 % соответственно, при этом 2 % веса приходится на клетчатку и 10 % – на воду. СПМ-17 содержит также экстракт левзеи – 0,01 %, ДНК лососевых рыб – 0,1 %, экстракт ганглиев кальмаров – 0,1 %. Учитывая зависимость исходного уровня энергообмена и ПТ от тощей массы тела (ТМТ), объем потребляемого питания рассчитывали индивидуально, из расчета 15 ккал/кг ТМТ.

Антропометрию, включая измерение состава тела методом биоэлектрического импеданса, проводили с помощью системы InBody 370 (Южная Корея). Индекс массы тела рассчитывали как отношение масса тела/рост² (кг/м²). Измерение систолического и диастолического АД (САД и ДАД) проводили ртутным сфигмоманометром Bmed (Италия), SpO₂ и ЧСС – с использованием пульсоксиметра N-200 (Nellcor, США).

Интенсивность энергетического обмена определяли методом непрямой калориметрии с учетом дыхательного коэффициента. Исследование базового уровня энергообмена проводили натощак, после 15-минутного отдыха, в положении полулежа в комфортном кресле с откинутой спинкой. Основными регистрируемыми переменными в исследовании были потребление кислорода и выделение углекислого газа, оцениваемые за каждый дыхательный цикл при дыхании через маску на спирометаболическом комплексе Ultima PFX (Medical Graphics Corporation, США). Первые 5–10 мин дыхания после надевания маски до наступления устойчивого состояния отводили на адаптацию и не записывали, затем регистрацию легочного газообмена продолжали в течение 5 мин.

ПТ рассчитывали как разность между постпрандиальным обменом и обменом покоя натощак за 4 часа. Поскольку у 10 испытуемых из 18 исходное значение превышало одну из двух последних точек измерения, расчет ПТ проводили путем вычитания из постпрандиальных значений минимального значения энергообмена. Последнее выбиралось из исходного значения или последних двух измерений энергообмена. Феномен завышенного первого измерения, вероятно, обусловлен индивидуальной реакцией, которая

характерна для первого визита в лабораторию, несмотря на соблюдение известного регламента измерений энерготрат [13]. К моменту начала «отдыха» перед измерением базового уровня энерготрат натощак испытуемые не менее 30 минут находились в лаборатории в положении сидя. Коэффициент ПТ рассчитывали как отношение ПТ (ккал) к потребленному СПМ-17 (ккал), умноженное на 100 %.

В качестве статистического метода обработки результатов использовали дисперсионный анализ повторных наблюдений (rANOVA) с последующим LSD-post-hoc тестом для уточнения разности между повторными измерениями и U-тест Манна–Уитни для сравнения данных в экспериментальных подгруппах. В связи с пилотным характером исследования уровень значимости был принят равным 0,10 ($p < 0,10$). Результаты в таблицах представлены в виде медианы (Me) и нижних и верхних квартилей (Q₁; Q₃).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Абсолютные величины показателей легочного газообмена, энерготрат и минутного объема дыхания у мужчин были выше, чем у женщин (табл. 1). При этом дыхательный коэффициент и удельные значения показателей газообмена (в расчете на килограмм ТМТ) у мужчин и женщин не различались. Это согласуется с ранее полученными данными [12, 22], показывающими, что базовый уровень энерготрат в покое прямо пропорционален ТМТ. ПТ в ответ на СПМ-17 в среднем по всей группе достиг максимума через 60 мин после приема первого брикета (рисунок). Уже через 30 мин повышение энерготрат было достоверным ($p = 0,000$), через 3 ч – различия с исходным уровнем еще статистически значимы ($p = 0,002$), через 3,5 часа достоверных различий с исходным значением скорости энергообмена уже не было. Динамика ПТ у мужчин и женщин не различалась ($F(8,128) = 1,34$, $p = 0,23$). В ответ на потребление СПМ-17 ПТ был достоверно выше у мужчин (табл. 2). Однако КПТ (ПТ, выраженный в процентах от количества калорий потребленной пищи) у мужчин и женщин не различался, несмотря на то, что мужчины принимали большее количество брикетов. В среднем по всей группе обследованных КПТ составил 4,4 %. Это меньше, чем для других продуктов питания с изученным КПТ, близких по соотношению жиров и углеводов, но с несколько большим количеством белка [19, 21]. Таким образом, энергоэффективность СПМ-17 составляет 95,6 % (100 – 4,4).

Полученные результаты согласуются с опубликованными исследованиями по ПТ. Известно,

Таблица 1

Характеристика обследованных

Показатель	Женщины (n = 11)	Мужчины (n = 7)	p
Антропометрия:			
возраст, лет	43 (22; 46)	31 (23; 48)	> 0,05
рост, см	166,5 (162; 171)	180 (176,5; 187,0)	0,001
масса тела, кг	64,8 (60,5; 82,7)	82,5 (70,3; 92,7)	> 0,05
ТМТ, кг	45,3 (42,4; 52,3)	62,9 (58,4; 69,9)	0,001
индекс массы тела, кг/м ²	23,9 (22,9; 28,3)	25,0 (22,2; 26,9)	> 0,05
масса мышц, кг	24,6 (22,9; 29,0)	35,9 (33,1; 40,1)	0,001
масса жира, кг	21,0 (18,0; 29,5)	16,6 (11,9; 22,8)	> 0,05
содержание жира, %	31,4 (28,6; 36,8)	21,4 (15,0; 24,5)	0,008
САД, мм рт. ст.	115 (108; 121)	120 (118; 129)	> 0,05
ДАД, мм рт. ст.	71 (66; 73)	75 (69; 79)	> 0,05
ЧСС, уд/мин	71 (64; 79)	67 (64; 70)	> 0,05
Исходный энергообмен:			
выделение CO ₂ , мл/мин	167 (146; 169)	186 (179; 234)	0,001
потребление кислорода, мл/мин	189 (166; 194)	233 (207; 238)	0,002
энерготраты, ккал/ч	55,9 (49,0; 57,2)	68,6 (60,8; 71,3)	0,001
МОД, л/мин	6 (5,4; 6,3)	7 (6,3; 8,8)	0,021
выделение CO ₂ , мл/(мин × кг ТМТ)	3,36 (3,03; 3,68)	3,16 (2,79; 3,41)	> 0,05
потребление кислорода, мл/(мин × кг ТМТ)	3,83 (3,51; 4,39)	3,62 (3,54; 3,7)	> 0,05
энерготраты, ккал/(ч × кг ТМТ)	1,13 (0,02; 1,30)	1,08 (1,04; 1,09)	> 0,05
дыхательный коэффициент	0,88 (0,86; 0,88)	0,87 (0,78; 0,94)	> 0,05

что постпрандиальный обмен может увеличиваться на 20–40 % при белковой пищевой нагрузке, на 5–18 % – при углеводной и на 0–12 % – при жировой [2, 6, 7]. Очевидно, что термический эффект смешанной пищи отличается от постпрандиального эффекта раздельного тестового питания и зависит от процентного содержания его компонентов: чем больше протеинов, тем сильнее термогенное действие. Увеличение содержания жира, наоборот, снижает термоген-

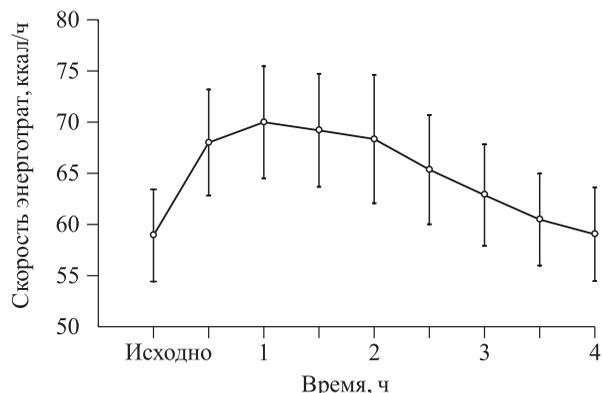


Рис. Скорость энерготрат натоцак (исходно) и в течение 4 ч после потребления СПМ-17 (среднее арифметическое ± 95%-й доверительный интервал)

ный эффект [24]. Однако необходимо отметить, что результаты исследований противоречивы. Например, в работе K.R. Westerterp et al. в исследованиях со смешанной пищей, в которой соотношение углеводов, жиров и белков было 6:3:1, КПТ составил 14,6 % [26]. В исследовании L. Prat-Larquemin et al. [18] при том же соотношении 6:3:1 КПТ был 8,3 %. Наиболее вероятная причина столь значительных расхождений заключается в различии пищевых ингредиентов. Кроме того, ряд исследований показал, что при длительных интенсивных нагрузках попытка увеличения содержания жиров за счет уменьшения содержания углеводов для предупреждения или снижения энергодефицита не эффективна [17].

