

ИССЛЕДОВАНИЕ ДНК-ПОВРЕЖДАЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ НОВОГО НОРМОТИМИЧЕСКОГО ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА НА ОСНОВЕ КОМПЛЕКСА ЛИТИЯ ЦИТРАТА, ПОЛИМЕТИЛСИЛОКСАНА И ОКСИДА АЛЮМИНИЯ МЕТОДОМ ДНК-КОМЕТ *IN VIVO*

Владимир Иосифович КОНЕНКОВ¹, Любовь Никифоровна РАЧКОВСКАЯ¹,
Андрей Юрьевич ЛЕТЯГИН¹, Татьяна Геннадьевна БОРОВСКАЯ²,
Анна Вениаминовна ШУРЛЫГИНА¹, Маргарита Владимировна РОБИНСОН¹,
Максим Александрович КОРОЛЕВ¹, Анастасия Анатольевна КОТЛЯРОВА¹,
Татьяна Викторовна ПОПОВА¹, Эдмунд Эдмундович РАЧКОВСКИЙ¹,
Анна Владимировна ВЫЧУЖАНИНА², Валерия Александровна МАШАНОВА²

¹ НИИ клинической и экспериментальной лимфологии – филиал ФИЦ Институт цитологии
и генетики СО РАН

630060, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2

² НИИ фармакологии и регенеративной медицины им. Е.Д. Гольдберга,

Томский научно-исследовательский медицинский центр РАН

634028, г. Томск, ул. Ленина, 3

Цель исследования – изучить влияние нормотимического лекарственного средства на основе комплекса лития цитрата, полиметилсилоксана и оксида алюминия на уровень ДНК-повреждений (тест ДНК-комет) *in vivo* методом щелочного гель-электрофореза. Показано, что через 3 и 18 ч после введения препарата в высшей (2000 мг/кг) и терапевтической (400 мг/кг) дозах процент содержания ДНК «в хвосте» в клетках костного мозга не отличается от показателей негативного контроля, что может свидетельствовать об отсутствии возможного канцерогенного действия литийсодержащего препарата. С другой стороны, при сроке экспозиции 3 ч количество ДНК-повреждений в других органах (почки, печень, толстый кишечник) после введения препарата в токсической дозе, напротив, возросло, хотя степень выраженности этого эффекта была невысокой. При снижении дозы (400 мг/кг) и увеличении срока эксперимента (до 18 ч) этот эффект не выявлялся, что свидетельствует о способности лекарственного средства усиливать репарацию ДНК-повреждений. Учитывая, что препараты лития обладают выраженным токсическим действием на почки, ЖКТ, печень, то повышение процента ДНК в «хвосте» в клетках этих органов может быть следствием цитостатического действия лекарственного средства.

Ключевые слова: лекарственное средство, комплекс лития цитрата, полиметилсилоксана и оксида алюминия, повреждение ДНК, метод ДНК-комет.

В последние годы во всем мире, в том числе и в России, растет распространенность заболеваний нервной системы, включая психоэмоциональные расстройства. Одной из основных причин увеличения встречаемости данной патологии является существование высокой стрессовой нагрузки на

человека в современных условиях. Препараты лития, благодаря своей высокой эффективности, существуют на фармацевтическом рынке уже более 45 лет в качестве психотропных лекарственных средств при патологиях, где основными симптомами является изменение настроения [2, 8, 9].

Коненков В.И. – д.м.н., проф., академик РАН, научный консультант, e-mail: vikonenkov@gmail.com

Рачковская Л.Н. – к.х.н., зав. лабораторией, e-mail: noolit@niikel.ru

Летягин А.Ю. – д.м.н., проф., руководитель НИИКЭЛ – филиал ИЦиГ СО РАН, e-mail: letyagin-andrey@yandex.ru

Боровская Т.Г. – д.б.н., проф., зав. лабораторией, e-mail: repropharm@yandex.ru

Шурлыгина А.В. – д.м.н., проф., ведущий научный сотрудник, e-mail: anna_v_s@mail.ru