В нашей стране подбор состава специализированных продуктов ориентирован по большей части на количество пищевых калорий (энергетический компонент) и протеинов (структурный компонент) для обеспечения «полноценным и сбалансированным» питанием. Вместе с этим в экстремальных условиях интенсивных физических нагрузок, как показали многочисленные исследования, на первый план должен выступать энергетический компонент в ущерб структурному [9, 14, 27]. Для уменьшения степени выраженности энергетического дисбаланса (точнее,

Таблица 2

Пищевой термогенез и коэффициент ПТ специализированного питания СПМ-17

Показатель	Женщины (n = 11)	Мужчины (n = 7)	p
Масса потребленного продукта, г	140 (120; 160)	200 (180; 200)	0,001
Количество «пищевых» ккал	700 (600; 800)	1000 (900; 1000)	0,001
ПТ, ккал	28,48 (20,1; 37,54)	40,9 (37,19; 50,44)	0,070
КПТ, %	4,02 (3,12; 6,16)	4,91 (3,38; 5,26)	> 0,05

энергодифицита) могут оказаться полезными продукты с высоким содержанием углеводов и жиров с низким КПТ и максимальной энергетической эффективностью.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По составу пищевой продукт СПМ-17 соответствует требованиям, предъявляемым к энергонасыщенным специализированным продуктам питания, предназначенным для использования при длительных интенсивных нагрузках многодневного горного марафона. Полученные результаты позволяют заключить, что СПМ-17, в состав которого входит набор адаптогенов, тем не менее имеет низкий коэффициент пищевого термогенеза и, соответственно, высокую энергоэффективность, превышающую 95 % от пищевых калорий.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Гришин О.В. Адаптивный гипометаболизм у человека // Вестн. РАМН. 2011. (8). 33–41.
2. Егоренкова Н.П. Влияние химического состава готовых блюд на пищевой термогенез // Мед. акад. журн. 2016. (16). 210–211.
3. Колеман Э. Питание для выносливости. Мурманск: Тулома, 2005. 192 с.
4. Нормы физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения Российской Федерации. Методические рекомендации. М., 2009. 39 с.
5. Соколов Г.А. Новый вариант восхождения на Эверест по восточной стене. Режим доступа: http://russianclimb.com/russian/gleb_everest_2013.html, свободный.
6. Уголев А.М. Теория адекватного питания и трофология. Л.: Наука, 1991. 272 с.
7. Acheson K.J. Influence of autonomic nervous system on nutrient-induced thermogenesis in humans // Nutrition. 1993. (4). 373–380.
8. Armellini F., Zamboni M., Mino A. et al. Postabsorptive resting metabolic rate and thermic effect of food in relation to body composition and adipose tissue distribution // Metabolism. 2000. (1). 6–10.
9. Burke L.M., Millet G., Tarnopolsky M.A. International Association of Athletics Federations. Nutrition for distance events // J. Sports Sci. 2007. (25, Suppl. 1). S29–S38.
10. Costa R.J., Snipe R., Camoes-Costa V. et al. The impact of gastrointestinal symptoms and dermatological injuries on nutritional intake and hydration status during ultramarathon events // Sports Med. 2016. (1). 16.
11. de Jonge L., Bray G.A. The thermic effect of food and obesity: a critical review // Obes. Res. 1997. (6) 622–631.
12. Du S., Rajjo T., Santosa S. et al. The thermic effect of food is reduced in older adults // Horm. Metab. Res. 2014. (5). 365–369.
13. Haugen H.A., Chan L.N., Li F. Indirect calorimetry: a practical guide for clinicians // Nutr. Clin. Pract. 2007. (4). 377–388.
14. Jentjens R.L., van Loon L.J.C., Mann C.H. et al. Addition of protein and amino acids to carbohydrates does not enhance postexercise muscle glycogen synthesis // J. Appl. Physiol. 2001. 91. 839–846
15. Laursen P.B., Rhodes E.C. Factors affecting performance in an ultraendurance triathlon // Sports Med. 2001. (3). 195–209.
16. McCue M.D. Specific dynamic action: A century of investigation // Comp. Biochem. Physiol. A. Mol. Integr. Physiol. 2006. 144. 381–394.
17. Peters E.M. Nutritional aspects in ultraendurance exercise // Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care. 2003. 6. 427–434.
18. Prat-Larquemin L., Oppert J.M., Bellisle F. et al. Sweet taste of aspartame and sucrose: effects on diet-induced thermogenesis // Appetite. 2000. (3). 245–251.
19. Raben A., Agerholm-Larsen L., Flint A. et al. Meals with similar energy densities but rich in protein, fat, carbohydrate, or alcohol have different effects on energy expenditure and substrate metabolism but not on appetite and energy intake // Am. J. Clin. Nutr. 2003. 77. 91–100.
20. Ranchordas M.K. Nutrition for adventure racing // Sports Med. 2012. (11). 915–927.
21. Sekhar R.V., Shetty P.S., Kurpad A.V. Diet induced thermogenesis with oral & intravenous feeding in chronically undernourished human subjects // Indian J. Med. Res. 1998. 108. 265–271.

22. Speakman J.R., Selman C. Physical activity and resting metabolic rate // Proc. Nutr. Soc. 2003. (3). 621–634.

23. Walhin J.P., Dixon N.C., Betts J.A. et al. The impact of exercise intensity on whole body and adipose tissue metabolism during energy restriction in sedentary overweight men and postmenopausal women // Physiol. Rep. 2016. (24). e13026.

24. Westerterp K.R. Diet induced thermogenesis // Nutr. Metab. (Lond). 2004. 1. (1). PMID PMC524030.

25. Westerterp K.R., Meijer E.P., Rubbens M. et al. Operation Everest III: energy and water balance // Pflugers. Arch. 2000. (4). 483–488.

26. Westerterp K.R., Wilson S.A., Rolland V. Diet induced thermogenesis measured over 24h in a respiration chamber: effect of diet composition // Int. J. Obes. Relat. Metab. Disord. 1999. (3). 287–292.

27. Williamson E. Nutritional implications for ultra-endurance walking and running events // Extrem. Physiol. Med. 2016. (5). 13.

ENERGY EFFICIENCY OF SPECIALIZED NUTRITION SPM-17

Valentina Vladimirovna GULTYAEVA, Margarita Ivanovna ZINCHENKO,
Dmitriy Yuryevich URYUMTSEV

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

To avoid energy deficit in extreme conditions of physical exercises in expeditionary restrictions of the transported load, it is necessary to take into account the energy efficiency of the nutrition used. **The purpose** of this study was to evaluate energy efficiency of the specialized nutrition SPM-17, intended for extreme conditions, considering sex. **Material and methods.** 18 practically healthy volunteers aged 20 to 59 years (7 men, 11 women) were examined within 4 hours after taking SPM-17 by indirect calorimetry. **Results.** SPM-17 energy efficiency averaged 95.6 %, did not differ between men and women.

Key words: diet-induced thermogenesis, indirect calorimetry, specialized nutrition, SPM-17, nutritional energy efficiency.

Gulyaeva V.V. – candidate of biological sciences, senior researcher laboratory of functional reserves,
e-mail: gulyaevavv@physiol.ru

Zinchenko M.I. – candidate of medical sciences, researcher laboratory of functional reserves,
e-mail: miz@physiol.ru

Uryumtsev D.Yu. – candidate of medical sciences, researcher laboratory of functional reserves,
e-mail: piud@physiol.ru

РАК ШЕЙКИ МАТКИ: ЗАБОЛЕВАЕМОСТЬ И СМЕРТНОСТЬ (ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР)

Татьяна Намжиловна ЧИМИТДОРЖИЕВА¹, Любовь Филипповна ПИСАРЕВА²,
Нина Петровна ЛЯХОВА²

¹ Бурятский государственный университет
670000, г. Улан-Удэ, ул. Смолина, 24

² Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН
634009, г. Томск, пер. Кооперативный, 5

Проведен анализ заболеваемости женщин раком шейки матки и смертности от него в мире, в Российской Федерации и в Республике Бурятия. Если в целом по России за последние 10 лет отмечается стабилизация по заболеваемости раком шейки матки и смертности от него, то в Республике Бурятия, наоборот, наблюдается рост этих показателей. Это делает актуальным проведение онкоэпидемиологических исследований в Республике Бурятия с учетом региональных особенностей: природно-климатических, экологических, социально-гигиенических, медико-демографических и этнического разнообразия.

Ключевые слова: рак шейки матки, заболеваемость и смертность женщин.

Заболеваемость РШМ. Для населения России заболеваемость злокачественными новообразованиями (ЗНО) является острой медицинской и социальной проблемой, занимающей ведущие позиции в определении уровня временной и стойкой утраты трудоспособности, сокращая среднюю продолжительность жизни женского населения, нанося невосполнимый экономический ущерб обществу [2, 9, 31]. По данным А.Б. Бакирова с соавт. [3], ЗНО в трудоспособном возрасте ответственны за потерю 8,7 года трудового стажа для каждой умершей женщины. Злокачественные опухоли репродуктивной системы (ЗОРС) являются наиболее частыми в структуре онкологической заболеваемости женщин, среди которых рак шейки матки (РШМ, цервикальный рак) остается одной из наиболее распространенных форм новообразований в женской репродуктивной сфере, занимая в 2012 г., по данным Международного агентства по изучению рака, 7-е место в мире среди всех ЗНО, 4-е – среди всех ЗНО женского населения и 2-е – среди ЗНО женских репродуктивных органов после рака молочной железы (РМЖ) [23, 24, 40, 53].

По данным этого же агентства в мире в 2012 г. стандартизованные показатели заболеваемости РШМ составили 14,0 случаев на 100 тыс. жен-

щин, из них в развитых странах – 9,9 ‰, в развивающихся – 15,7 ‰ [18, 33, 40]. Гистологически различают две основные разновидности РШМ: плоскоклеточный рак (80,0–90,0 %) и аденокарцинома, которая стала чаще встречаться у женщин, родившихся в последние 30 лет. РШМ наиболее часто встречается у женщин среднего возраста (35–55 лет), в 20,0 % случаев обнаруживается в возрасте старше 65 лет, в молодом возрасте встречается относительно редко [1, 36]. За последние 50 лет аденокарциномы шейки матки стали диагностироваться чаще: в 1950–1960 гг. они составляли около 6 % карцином, в 1990 г. – около 12 %, в настоящее время – до 26 % [8]. Имеются данные, что доля плоскоклеточного РШМ не превышает 77,1 %, аденокарциномы шейки матки – 10,0–15,0 %, железисто-плоскоклеточного РШМ – 8,0–10,0 % [23].

От 9,0 до 13,0 % населения всего мира (около 630 млн человек) – носители вирусов папилломы человека (ВПЧ, *Human papilloma virus*), причем оценка степени инфицирования варьирует в зависимости от географического положения [17]. В 2012 г. наибольшая частота цервикального рака отмечалась на Африканском континенте, в Латинской Америке, в странах Юго-Восточной Азии, низкая степень заболеваемости РШМ – в Европе,

Чимитдоржиева Т.Н. – к.м.н., доцент кафедры акушерства и гинекологии с курсом педиатрии МИ, e-mail: chtn2008@mail.ru

Писарева Л.Ф. – д.м.н., проф., главный специалист лаборатории эпидемиологии, e-mail: pisarevalf@oncology.tomsk.ru

Ляхова Н.П. – лаборант-исследователь лаборатории эпидемиологии, e-mail: epidem@oncology.tomsk.ru

Северной Америке. К странам с самыми низкими показателями заболеваемости цервикальным раком относились Иордания (2,4 ‰), Палестина (2,0 ‰) (Западная Азия), традиционно Китай (7,5 ‰). В Европе заболеваемость колебалась от 3,6 ‰ в Швейцарии до 28,6 ‰ в Румынии, в РФ этот показатель составил 15,3 ‰ [40, 48]. В европейских странах в возрастной группе женщин от 15 до 44 лет РШМ занимал 2-е место после рака молочной железы (РМЖ). В Великобритании, по данным 2003 г., пик развития инвазивного РШМ приходился на возрастную группу женщин от 30 до 44 лет, а пик возникновения цервикальной карциномы *in situ* — на возрастную группу от 20 до 34 лет [15].

Заболеваемость РШМ в РФ в последние годы неуклонно росла. Так, в Московской области она увеличилась с 9,2 в 2004 г. до 18,9 на 100 тыс. женского населения в 2013 г., что является свидетельством недостаточной эффективности проводимых в этом отношении профилактических мероприятий [13, 16]. В 2014 г. в России было выявлено 16 130 новых случаев ЗНО шейки матки, что на 26,7 % больше по сравнению с 2004 г. (12 727), в то время как за предыдущий период (1994–2004 гг.) численность больных увеличилась на 9,0 % (11 894 больных в 1994 г.). Динамика показателей заболеваемости цервикальным раком за исследуемый период характеризовалась высокими темпами роста — от 11,7 до 14,5 ‰ (прирост 23,9 % при среднегодовом темпе 2,1 %); за предыдущий период (1994–2004 гг.) эти показатели составили 8,9 и 0,9 % соответственно. Кумулятивный риск заболеть РМЖ с 1,2 % в 2004 г. вырос до 1,4 % в 2014 г., тогда как с 1994 по 2004 г. он практически не менялся (1,2 %) [10, 11]. В России в 2008 г. доля РШМ была максимальной (20,6 %) в возрастной группе 15–39 лет. В возрасте 40–54 года она снизилась и составила 9,2 % (2-е место после РМЖ).

Стандартизованные показатели заболеваемости РШМ были максимальными в республиках Чечня (37,7 ‰), Тыва (27,5 ‰), Бурятия (22,9 ‰), в Читинской области (24,9 ‰) и Чукотском автономном округе (27,8 ‰). Значительно ниже, чем в среднем по России (13,2 ‰), заболеваемость РШМ была в республиках Чувашия, Башкортостан, Дагестан, Северная Осетия, Марий Эл и в Брянской области (7,7–9,5 ‰). В Карелии заболеваемость РШМ за годы исследования (1998–2010 гг.) выросла в 3 раза — с 10,5 до 33,7 случая на 100 тыс. женского населения. Рост заболеваемости отмечен в основном у молодых женщин детородного возраста, в том числе в возрастной группе моложе 30 лет [4]. В Сибири и на Дальнем Вос-

токе в 1993 г. в структуре ЗНО рак шейки матки занимал 4-е место, на него приходилось 7,6 %; в 2012 г. РШМ сместился на 5-е место, его доля в структуре ЗНО снизилась до 6,2 %, тем не менее за этот период наблюдался относительно равномерный рост данной заболеваемости с 13,3 до 17,0 ‰ ($p = 0,0000$) [21, 22]. По заболеваемости цервикальным раком Сибирский Федеральный округ (СФО) в 2014 г. лидировал среди остальных регионов России — 18,9 ‰. Республика Бурятия была отнесена к территориям со сравнительно высоким уровнем заболеваемости этой формой рака [28, 29]. В 2004 г. в республике РШМ заболело 129 человек, в 2014 г. — 185, превысив предыдущий показатель на 43,4 %. Заболеваемость данной локализации в 2004 г. составила 20,8 ‰, при этом Республика Бурятия занимала 5-е место после Томской области (21,5 ‰), Республики Тыва (23,3 ‰), Забайкальского края (25,1 ‰), Республики Алтай (30,9 ‰). В 2014 г. Республика Бурятия переместилась на 3-е место (27,8 ‰) после Республики Тыва (31,9 ‰) и Забайкальского края (32,8 ‰) [10, 11].

Анализ распространенности ВПЧ высокого канцерогенного риска по обращаемости женщин с клиническими проявлениями патологии РШМ в г. Улан-Удэ и некоторых районах республики показал его наличие в каждом втором случае. Повышенная и значимая вирусная нагрузка наблюдалась в 77,2 % случаях выявления вируса, обнаружено ее высокое значение для женщин репродуктивного возраста, так как тяжесть цервикальных поражений при цитологическом исследовании у них ассоциирована с высоким процентом инфицирования папилломавирусами высокого канцерогенного риска (ВПЧ 16, 31, 33 типа) [28, 29]. Динамика заболеваемости женщин РШМ в Республике Бурятия за последние годы в сравнении с таковой в РФ (рисунок, а) свидетельствует о его высокой степени распространенности. Следует отметить, что, к сожалению, с каждым годом увеличивается заболеваемость общими ЗНО без разделения на локализации [27, 30].

Смертность от РШМ. По данным Международного агентства по изучению рака, в 2012 г. в мире от цервикального рака умерли 265 672 женщины, из них 35 514 случаев пришлось на развитые страны (13,4 %) и 230 158 — на развивающиеся (86,6 %). РШМ явился 4-й причиной смерти женского населения мира от онкологической патологии после РМЖ (12,9 ‰). По данным ВОЗ, ежегодно в мире половина больных РШМ умирает в течение первого года в связи с поздней диагностикой заболевания [40]. Отношение смертности к заболеваемости в развитых