Робинсон М.В. – д.б.н., старший научный сотрудник, e-mail: mil777@ngs.ru

Королев М.А. – к.м.н., зав. лабораторией, e-mail: kormax@bk.ru

Котлярова А.А. – к.м.н., научный сотрудник, e-mail: noolit@niikel.ru

Попова Т.В. – научный сотрудник, e-mail: noolit@niikel.ru

Рачковский Э.Э. – к.х.н., старший научный сотрудник, e-mail: noolit@niikel.ru

Вычужанина А.В. – к.б.н., старший научный сотрудник, e-mail: repropharm@yandex.ru

Машанова В.А. – младший научный сотрудник, e-mail: repropharm@yandex.ru

Литий, в отличие от других нормотимиков, обладает наиболее широким спектром терапевтического действия и характеризуется многообразием механизмов его реализации. Главная проблема, возникающая при использовании солей лития в клинической практике, связана с очень узким «терапевтическим коридором» его концентраций, что обуславливает высокий риск токсических реакций [13]. В НИИ клинической и экспериментальной лимфологии – филиале ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН синтезирован комплекс лития цитрата, оксида алюминия и полиметилсилоксана (в дальнейшем – комплекс лития), в котором молекулы цитрата лития иммобилизованы в порах полимерной матрицы и постепенно высвобождаются из них по мере прохождения через желудочно-кишечный тракт. Это способствует длительному поддержанию стабильной концентрации лития в крови и снижению риска развития токсических эффектов [2]. Таким образом, комплекс лития можно рассматривать как перспективное лекарственное средство для лечения психоэмоциональных расстройств.

Повреждение ДНК, как известно, является генотоксическим событием, которое может индуцировать канцерогенез. Несмотря на то что литийсодержащие препараты уже достаточно длительное время существуют на фармацевтическом рынке, данные об их возможных мутагенных и канцерогенных свойствах фрагментарны [7, 10, 14]. В то же время интерес к вопросу о влиянии препаратов лития на опухолевый рост повышается в связи не только с их возможными канцерогенными свойствами, но и с тем, что в последние годы появились публикации, свидетельствующие о способности солей лития ингибировать рост злокачественных опухолей и усиливать эффективность цитостатической химиотерапии [11, 12]. В настоящее время доказана возможность применения ряда краткосрочных тестов, к числу которых принадлежит тест ДНК-повреждений (метод ДНК-комет) [5]. Оценка канцерогенности литийсодержащих препаратов в этом тесте также ранее не проводилась.

Целью настоящей работы является изучение влияния препарата на уровень ДНК-повреждений (тест ДНК-комет) *in vivo* методом щелочного гель-электрофореза.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследовании использовали новое нормотимическое лекарственное средство на основе комплекса лития цитрата, полиметилсилоксана и оксида алюминия («комплекс лития»). Препарат в терапевтической дозе 400 мг/кг и в высшей дозе

2000 мг/кг растворяли в 2%-м крахмальном геле на дистиллированной воде и вводили мышам внутрижелудочно через зонд. Эксперименты выполнены на 40 мышах – самцах линии C₅₇Bl/6 массой 18–20 г в возрасте 8–11 недель, полученных из отдела экспериментального биомоделирования НИИ фармакологии и регенеративной медицины им. Е.Д. Гольдберга, г. Томск. Отклонения по массе тела и возрасту не превышали 10 % в соответствии со стандартными рекомендациями Руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств [1, 4] и правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (Страсбург, 1987).

Животным групп 1 и 5 (позитивный контроль) однократно внутрибрюшинно вводили метилметансульфонат в дозе 40 мг/кг за 3 и 18 ч до эвтаназии. Мышам групп 2 и 6 (негативный контроль) однократно внутрижелудочно (через зонд) вводили 2%-й крахмальный гель (растворитель) за 3 и 18 ч до эвтаназии. Комплекс лития вводили однократно внутрижелудочно за 3 и 18 ч до эвтаназии: животным групп 3 и 7 – в терапевтической дозе 400 мг/кг, мышам групп 4 и 8 – в высшей дозе 2000 мг/кг. Каждая экспериментальная группа включала 5 животных. Все экспериментальные процедуры выполнены с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации по защите позвоночных животных, используемых для лабораторных и иных целей.