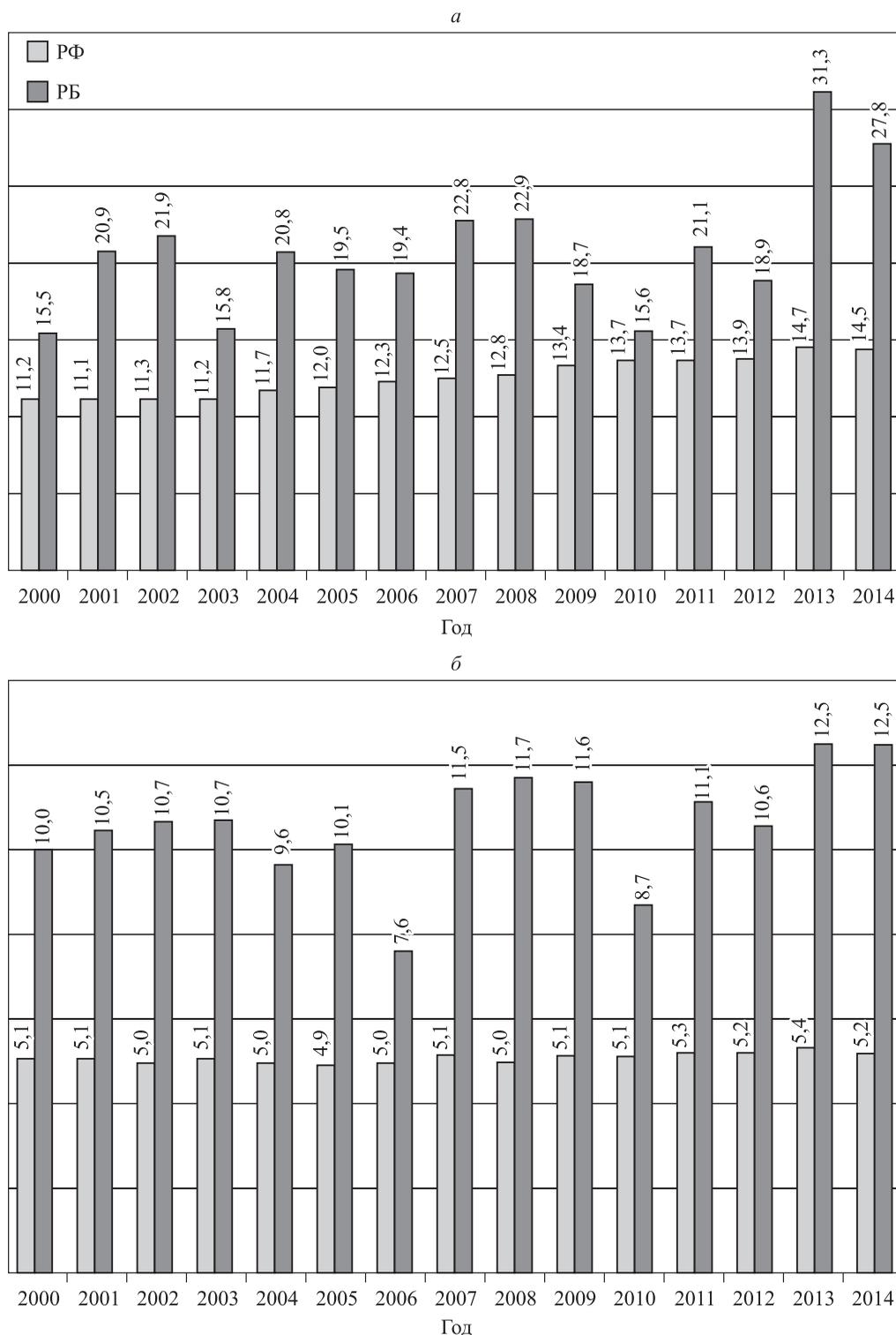


Рис. Динамика заболеваемости РШМ (а) и смертности от РШМ (б) в Республике Бурятия и РФ (стандартизованные показатели на 100 тыс. женского населения)

странах – 42,7%, в развивающихся – 51,8% (среднемировой показатель равен 50,4%), т. е. высокая смертность от РШМ особенно в развивающихся странах вследствие отсутствия эффективных программ скрининга и ограниченного доступа к медицинской помощи [20, 24, 40]. Наиболее

высокая частота смертности от цервикального рака отмечалась в Восточной (27,6 ‰) и Средней Африке (22,2 ‰), в Латинской Америке и странах Карибского бассейна (8,7 ‰), в Южной (10,9 ‰) и Юго-Восточной Азии (7,9 ‰). В Европе (3,8 ‰), Северной Америке (2,6 ‰),

Австралии и Новой Зеландии (1,5 %), в Западной Азии (1,9 ‰) отмечена низкая частота смертности от РШМ.

В 2014 г. в России от цервикального рака умерла 6391 женщина, это на 6,5 % больше, чем в 2004 г. (6003). В структуре смертности женского населения России наибольший удельный вес имел РМЖ (16,7 %); РШМ занимал 10-е место (4,8 %) после рака яичника (7-е место, 5,7 %) и тела матки (9-е место, 5,0 %). В возрасте 30–39 лет основной причиной смерти явились опухоли шейки матки, в 40–49 лет смертность от РШМ переместилась на 2-е место после РМЖ. Отношение смертности к заболеваемости в 2014 г. составило 51,8 %. Это довольно высокий показатель, в 2004 г. он составлял 47,1 %. За исследуемый период наблюдался сравнительно незначительный рост показателей смертности от цервикального рака, с 5,0 до 5,2 ‰ (прирост 7,4 % при среднегодовом темпе 0,7 %); за предыдущий период (1994–2004 гг.) эти показатели составили 2,5 и 0,2 % соответственно (статистически незначимо), что позволяет говорить о стабилизации процесса. Тем не менее следует отметить негативный факт – высокий удельный вес одногодичной летальности от РШМ [25]. Отношение смертности к заболеваемости в 2004 г. составило 47,2 %, в 2014 г. – 39,6 % [10, 11]. По смертности от цервикального рака в 2014 г. СФО также лидировал среди остальных регионов России – 6,75 ‰. В России ежедневно от РШМ погибает 20 женщин [7, 39, 55]. В Республике Бурятия был зафиксирован самый высокий показатель смертности от рака шейки матки в пределах не только СФО, но и всей России – 12,5 ‰ [10, 11] (см. рисунок, б).

Изучение заболеваемости РШМ и смертности от него в Республике Бурятия чрезвычайно важно, так как если в России соответствующие показатели относительно стабильны и не имеют тенденцию к снижению, то в Бурятии, наоборот, склонны к росту. Согласно программе ВОЗ по борьбе с раковыми заболеваниями ведущую роль в сокращении онкологической заболеваемости и смертности будут играть своевременная профилактика новообразований и совершенствование ранней клинической диагностики. Поэтому насущной необходимостью является разработка национальной программы скрининга, внедрение которой позволит радикально снизить заболеваемость РШМ за счет регулярности проведения скрининговых мероприятий и широкого охвата женского населения республики.

К факторам риска возникновения РШМ относят: 1) ВПЧ [5, 12, 14, 26, 34, 35, 38, 45, 55], связь которых с РШМ установлена немецким

физиологом Н. Zur Hausen [57] – современные исследования показали, что более 90,0 % случаев заболевания раком шейки матки ассоциированы с ВПЧ высокого канцерогенного риска; 2) мутантная форма клеточного белка р53 приводит к потере им супрессивных функций, что сопровождается опухолевой трансформацией и возникновением РШМ [42, 43]; 3) гормональные факторы: эстрадиол – один из наиболее активных женских половых гормонов, оказывает существенное влияние на метаболическую и пролиферативную активность клеток [32]; 4) предраковые состояния шейки матки и семейный анамнез; 5) хламидийная инфекция [49, 55]; 6) ВИЧ-инфекция [46, 57]; 7) герпесвирусная инфекция [44]; 8) раннее начало половой жизни и возраст [6, 47, 53]; 9) наличие многих половых партнеров и сексуальных контактов (настоящих и прошлых) [37]; 10) неиспользование механической контрацепции – презервативов [50], воспалительные и венерические заболевания генитального тракта [52]; 11) множественные беременности; 12) интенсивное курение, снижающее иммунную защиту, несоблюдение диеты, низкий социально-экономический статус; 13) ионизирующее излучение, загрязнение окружающей среды [19].

Таким образом, проведение онкоэпидемиологических исследований в Республике Бурятия с учетом региональных особенностей (природно-климатических, экологических, социально-гигиенических, медико-демографических и этнического разнообразия) является весьма актуальным. Полученные результаты с учетом региональной специфики позволят выявить ряд факторов и комплексов, играющих важную роль в развитии РШМ, сформировать группы повышенного риска и могут быть использованы при планировании противораковых мероприятий на местах.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Агеенко А.И. Новая диагностика рака. Теория. Диагностика. Лечение. Реабилитация. М.: Медицина XXI, 2004. 407 с.
2. Аксель Е.М. Статистика злокачественных новообразований женских половых органов // Опухоли жен. репродуктивной системы. 2009. (1). 76–80.
3. Бакиров А.Б., Гимранова Г.Г., Валеева Э.Т. и др. Особенности формирования онкологических поражений кожи на предприятиях по выпуску стекловолокна // Урал. мед. журн. 2008. (11). 57–58.
4. Бахлаев И.Е., Ковчур П.И., Михетько А.А. и др. Рак шейки матки в Карелии // Вестн. РОНЦ РАМН. 2011. 22. (1). 22–28.
5. Боженко В.К., Аирафян Л.А., Антонова И.Б. и др. Анализ экспрессии генов пролиферации и