Эвтаназию животных путем дислокации шейных позвонков проводили через 3 и 18 ч после введения препаратов, выделяли бедренную кость, печень, почку и прямую кишку. Эпифизы бедренной кости срезали и из диафиза вымывали клетки костного мозга предварительно охлажденным до 4 °С фосфатно-солевым буфером, содержащим 20 мМ EDTA-Na₂ и 10 % ДМСО (рН 7,5). Печень, почку и кишку гомогенизировали в 3 мл того же буфера. Уровень повреждений ДНК клеток регистрировали методом ДНК-комет [5]. При наличии разрывов ДНК нарушается структурная организация хроматина и утрачивается сверхспирализация ДНК, что приводит к формированию фрагментов ДНК, не связанных с клеткой. В электрическом поле фрагменты ДНК вытягиваются по направлению к аноду, что и придает наблюдаемым объектам вид «комет». Количество ДНК, мигрировавшей по направлению к аноду («хвост» кометы), может использоваться в качестве показателя, характеризующего уровень повреждений ДНК в изучаемых клетках.

Суспензии клеток помещали в раствор легкоплавкой агарозы, ресуспендировали, наносили на предварительно покрытые 1%-й универсальной агарозой предметные стекла, накрывали покровным стеклом и помещали на лед. После затвердевания агарозы микропрепараты помещали в стеклянную кювету (тип Шиффендекера), заливали предварительно охлажденным до 4 °С лизирующим буфером и инкубировали не менее 1 ч. По окончании лизиса микропрепараты переносили в камеру для электрофореза (Sub Cell GT, «Bio-Rad», США), которую заполняли буфером для электрофореза (300 мМ NaOH, 1 мМ EDTA-Na₂, pH > 13). Приготовленные микропрепараты инкубировали в течение 20 мин для реализации щелочно-лабильных сайтов и щелочной денатурации ДНК. Затем проводили электрофорез в течение 20 мин при напряженности поля 1 В/см и силе тока ~300 мА. По окончании электрофореза микропрепараты перемещали в стеклянную кювету, фиксировали в 70%-м растворе этилового спирта в течение 15 мин и высушивали. Непосредственно перед микроскопированием микропрепараты окрашивали флуоресцирующим красителем SYBR Green I (Sigma-Aldrich, США) (1 : 10000 в ТЕ-буфере с 50 % глицерина) в течение 20 мин в темноте. Анализ проводился на флуоресцентном микроскопе (Микромед 3 Люм, Россия), совмещенном с цифровой камерой высокого разрешения, при увеличении × 200. Полученные с микропрепаратов изображения ДНК-комет фотографировали и анализировали с использованием программного обеспечения CometD. В качестве показателя поврежденности ДНК использовали процентное содержание ДНК в «хвосте» [4–6]. С каждого микропрепарата проанализировано по 100 клеток. Критерием токсичности являлось статистически значимое повышение количества ДНК-повреждений в исследуемых органах и тканях по сравнению с негативным контролем. При статистической обработке полученного экспериментального материала

проводили подсчет среднего значения параметра и стандартной ошибки. Межгрупповые различия оценивали с использованием *t*-критерия Стьюдента и критерия Вилкоксона – Манна – Уитни. Полученные показатели сравнивали с негативным контролем.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что введение мышам метилметансульфоната (позитивный контроль) привело к увеличению по сравнению с негативным контролем (в 3,6–4,2 раза) количества ДНК-повреждений в клетках всех исследуемых органов и тканей, что согласуется с данными литературы [6]. При введении комплекса лития в высшей дозе (2000 мг/кг) процентное содержание ДНК в хвосте в клетках костного мозга достоверно не отличалось от контрольных значений (позитивный контроль), а в клетках прямой кишки, печени, почки, оказался выше, чем в негативном контроле. При введении комплекса лития в дозе 400 мг/кг этот эффект сохранялся, но был выражен в меньшей степени (табл. 1).

Через 18 ч после введения метилметансульфоната уровень ДНК-повреждений в клетках эпителия прямой кишки, печени, почке достоверно превышал таковые значения в негативном контроле. При введении животным комплекса лития в дозе 2000 мг/кг, процентное содержание ДНК «в хвосте» в клетках печени, костного мозга и почки не отличалось от соответствующих значений негативного контроля. В клетках прямой кишки этот показатель оставался повышенным. При введении комплекса лития в дозе 400 мг/кг уровень ДНК-повреждений во всех исследуемых органах и тканях не отличался от негативного контроля (табл. 2).