- апоптоза при цервикальных интраэпителиальных неоплазиях и раке шейки матки // Опухоли жен. репродуктивной системы. 2011. (4). 72–75.
6. Бохман Я.В. Руководство по онкогинекологии. СПб.: Фолиант, 2002. 195–229.
7. Галицкая М.Г., Гайворонская А.Г. Расширение возможностей вакцинопрофилактики папилломавирусной (ВПЧ)-инфекции: защита от целого спектра ВПЧ-ассоциированных заболеваний лиц различного возраста и пола // Педиатр. фармакол. 2013. 10. (1). 13–17.
8. Григорук О.Г., Черданцева Т.М., Москвина Т.А. и др. Оценка возможностей цитологического метода диагностики аденокарциномы по материалу с шейки матки // Опухоли жен. репродуктивной системы. 2016. 12. (2). 52–59.
9. Давыдов М.И., Аксель Е.М. Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ в 2006 г. // Вестн. РОНЦ РАМН. 2008. 19. (2, Прил.). 52–90.
10. Злокачественные новообразования в России в 2004 г. (заболеваемость и смертность) / Ред. В.И. Чиссов, В.В. Старинский, Г.В. Петрова. М., 2006. 248 с.
11. Злокачественные новообразования в России в 2014 г. (заболеваемость и смертность) / Ред. А.Д. Каприн, В.В. Старинский, Г.В. Петрова. М., 2016. 250 с.
12. Киселев В.И., Муйжнек Е.Л. Молекулярные механизмы развития дисплазии шейки матки: новые знания – новые возможности. М., 2011. 20 с.
13. Ключарева С.В., Ядыкин А.А. Проблемы лечения папилломавирусной инфекции и пути ее решения // Клин. дерматология и венерология. 2010. (5). 9–18.
14. Коломиец Л.А., Чуруксаева О.Н., Уразова Л.Н. и др. Вакцинация против ВПЧ – первичная профилактика рака шейки матки. Томск, 2008. 79 с.
15. Комарова Е.Л. Современные аспекты цитологического скрининга рака шейки матки: обзор // Опухоли жен. репродуктивной системы. 2009. (3–4). 78–83.
16. Краснопольский В.И., Логутова Л.С., Зароченцева Н.В. и др. Результаты вакцинопрофилактики ВПЧ-ассоциированных заболеваний и рака шейки матки в Московской области // Рос. вестн. акушера-гинеколога. 2015. (3). 9–14.
17. Мейскенс Ф.М., Пател Д. Рак шейки матки. Причина и профилактика // Опухоли жен. репродуктивной системы. 2010. (4). 58–63.
18. Наврузова В.С. Анализ результатов хирургического лечения рака шейки матки пациенток фертильного возраста // Опухоли жен. репродуктивной системы. 2015. (3). 87–96.
19. Нестерова И.В. Особенности функционирования противовирусного иммунитета // Цитокины и воспаление. 2005. 4. (3). 89–94.
20. Новик В.И. Эпидемиология шейки матки, факторы риска, скрининг // Практ. онкология. 2002. 3. (3). 156–165.
21. Писарева Л.Ф., Одинцова И.Н., Ананина О.А., Бояркина А.П. Злокачественные новообразования у населения Сибири и Дальнего Востока // Сиб. онкол. журн. 2015. (1). 68–75.
22. Писарева Л.Ф., Одинцова И.Н., Ананина О.А. и др. Эпидемиологические аспекты рака шейки матки в регионе Сибири и Дальнего Востока // Профилакт. медицина. 2014. (2). 69–72.
23. Танривердиева Э.К., Жордания К.И., Захарова Т.И. и др. Железисто-плоскоклеточный рак шейки матки – клинико-прогностические характеристики заболевания // Опухоли жен. репродуктивной системы. 2012. (1). 97–101.
24. Трухачева Н.Г., Фролова И.Г., Коломиец Л.А. и др. Оценка степени распространенности рака шейки матки при использовании МРТ // Сиб. онкол. журн. 2015. (2). 64–70.
25. Трушина О.И., Новикова Е.Г. Возможности фотодинамической терапии для вторичной профилактики вирус-ассоциированного предрака шейки матки // Сиб. онкол. журн. 2011. (3). 16–21.
26. Уразова Л.Н., Видяева И.Г. Рак шейки матки и вирусы папилломы: этипатогенетические аспекты (обзор литературы) // Сиб. онкол. журн. 2009. (1). 64–71.
27. Чимитдоржиева Т.Н., Кременецкий И.Г. Экологическая ситуация и заболеваемость населения злокачественными опухолями в республике // Рос. онкол. журн. 2008. (2). 36–38.
28. Чимитдоржиева Т.Н., Перинов А.П., Хойкова О.С. Заболеваемость раком шейки матки и первый опыт изучения распространенности ВПЧ-инфекции в Республике Бурятия // Бюл. Вост.-Сиб. науч. центра СО РАМН. 2009. (3). 127–130.
29. Чимитдоржиева Т.Н., Жовтун Л.М., Занданов А.О. и др. Анализ заболеваемости раком шейки матки и инфицированность вирусом папилломы человека в некоторых районах Бурятии // Вестн. Бурят. гос. ун-та. 2011. (12). 69–75.
30. Чимитдоржиева Т.Н. Заболеваемость злокачественными новообразованиями населения Республики Бурятия // Рос. онкол. журн. 2013. (2). 42–46.
31. Чиссов В.И., Дарьялова С.Л. Онкология. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. 560 с.
32. Чуруксаева О.Н., Асадчикова О.Н., Коломиец Л.А. и др. Гормональные факторы вирусассоциированного рака шейки матки // Опухоли жен. репродуктивной системы. 2010. (4). 54–57.
33. Bermudez A., Neerja B., Eric L. Cancer of the cervix uteri // Int. J. Gynaecol. Obstet. 2015. 131. (Suppl. 2). S88–S95.
34. Burd E.M. Human papillomavirus and cervical cancer // Clin. Microbiol. Rev. 2009. 16. (1). 1–17.
35. Castle P.E., Fetterman B., Poitras N. et al. Variable risk of cervical precancer and cancer after a

- human papillomavirus-positive test // *Obstet. Gynecol.* 2011. 117. (3). 650–656.
36. *Castellsagu'e X., Diaz M., De Sanjose S. et al.* Worldwide human papillomavirus etiology of cervical adenocarcinoma and its cofactors: implications for screening and prevention // *J. Natl. Cancer. Inst.* 2006. 98. 303–315.
37. *Cercato M.C., Mariani L., Vocaturo A.* Predictors of human papilloma virus (HPV) infection in Italian women // *J. Med. Virol.* 2010. 82. (11). 1921–1927.
38. *Dalstein V., Bory J., Graesslin O. et al.* Human papillomavirus testing for primary cervical cancer screening. Basel: Karger, 2006. 103–119.
39. *Ferlay J., Bray F., Pisani Petl.* Cancer incidence, mortality and prevalence. Worldwide // *Globocan 2002: IARC Cancer Base. (5), Version 2.0.* Lyon, France: IARC Press, 2004.
40. *Ferlay J., Shin H.R., Bray F. et al.* Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase № 10. <http://globocan.iarc.fr>.
41. *Ferlay J., Soerjomataram I., Ervik M. et al.* Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase № 11. <http://globocan.iarc.fr>.
42. *Garnett T.O., Duerksen-Hughes P.J.* Modulation of apoptosis by human papilloma virus (HPV) oncoproteins // *Arch. Virol.* 2006. 151. (12). 2321–2335.
43. *Hamada K., Shirakawa T., Gotoh A. et al.* Adenovirus-mediated transfer of human papillomavirus 16 E6/E7 antisense RNA and induction of apoptosis in cervical cancer // *Gynecol. Oncol.* 2006. 103. (3). 820–830.
44. *Kesic V.* Prevention of cervical cancer in Central and Eastern Europe and Central Asia: A challenge for the future // *Vaccine.* 2013. 31. (Suppl. 7). vii–ix.
45. *Kruse A.J., Skaland I., Janssen E.A. et al.* Quantitative molecular parameters to identify low-risk and high-risk early CIN lesions: role of markers of proliferative activity and differentiation and Rb availability // *Int. J. Gynecol. Pathol.* 2004. 23. (2). 100–109.
46. *Lai C.H., Chang C.J., Huang H.J. et al.* Role of human papillomavirus genotype in prognosis of early-stage cervical cancer undergoing primary surgery // *J. Clin. Oncol.* 2007. 25. 3628–3634.
47. *Molijn A., Kleter B., Quint W. et al.* Molecular diagnosis of human papillomavirus (HPV) infections // *J. Clin. Virol.* 2005. 32. (1). 43–51.
48. *Mosher W.D., Chandra A., Jones J.* Sexual behavior and selected health measures: men and women 15–44 years of age, United States, 2002 // *Adv. Data.* 2005. 362. 1–55.
49. *Realacci M., Perrone G.A., Sale P. et al.* Detection of oncogenic HPV and identification of 72Arg polymorphic p53 by in situ PCR for clinical routine purposes // *Anticancer Res.* 2006. 26. (4B). 3095–3103.
50. *Sherman C.A., Harvey S.M., Noell J.* «Are they still having sex?» STI's and unintended pregnancy among mid-life women // *J. Women Aging.* 2005. 17. (3). 41–55.
51. *Waggoner S.E., Darcy K.M., Fuhrman B. et al.* Association between cigarette smoking and prognosis in locally advanced cervical carcinoma treated with chemoradiation: A Gynecologic Oncology Group study // *Gynecol. Oncol.* 2006. 103. (3). 853–858.
52. *Waxman A.G.* Cervical cancer screening in the early post vaccine era // *Obstet. Gynecol. Clin. North Am.* 2008. 35. 537–548.
53. *Wiebe E., Lynette D., Gillian T.* Cancer of the cervix uteri // *Int. J. Gynaecol. Obstet.* 2012. 119. (2). 100–109.
54. *Winer R.L., Kiviat N.B., Hughes J.P. et al.* Development and duration of human papillomavirus lesions after initial infection // *J. Infect. Dis.* 2005. 191. 731–738.
55. World Health Organization (WHO). Comprehensive cervical cancer control. A guide to essential practice. Geneva, 2006. 120 p.
56. *Zetola N.M., Bernstein K.T., Wong E. et al.* Exploring the relationship between sexually transmitted diseases and HIV acquisition by using different study designs // *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* 2009. 50. (5). 546–551.
57. *Zur Hausen H.* Disrupted dichotomous intracellular control of *Human papillomavirus* infection in cancer of the cervix // *Cancer.* 1994. 343. 955–957.