Анализ полученных экспериментальных данных свидетельствует об отсутствии однозначного ответа на вопрос, приводит ли введение тестируемого препарата к возрастанию ДНК-

Таблица 1

Влияние комплекса лития на уровень ДНК-повреждений (процентное содержание ДНК «в хвосте») в органах и тканях мышей-самцов через 3 ч после введения препарата

Группа животных	Клетки прямой кишки	Клетки печени	Клетки костного мозга	Клетки почки
Комплекс лития 400 мг/кг	5,49 ± 0,48*	5,08 ± 0,36*	3,33 ± 0,28	5,27 ± 0,49*
Комплекс лития 2000 мг/кг	7,90 ± 0,20*	6,57 ± 0,32*	3,28 ± 0,40	7,15 ± 0,52*
Негативный контроль	4,21 ± 0,32	3,76 ± 0,44	3,49 ± 0,43	3,78 ± 0,30
Позитивный контроль	16,58 ± 0,6*	14,63 ± 0,73*	12,49 ± 1,25*	16,02 ± 1,23*

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

Таблица 2

Влияние комплекса лития на уровень ДНК-повреждений (процентное содержание ДНК в хвосте) в органах и тканях мышей через 18 ч после введения препарата ($M \pm SE$)

Группа животных	Клетки прямой кишки	Клетки печени	Клетки костного мозга	Клетки почки
Комплекс лития 400 мг/кг	$3,20 \pm 0,25$	$2,90 \pm 0,22$	$2,94 \pm 0,24$	$3,35 \pm 0,34$
Комплекс лития 2000 мг/кг	$5,22 \pm 0,44^*$	$4,63 \pm 0,71$	$3,26 \pm 0,26$	$4,12 \pm 0,75$
Негативный контроль	$3,48 \pm 0,18$	$3,01 \pm 0,24$	$2,78 \pm 0,28$	$3,22 \pm 0,30$
Позитивный контроль	$7,33 \pm 0,27^*$	$7,27 \pm 0,33^*$	$5,69 \pm 0,41^*$	$8,01 \pm 0,49^*$

повреждений. Так, этот показатель в клетках костного мозга при экспозиции как через 3, так и 18 ч после начала эксперимента не повышается, что может свидетельствовать об отсутствии возможного канцерогенного действия литийсодержащего препарата. С другой стороны, количество ДНК-повреждений в других органах (почки, печень, толстый кишечник), напротив, возрастало, хотя выраженность этого увеличения оказалось невысокой и была значительно ниже, чем после введения метилметансульфоната (эталонного генотоксиканта). Следует отметить, что препараты лития, как отмечено выше, достаточно токсичны и обладают выраженным повреждающим действием на почки, желудочно-кишечный тракт, печень и др. В связи с этим повышение процентного содержания ДНК в «хвосте» может быть расценено как проявление цитотоксического действия препарата, которое характерно для литийсодержащих соединений в целом [3]. Обращает на себя внимание наличие дозовой зависимости ДНК-повреждающего эффекта комплекса лития. Кроме того, способность препарата вызывать повышение процентного содержания ДНК «в хвосте» с течением времени снижается до уровня контрольных значений (негативный контроль). Это может свидетельствовать о повышении интенсивности репаративной регенерации ДНК в печени, почках, толстом кишечнике. Способность солей лития к стимуляции репаративных процессов может быть обусловлена влиянием на аутофагию, которая играет важную роль в поддержке геномной целостности [15].

Данные об отсутствии у препарата канцерогенных свойств подтверждаются результатами, полученными в других краткосрочных тестах (тест Эймса, микроядерный тест в клетках костного мозга млекопитающих) [14]. В дальнейшем, несомненно, научный и практический интерес представляет сравнение экспериментальных данных, полученных в тесте ДНК-комет после введения синтезированного комплекса на основе лития, оксида алюминия и полиметилсилоксана с официальным препаратом – карбонатом лития.

ВЫВОДЫ

1. Препарат лития не вызывает повышения процентного содержания ДНК «в хвосте» в клетках костного мозга.
2. Лекарственное средство приводит к повышению процентного содержания ДНК «в хвосте» в клетках почек, печени, толстой кишки (срок экспозиции 3 ч).
3. При повышении срока экспозиции и снижении дозы препарата уровень ДНК-повреждений не отличается от значений негативного контроля.
4. Повышение процентного содержания ДНК «в хвосте» (в тесте ДНК-комет) на фоне введения тестируемого лекарственного средства является, очевидно, результатом не его мутагенного действия, а способности угнетать репарацию ДНК в тканях толстой кишки и почки.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Белицкий Г.А., Ревазова Ю.А., Абилов С.К., Арзамасцев Е.В., Верстакова О.Л., Гуськова Т.А., Дурнев А.Д., Журков В.С., Ингель Ф.И., Куничан А.Д., Мизгирев И.В., Сычева Л.П., Танирбергенев Т.Б., Худолей В.В., Юрченко В.В. Методические рекомендации по оценке канцерогенности лекарственных средств и вспомогательных веществ в краткосрочных тестах // Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / ред. А.Н. Миронов. М.: Гриф и К, 2012. 914 с.
2. Бородин Ю.И., Робинсон М.В., Дарнева И.С., Рачковская Л.Н., Королев М.А., Летагин А.Ю. Соединения лития в биологии и медицине. Новосибирск: Азарт, 2016. 50 с.
3. Гаврилова Ю.С., Бгатова Н.П., Соловьева А.О., Трифонова К.Э., Лыков А.П., Бородин Ю.И., Коненков В.И. Клетки-мишени различных форм лития в гетерогенной популяции гепатокарциномы-29 // Цитология. 2016. 58. (3). 186–191.
4. Дурнев А.Д., Меркулов В.А., Жанатаев А.К., Никитина В.А., Воронина Е.С., Середенин С.Б. Методические рекомендации по оценке ДНК-повреждений методом щелочного гель-электрофореза отдельных клеток в фармакологических исследо-

ваниях // Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / ред. А.Н. Миронов. М.: Гриф и К, 2013. 914 с.

5. Сорочинская У.Б., Михайленко В.М. Применение метода ДНК-комет для оценки повреждений ДНК, вызванных различными агентами окружающей среды // Онкология. 2008. 10. (3). 303–309.

6. Эмедова Т.А., Мишенина О.В., Мадонов П.Г., Боровская Т.Г., Вычужанина А.В., Машанова В.А. Изучение канцерогенности иммобилизованных субтилизинов методом ДНК-комет // Мед. и образ. в Сибири. 2015. (6). 10–12.

7. Akbaba G.B., Turkez H., Sönmez E., Tatar A., Yilmaz M. Genotoxicity in primary human peripheral lymphocytes after exposure to lithium titanate nanoparticles in vitro // Toxicol. Ind. Health. 2016. 32. (8). 1423–1429.

8. Cipriani A., Hawton K., Stockton S. Lithium in the prevention of suicide in mood disorders: updated systematic review and meta-analysis // BMJ. 2013. 346. f3646.

9. Comai S., Tau M., Pavlovic Z., Gobbi G. The psychopharmacology of aggressive behavior a translational approach part 2 clinical studies using

atypical antipsychotics, anticonvulsants, and lithium // Clin. Psychopharmacol. 2012. 32. (2). 237–260.

10. Léonard A., Hantson P., Gerber G.B. Mutagenicity, carcinogenicity and teratogenicity of lithium compounds // Mutat. Res. 1995. 339. (3). 131–137.

11. Maeng Y.-S., Lee R., Lee B., Choi S., Kim E.K. Lithium inhibits tumor lymphangiogenesis and metastasis through the inhibition of TGFBIp expression in cancer cells // Scientific Reports. 2016. 6. 20739.

12. Malhi G.S., Tanious M., Pritha D., Coulston C.M., Berk M. Mechanisms of action of lithium therapy // Aust. N. Z. J. Psychiatry. 2013. 47. (Suppl. 1). 56–57.

13. Sheean G.L. Lithium neurotoxicity // Clin. Exp. Neurol. 1991. 28. 112–127.

14. Weiner M.L., Batt K.J., Putman D.L., Curren R.D., Yang L.L. Genotoxicity evaluation of lithium hypochlorite // Toxicology. 1990. 65. (1-2). 1–22.