CERVICAL CANCER: INCIDENCE AND MORTALITY (REVIEW)

**Tatyana Namzhilovna CHIMITDORZHIEVA¹, Lyubov Filippovna PISAREVA²,
Nina Petrovna LYAKHOVA²**

¹ *Buryat State University
670000, Ulan-Ude, Smolina str., 24*

² *Tomsk National Research Medical Center, RAS
634050, Tomsk, Kooperativnyy lane, 5*

Cervical cancer incidence and mortality rates were analyzed among women worldwide, Russian and Buryat women. Over the past 10 years, cervical cancer incidence and mortality rates have been stable in Russia, while these rates have increased in the Republic of Buryatia. These facts actualize the oncoepidemiologic researches carrying out in the Republic of Buryatia with account of regional peculiarities: such as climatic and natural conditions, ecological, social hygienic, medical demographic and ethnical diversity.

Key words: cervical cancer, incidence, mortality.

Chimitdorzhieva T.N. – candidate of medical sciences, associate professor of department of obstetrics and gynecology, e-mail: chtn2008@mail.ru

Pisareva L.F. – doctor of medical sciences, chief researcher of department for epidemiology, e-mail: pisarevalf@oncology.tomsk.ru

Lyakhova N.P. – assistant researcher of laboratory of epidemiology, e-mail: epidem@oncology.tomsk.ru

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ КРИТЕРИИ АКУШЕРСКОГО РИСКА: РАННИЙ ПРОГНОЗ ИСХОДОВ БЕРЕМЕННОСТИ НА ОСНОВЕ ВАРИАбельНОСТИ КАРДИОРИТМА МАТЕРИ

Сергей Александрович КЛЕЩЕНОГОВ¹, Раиса Романовна МАНДРОВА²

¹ *НИИ комплексных проблем гигиены и профессиональных заболеваний
654041, г. Новокузнецк, ул. Кутузова, 23*

² *Новокузнецкий институт усовершенствования врачей
654005, г. Новокузнецк, просп. Строителей, 5*

Цель исследования – ранний (до 26 недели) прогноз исхода беременностей легкого и среднего акушерского риска на основе вариабельности ритма сердца (ВРС) матери в сочетании с доплерометрией артерии пуповины и с учетом типа вегетативной регуляции в организме женщин. **Материал и методы.** Обследовано 79 соматически здоровых женщины с неосложненной беременностью (контроль) и 62 женщины с различными формами гестационной патологии (ПБ): преэклампсия, задержка роста плода, осложнения в родах, невынашивание. Средний возраст женщин и срок беременности на момент обследования составили $23,4 \pm 3,7$ года и $20,8 \pm 2,9$ недели ($M \pm SD$) соответственно; по количеству первородящих группы контроля и ПБ не различались, соответственно 69,0 и 71,2 %. Исследованы: 1) спектральный тип ВРС матери, характеризующий паттерн нейровегетативной регуляции, 2) параметр детрентного флуктуационного анализа (DFA) в качестве показателя нелинейной динамики ритма сердца и 3) доплеровская эхография артерии пуповины (индексы диастолического кровотока, ИДКап). **Результаты.** Снижение величины параметра DFA в динамике умеренной произвольной гипервентиляции матери (не более 1,5 МОД, определенного в покое) оказалось характерным для группы ПБ у лиц с повышенной симпатической и/или барорефлекторной активностью (ПБ: 61,4 %; контроль: 6,2 %; $p < 0,001$). Претестовые шансы патологии беременности по критерию Байеса в этих подгруппах увеличивались после тестирования в 9,9 раза (0,614/0,062). Комбинированный тест ИДКап/DFA найден наиболее информативным для подгрупп женщин с оптимальной (сбалансированной) и ваготонической регуляцией, с 33,5-кратным (0,938/0,028) увеличением претестовых шансов гестационной патологии. **Заключение.** Сочетание теста DFA с показателями диастолического кровотока в артерии пуповины и умеренной произвольной гипервентиляцией является информативным для раннего прогноза исходов беременности у женщин с различными типами нейровегетативной регуляции.

Ключевые слова: патология беременности, ранний прогноз, вариабельность ритма сердца матери, паттерн вегетативной регуляции, доплерометрия.

Физиологические критерии прогноза гестационных осложнений, таких как преэклампсия, задержка роста плода, невынашивание, осложнения в родах, до настоящего времени используются недостаточно. Практикуются предложенные более 25 лет назад списки балльной оценки акушерского риска [6]. При оценке риска принимаются во внимание анамнестические признаки, соматическая (экстрагенитальная) патология матери, что оправданно, но при этом практически не учитываются индивидуальные особенности физиологии материнского организма. Недостаточность традиционных подходов отражается в статистике материнской, перинатальной и детской заболеваемости и смертности, которые десяти-

летиями удерживаются на стабильно высоком уровне [4]. По мнению ведущих специалистов в области охраны и развития репродуктивного потенциала России, сегодня можно говорить о масштабном кризисе деторождаемости и демографических процессов [5]. Причинами являются, прежде всего, социальные факторы, однако подчеркивается чрезвычайно большое значение качества беременностей и родов. Статистика свидетельствует, что в среднем половина беременностей протекает с теми или иными осложнениями. В еще большей степени это касается патологических родов – до 80 % [4]. Рожденные дети и их матери не гарантированы в течение жизни от негативного шлейфа гестационных осложне-

ний. При этом остается неустраиваемым подход, учитывающий реальные физиологические процессы в организме женщины. Эти процессы связаны с вегетативным обеспечением беременности и могут фиксироваться путем анализа вариабельности ритма сердца (ВРС). Как показали наши исследования, ВРС является самостоятельным фактором раннего прогноза акушерских осложнений с высокими показателями информативности при использовании показателей в процессе нагрузочных проб [1, 2].

Целью данной работы являлось достижение более высокой точности прогноза осложнений беременности и родов на основе показателей ВРС матери в сочетании с доплерометрией артерии пуповины. Использовалась произвольная гипервентиляция матери как нагрузочный тест, позволяющий выявить скрытые процессы патологического характера, сопровождающие аномальное течение беременности.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Условия обследования женщин соответствовали стандартам, разработанным в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2013 г. Процедуры были одобрены Комитетом по этике НИИ комплексных проблем гигиены и профессиональных заболеваний. Все обследованные лица дали информированное согласие на участие в исследовании.

У 141 беременной групп легкого и среднего акушерского риска (средний возраст $23,4 \pm 3,7$ года, от 17 до 36 лет; гестационный срок $20,8 \pm 2,9$ недели) были исследованы показатели вариабельности ритма сердца и скоростей кровотока в артерии пуповины. Здесь и далее показатели учитывались как $M \pm SD$ (среднее арифметическое \pm стандартное отклонение).

Подгруппы по видам акушерской патологии формировались относительно ведущего синдрома, при этом во многих случаях наблюдались сочетанные нарушения. Согласно международной классификации МКБ 10 (классы XV, XVI), были выделены следующие формы гестационных осложнений: 1) задержка роста плода; 2) преэклампсия; 3) патологическое течение беременности с признаками угрозы невынашивания; 4) спонтанные преждевременные роды; 5) аномалии родовой деятельности (слабость потуг, дискоординация сокращений матки, быстрые и стремительные роды и др.). По клиническим признакам были сформированы две группы: контрольная – при отсутствии гестационных нарушений (числом 79)

и основная – при наличии одного или нескольких синдромов, перечисленных выше (62 женщины). Нозологическая неспецифичность ВРС, показанная нами в предыдущих работах, позволила объединить в одну группу женщин с различными формами осложнений беременности [1].

Исследования проводились в утреннее время, в положении сидя, последовательно в двух состояниях женщин: 1) исходное (фон) и 2) умеренная произвольная гипервентиляция – углубленное дыхание с индивидуально комфортной частотой. Степень гипервентиляционной нагрузки не превышала 1,5 МОД, определенного в состоянии покоя испытуемых. Серии из 256 межсистолических интервалов сердца, полученных с помощью стандартных отведений ЭКГ, подвергались компьютерному анализу по соответствующим программам. Объектом анализа являлась величина последовательных кардиоинтервалов – временных промежутков между зубцами R электрокардиограммы (интервалы RR). Полученные тахограммы ритма сердца представляют собой двумерную кривую в декартовой системе координат, по оси абсцисс которой откладываются значения времени (номер кардиоинтервала), а по оси ординат – величина интервала RR в секундах. Для регистрации и цифрового преобразования сигнала применяли отечественный прибор «ВНС-ритм» («Нейрософт», Россия).