15. Xu F., Li X., Yan L., Yuan N., Fang Y., Cao Y., Xu L., Zhang X., Xu L., Ge C., An N., Jiang G., Xie J., Zhang H., Jiang J., Li X., Yao L., Zhang S., Zhou D., Wang J. Autophagy promotes the repair of radiation-induced DNA damage in bone marrow hematopoietic cells via enhanced STAT3 signaling // Radiat. Res. 2017. 18. 7. (3). 382–396.

STUDY OF DNA DAMAGE BY NEW NORMOTHYMIC MEDICINAL ON THE BASIS OF THE COMPLEX OF LITHIUM CITRATE, POLYMETHYLSILOXANE AND ALUMINUM OXIDE BY DNA COMET ASSAY *IN VIVO*

Vladimir Iosifovich KONENKOV¹, Lyubov' Nikiforovna RACHKOVSKAYA¹,
Andrey Yur'evich LETYAGIN¹, Tat'yana Gennad'evna BOROVSKEYA²,
Anna Veniaminovna SHURLYGINA¹, Margarita Vladimirovna ROBINSON¹,
Maksim Aleksandrovich KOROLEV¹, Anastasiya Anatol'evna KOTLYAROVA¹,
Tat'yana Viktorovna POPOVA¹, Edmund Edmundovich RACHKOVSKIY¹,
Anna Vladimirovna VYCHUZHANINA², Valeriya Aleksandrovna MASHANOVA²

¹ *Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology –
Branch of the Institute of Cytology and Genetics of SB RAS
630060, Novosibirsk, Timakov str., 2*

² *Gol'dberg Research Institute of Pharmacology and Regenerative Medicine,
Tomsk National Research Medical Center of RAS
634028, Tomsk, Lenin str., 2*

The aim of the study was to study the effect of the normotimic drug based on a complex of lithium citrate, polymethylsiloxane and alumina on DNA damage level (DNA comet test) *in vivo* by alkaline gel electrophoresis. It was shown that at 3 and 18 hours after the drug administration at the highest dose (2000 mg/kg) and therapeutic dose (400 mg/kg), the percentage of DNA in the tail in the cells of the bone marrow does not differ from the negative controls. That may indicate absence of possible carcinogenic action of the lithium-containing drug. On the other hand, the amount of DNA damage in other organs (kidney, liver, large intestine) increased with an exposure time of 3 hours after administration of the drug in a toxic dose. Although, the degree of this effect expression was not high. When the dose was reduced (400 mg/kg) and the duration of the experiment was increased (up to 18 hours), this effect was not detected. That indicates the ability of the drug to enhance DNA damage repair. Given that lithium preparations have a pronounced toxic effect on kidneys, gastrointestinal tract, liver, the increase in the percentage of DNA in the tail in these organs can be a consequence of the cytostatic action of the drug.

Key words: medicinal product, a complex of lithium citrate, polymethylsiloxane and aluminum oxide, DNA damage, DNA comet assay.

Konenkov V.I. – doctor of medical sciences, professor, academician of RAS, scientific advisor,
e-mail: vikonenkov@gmail.com

Rachkovskaya L.N. – candidate of chemical sciences, head of laboratory, e-mail: noolit@niikel.ru

Letyagin A.Yu. – doctor of medical sciences, professor, director, e-mail: letyagin-andrey@yandex.ru

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

Shurlygina A.V. – doctor of medical sciences, professor, leading researcher, e-mail: anna_v_s@mail.ru

Robinson M.V. – doctor of biological sciences, senior researcher, e-mail: mil777@ngs.ru

Korolev M.A. – candidate of medical sciences, head of laboratory, e-mail: kormax@bk.ru

Kotlyarova A.A. – candidate of medical sciences, researcher, e-mail: noolit@niikel.ru

Popova T.V. – researcher, e-mail: noolit@niikel.ru

Rachkovskiy E.E. – candidate of chemical sciences, senior researcher, e-mail: noolit@niikel.ru

Vychuzhanina A.V. – candidate of biological sciences, senior researcher, e-mail: repropharm@yandex.ru