Изучались спектрально-частотные показатели вариабельности ритма сердца, рекомендованные международными стандартами [7]. Учитывались величины спектральной плотности мощности колебаний кардиоритма по максимальной амплитуде пика в соответствующем частотном диапазоне ($мс^2/Гц$). Различали следующие спектральные виды ВРС: оптимальные, ваготонические, бароактивные и симпатикотонические. Правила определения вида ВРС приведены в наших предыдущих работах [1, 2]. Следует отметить, что обозначения видов ВРС в данном случае условны, но они в определенной степени отражают физиологический смысл получаемых спектральных оценок ритмического процесса. Так, явное доминирование высокочастотного пика (HF, high frequency) в спектре ВРС соответствует характеру регуляции по ваготоническому типу и т. д. Оптимальный вид ВРС означает сбалансированный (по симпатовагальному соотношению) тип регуляции со средней мощностью колебаний кардиоритма. В качестве показателя нелинейной динамики использовали параметр детрентного флуктуационного анализа (DFA, detrended fluctuation analysis). DFA был предложен С.-К. Peng и соавт. для оценки так называемого самоподобия ритмического процесса в различных масштабах времени

и представляет собой модифицированный метод регрессии, при котором частоты ритмического процесса соотносятся с объемом выборки, отражающим масштаб времени регистрации [9].

Скорости кровотока в артерии пуповины исследовали путем абдоминальной дуплексной эхографии в положении лежа на спине. Использовали компьютерный блок ультразвукового аппарата «Shimasonic SDU-500С» («Shimadzu», Япония) с доплеровским прибором, работающим на частоте 3,5 МГц. Частотный фильтр устанавливали на уровне 100–150 Гц, угол инсонации ≤ 60 . Определяли показатели систоло-диастолического отношения последовательно в состояниях покоя и умеренной гипервентиляции по схеме, описанной выше, и для удобства интерпретации представляли в обратных им показателях диастолического кровотока (Кр).

При проведении статистической обработки результатов использовали *t*-критерий Стьюдента для парной оценки различий средних показателей в группах; различия процентов оценивали по критерию ϕ (точный метод Фишера, ТМФ). Рассчитывали показатели информативности: чувствительность, специфичность и другие. Определяли величины правдоподобия в качестве байесовского критерия вероятности событий [8].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Процентное соотношение спектральных видов ВРС у беременных, представленное в табл. 1, свидетельствует о значительном преобладании сбалансированного (оптимального) варианта в контрольной группе. Напротив, измененные по профилю и/или амплитуде варианты ВРС преобладали с аналогичной степенью достоверности в основной группе беременных. Следовательно, вид спектра ВРС матери может служить критери-

ем прогноза в отношении характера течения беременности. Наличие оптимального вида спектра ВРС, по этим данным, увеличивает шансы благоприятного течения и исхода беременности сравнительно с различными вариантами измененного вида ВРС.

Вместе с тем для определения информативности данного признака требовалось выяснить характер соотношений положительных и отрицательных результатов теста в сравниваемых группах беременных. Расчетные величины информативности признака ВРС, по данным табл. 1, составили: чувствительность – 86,6 %, специфичность – 37,8 %. Эти критерии основываются на представлении о несбалансированных видах ВРС матери как о неблагоприятном факторе, который предположительно связан с формированием гестационной патологии. Исходя из этих же данных отношения правдоподобия (LR, likelihood ratios) для положительного и отрицательного результатов теста ВРС составили соответственно: $LR^+ = 0,866/0,622 = 1,4$ и $LR^- = 0,134/0,378 = 0,35$. Отсюда следует, что тест ВРС (вне нагрузочных проб) увеличивает в 1,4 раза при положительном результате и снижает в 2,9 раза ($1/0,35$) при отрицательном результате претестовые шансы развития гестационной патологии.

Таким образом, наличие у беременных оптимального вида ВРС, отражающего сбалансированный тип нейровегетативной регуляции, по приведенным результатам, почти в 3 раза снижает претестовые шансы развития акушерских осложнений. Вместе с тем известно, что тест считается достаточно информативным лишь в том случае, если величина LR^+ приближается к 10,0 и выше, либо величина LR^- равна 0,1 и менее [8]. По отношению к ВРС женщин изученной группы выяснено, что величина LR^- , равная 0,35, значительно превышает пороговое значение 0,10. Следовательно, тест ВРС в изолированном виде следует считать недостаточно информативным для прогнозирования гестационных осложнений. Надо подчеркнуть, что этот вывод основан на анализе данных конкретной выборки беременных малого и среднего акушерского риска.

Ранее нами показано, что умеренная произвольная гипервентиляция у беременных дает уникальные возможности для выявления скрытых признаков неблагополучия в течении гестационного процесса [2]. Наиболее информативным найден параметр DFA, являющийся показателем нелинейной динамики ритма сердца. Снижение его величины в ответ на дыхательную пробу у женщин с повышенной барорефлекторной и/или симпатической активностью ассоциировалось с развитием в более поздних сроках различных ос-

Таблица 1

Структура спектральных видов ВРС у беременных, %

Группа беременных	Спектральный вид ВРС		Всего наблюдений
	Опт	Ваг + Бар + Сим	
Контрольная	37,8	62,2	74
Основная	13,4	86,6	67
ϕ	3,37	3,41	141
<i>p</i>	< 0,001	< 0,001	

Примечание. Здесь и на рисунке обозначены спектральные виды ВРС: Бар – бароактивный, Сим – симпатикотонический, Опт – оптимальный, Ваг – ваготонический; *p* – уровень достоверности различий по критерию ϕ между контрольной и основной группами.

ложнений беременности (положительный результат теста). Для женщин с оптимальным и ваготоническим типами нейровегетативной регуляции, напротив, положительным результатом теста было увеличение DFA на фоне произвольной гипервентиляции. Соответственно, противоположная направленность динамики DFA в указанных подгруппах является отрицательным результатом теста, характеризующим нормальное течение беременности. В общей выборке, включающей контрольную группу, доля женщин, имеющих бароактивные и симпатикотонические спектральные виды, составила 46 % от общего числа обследованных. Отношение правдоподобия для теста DFA составило в этой подгруппе величину 9,9, что демонстрирует высокую информативность признака. Данный результат свидетельствует в пользу критической значимости нелинейной динамики ритма сердца матери в процессе беременности при симпатикотонической и барорефлекторной активации в организме матери. Однако для подгрупп оптимального и ваготонического видов ВРС тест DFA оказался недостаточно информативным.

С целью увеличения точности прогноза использовались данные изменений кровотока в артерии пуповины на произвольную гипервентиляцию. Ранее нами выявлен один из дифференциальных признаков, отличающих контрольную группу от основной группы беременных, а именно: отрицательная динамика диастолического кровотока в артерии пуповины ($Kp_{ан}$) являлась характерной для осложненной беременности [3]. Следовательно, положительным результатом теста, который ассоциируется с формированием гестационной патологии, следует считать снижение величины $Kp_{ан}$ при дыхательной пробе. Соответственно, отрицательным результатом теста, характерным для нормального течения беременности, является прирост или отсутствие динамики $Kp_{ан}$ при гипервентиляции. Эти соотношения наблюдались при всех изученных видах ВРС у беременных. Показатель чувствительности признака $Kp_{ан}$ на фоне гипервентиляционной нагрузочной пробы составил 80 %, показатель специфичности – 83,7 %. Отношения правдоподобия положительного и отрицательного результатов соответственно равнялись 4,9 и 0,24. Следовательно, проба с гипервентиляцией и доплерометрией кровотока в артерии пуповины при положительном результате теста увеличивает претестовые шансы гестационной патологии почти в 5 раз, а при отрицательном результате – в 4,2 раза (1/0,24). Результат свидетельствует о том, что, несмотря на довольно высокую информативность признака $Kp_{ан}$, ее следует считать недостаточной для точ-

ного прогноза гестационных осложнений, так как изменение шансов наступления события в обоих случаях не достигает 10-кратной величины.

В связи с этим при разработке алгоритма прогноза мы сочли необходимым комбинировать диагностические признаки. Сочетанный тест $Kp_{ан}/DFA$ включал как динамику параметра DFA, так и сдвиги доплерометрических показателей кровотока в артерии пуповины у одних и тех же лиц в ответ на пробу с гипервентиляцией. Для подгрупп симпатикотонического и бароактивного видов ВРС положительным результатом считалось однонаправленное снижение величин показателей DFA и $Kp_{ан}$ при данной пробе. Значения отношений правдоподобия положительного и отрицательного результатов теста при этом равнялись соответственно 12,4 (0,732/0,059) и 0,28 (0,268/0,941). Таким образом, сочетанный признак $Kp_{ан}/DFA$ является более информативным в отношении прогноза акушерской патологии, чем отдельно взятые показатели пуповинного кровотока и DFA. Положительный результат теста $Kp_{ан}/DFA$ в сочетании с произвольной гипервентиляцией матери более чем десятикратно увеличивает претестовые шансы развития осложнений беременности при симпатикотоническом и бароактивном видах ВРС. Еще более информативным данный тест оказался при оптимальном и ваготоническом видах ВРС. В таблице сопряженности (табл. 2) показаны процентные доли положительного и отрицательного результатов теста $Kp_{ан}/DFA$ для этих подгрупп беременных. Согласно приведенным данным, значения отношений правдоподобия положительного и отрицательного результатов теста равнялись соответственно 33,5 (0,938/0,028) и 0,06 (0,062/0,972). Таким образом, у женщин с оптимальным и ваготоническим типами нейровегетативной регуляции тест $Kp_{ан}/DFA$ при положительном его результате увеличивает претестовые шансы гестационной патологии более чем в 30 раз, а при отрицательном результате снижает те же шансы в 17 раз (1/0,06).

Таблица 2

Таблица сопряженности по комплексному признаку $Kp_{ан}/DFA$ у беременных при оптимальном и ваготоническом видах ВРС

Результат теста	Группа беременных		Всего наблюдений
	Основная	Контрольная	
Положительный	93,8	2,8	15
Отрицательный	6,2	97,2	36
Всего наблюдений	16	35	51

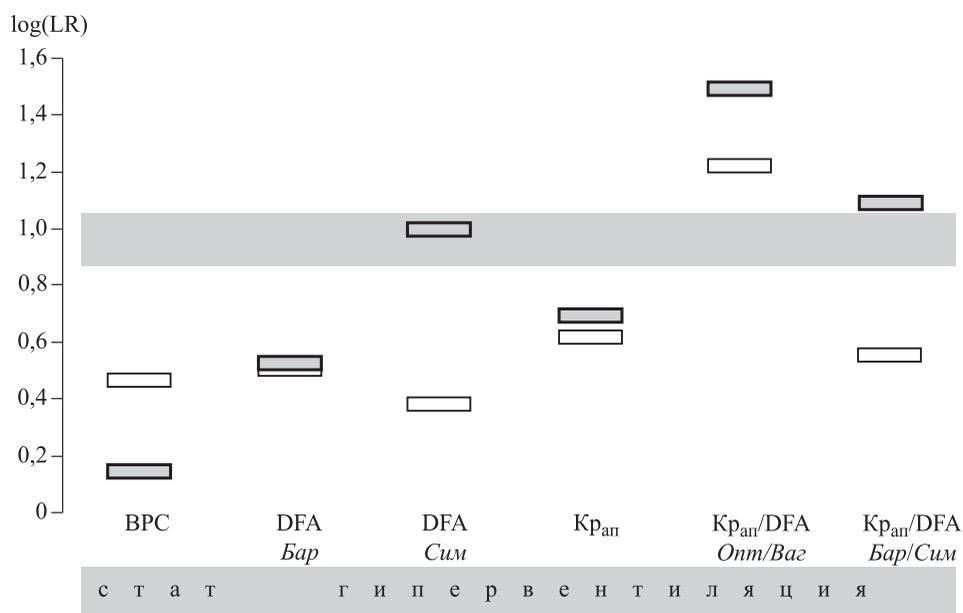


Рис. Прогностическая ценность показателей при различных спектральных видах variability ритма сердца у беременных. $\log(LR)$ – десятичный логарифм отношения правдоподобия (байесовский критерий); ■ – положительный результат теста; □ – отрицательный результат теста

На рисунке отражены итоговые результаты анализа эффективности рассмотренных выше тестов по величине десятичного логарифма отношения правдоподобия (байесовский критерий). Байесовский критерий считается информативным при его величине, равной или более единицы [8]. На рисунке указанный критический уровень обозначен затемненной горизонтальной полосой. Видно, что наиболее информативным в качестве раннего признака гестационной патологии является комбинированный тест $Kp_{ан}/DFA$ при гипервентиляции, наименее информативным – BPC матери вне нагрузочных проб, т. е. в статическом положении женщин. Изолированные показатели DFA и $Kp_{ан}$ в целом были сравнимы по их прогностической силе.

Высокая значимость теста $Kp_{ан}/DFA$ с гипервентиляцией характеризует его как критерий, отражающий патофизиологические сдвиги в организме женщины при осложненной беременности. Данный критерий по его прогностической силе может сравниться с наиболее информативными методами, имеющимися в арсенале акушерской клиники. Вместе с тем применение теста $Kp_{ан}/DFA$ с гипервентиляцией, как было показано в данном исследовании, эффективно в ранних сроках беременности, что важно для первичной профилактики гестационных осложнений. Кроме того, использование данного теста показано у беременных ввиду его бескровности, безопасности, относительной простоты и, вследствие этого, возможности использования в скрининговом режиме.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Клещеногов С.А. Нейровегетативная реактивность у беременных при различных формах гестационных нарушений // Сиб. науч. мед. журн. 2011. (6). 87–91.
2. Клещеногов С.А., Флейшман А.Н. Спектральный компьютерный анализ кардиоритма беременных: оценка течения и прогнозирование осложнений беременности. Метод. пособие. Новокузнецк, 2003.
3. Клещеногов С.А., Лихачева В.В. Клиническое значение сопряженных изменений кровотока в маточной и пуповинной артериях при дыхательной нагрузочной пробе // Акушерство и гинекология. 2009. (2). 16–20.
4. Суханова Л.П. Родовспоможение в России в условиях реализации национального проекта «Здоровье» // Здоровоохранение РФ. 2012. (5). 32–36.
5. Радзинский В.Е., Журавлева В.И. Аборты в России (по материалам III Международного конгресса по репродуктивной медицине) // Практ. медицина. 2009. (2). 29–33.
6. Фролова О.Г., Николаева Е.Н., Мурзабекова Г.С. Факторы риска перинатальной патологии // Перинатальная охрана плода. Алма-Ата, 1989.
7. Goodman S. Towards evidence-based medical statistics: 1. The Bayes factor // Ann. Intern. Med. 1999. 130. 1005–1013.
8. Camm A., Malic M., Bigger J. et al. Heart rate variability: Standards of measurement, physiological

interpretation and clinical use. Task force of European society of cardiology and the North American society of pacing and electrophysiology // *Circulation*. 1996. 93. 1043–1065.

9. Peng C.-K., Havlin S., Stanley H., Goldberger A. Quantification of scaling exponents and crossover phenomena in nonstationary heartbeat time series // *Chaos*. 1995. 5. (1). 82–87.

PHYSIOLOGIC CRITERIA OF OBSTETRIC RISK: EARLY PROGNOSIS FOR PREGNANCY OUTCOME BASED ON MATERNAL CARDIORHYTHM VARIABILITY

Sergey Aleksandrovich KLESHCHENOGOV¹, Raisa Romanovna MANDROVA²

¹*Institute for Complex Problems of Hygiene and Occupational Diseases
654041, Novokuznetsk, Kutusov str., 23*

²*Institute for Postgraduate Medicine
654005, Novokuznetsk, Stroiteli av., 5*

Aim: to investigate the early (up to 26 wks.) prognosis for low and moderate-risk pregnancy outcome based on maternal heart rate variability (HRV) with addition of umbilical cord artery Doppler taking into account patterns of autonomic regulation in women's organism. **Material and methods.** 79 somatically healthy women with uncomplicated pregnancies (control, Con), and 62 women with different forms of gestational pathology (GP group: preeclampsia, intrauterine growth restriction, labor abnormalities and miscarriage) are examined. Mean women's age and gestational time at the moment of exam were 23.4 ± 3.7 yrs and 20.8 ± 2.9 wks ($M \pm SD$) respectively; the percentage of primiparas was roughly equivalent in Con and GP groups, 69.0 % and 71.2 % respectively. There were analyzed 1) spectral types of maternal HRV, which characterize pattern of autonomic regulation; 2) the detrended fluctuation analysis (DFA) parameter as an index of heart rate non-linear dynamics and 3) umbilical cord artery Doppler (diastolic blood flow indices, DBIua). **Results.** DFA decrease in dynamics of maternal moderate voluntary hyperventilation (not more than 1.5 of respiratory minute volume determined at rest) appeared to be typical for GP group in persons with increased sympathetic and/or baroreflexive activity (GP: 61.4 %; Con: 6.2 %; $p < 0.001$). Pretest odds of gestational pathology by Bayesian criterion enhanced after testing in these subgroups 9.9-fold (0.614/0.062). Combined DBIua/DFA testing was found to be much more informative for subgroups of women with optimal and vagotonic regulation, yielding 3.5-fold (0.938/0.028) raise of pretest odds on gestation pathology. **Conclusion.** Combination of DFA testing with diastolic blood flow indices in umbilical cord artery under maternal moderate voluntary hyperventilation is informative for early prognosis of pregnancy outcome in women with different neuroautonomic patterns.

Key words: pregnancy pathology, early prognosis, maternal heart rate variability, autonomic patterns, Doppler sonography.

Kleshchenogov S.A. – candidate of medical sciences, senior researcher, e-mail: serg_kle29@mail.ru
Mandrova R.R. – candidate of medical sciences, head of chair for functional diagnostics