Mashanova V.A. – junior researcher, e-mail: repropharm@yandex.ru

ВЫСОКОПОЛЬНАЯ МАГНИТНО-РЕЗОНАНСНАЯ ТОМОГРАФИЯ ТКАНЕЙ СУСТАВОВ И КОНЕЧНОСТЕЙ МУМИИ ЖЕНЩИНЫ ИЗ МОГИЛЬНИКА АК-АЛАХА-3 УРОЧИЩА УКОК

Андрей Юрьевич ЛЕТЯГИН^{1,3}, Наталья Викторовна ПОЛОСЬМАК²,
Андрей Александрович САВЕЛОВ³, Максим Александрович КОРОЛЕВ¹,
Елена Алексеевна ЛЕТЯГИНА¹

¹ НИИ клинической и экспериментальной лимфологии –
филиал ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН
630060, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2

² Институт археологии и этнографии СО РАН
630090, г. Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 17

³ Институт «Международный томографический центр» СО РАН
630090, г. Новосибирск, ул. Институтская, 3а

Цель – выполнить палеорадиологическое исследование с помощью магнитно-резонансной томографии (МРТ) тканей опорно-двигательного аппарата мумии женщины пазырыкской культуры из могильника Ак-Алаха-3 на плато Укок, у которой ранее были выявлены метастазы опухоли (из правой молочной железы) и последствия тяжелой травмы – вывих правого тазобедренного и повреждение правого плечевого суставов. **Метод** – высокопольная МРТ на магнитно-резонансном томографе Achieva Nova 1,5 Тл (Philips, Нидерланды). **Результаты**. В тканях опорно-двигательного аппарата мумии обнаружены проявления перенесенного остеомиелита бедренных костей. Выявлены признаки повреждения передней крестообразной связки правого коленного сустава и lig. bifurcatum правой стопы, что свидетельствует о действии неблагоприятных факторов травматического генеза. Также обнаружены признаки воспалительного процесса – спондилоартрита и остеоартрита (вероятно, аутоиммунного генеза): выраженное сужение обоих крестцово-подвздошных сочленений, зоны воспалительного отека костной ткани в проекции левого крестцово-подвздошного сочленения, суставов стопы, вовлечение околоуставных мягких тканей – ахиллобурсит.

Ключевые слова: мумия, магнитно-резонансная томография, суставы, опорно-двигательный аппарат.

Палеорадиология изучает биоархеологические материалы с использованием современных методов визуализации, таких как рентгенография, рентгеновская компьютерная томография (РКТ), магнитно-резонансная томография (МРТ), микро-КТ, компьютерная графика, 3D-реконструкция и морфометрический анализ, внедренных в медицинскую практику в последней четверти XX в. [18]. Процедура патолого-анатомического вскрытия мумии приводит к утрате целостности ценного археологического артефакта и физически трудноосуществима из-за жестких и сухих мумифицированных тканей. В практи-

ке виртуальное (томографическое) «вскрытие» трупа с помощью РКТ было более точным, чем макроскопическое исследование (вскрытие) в плане выявления локусов патологии в костных элементах скелета, но не всегда правильно дифференцировало вид патологии – инфекционную и дегенеративную [8]. В клинической практике развивается посмертная МРТ (postmortem magnetic resonance imaging, pmMRI) для судебно-медицинского применения и достоверного выявления причины смерти, по своим методическим подходам совпадающая с палеопатологией и палеорадиологией [10, 11, 17]. Такие исследования антропо-

Летягин А.Ю. – д.м.н., проф., руководитель, e-mail: letyagin-andrey@yandex.ru

Полосьмак Н.В. – д.ист.н., член-кор. РАН, главный научный сотрудник, e-mail: polosmaknatalia@gmail.com

Савелов А.А. – к.ф.-м.н., старший научный сотрудник лаборатории медицинской диагностики, e-mail: as@tomo.nsc.ru

Королев М.А. – к.м.н., зам. директора по научно-клинической работе, зав. лабораторией патологии соединительной ткани, e-mail: kormax@bk.ru

Летягина Е.А. – к.м.н., зав. отделением ревматологии, e-mail: elena_letyagina@list.ru

археологических объектов дают новые данные о характере развития археологических общностей и существования человека в античный период. Например, результаты клинико-диагностических (радиологических) исследований Человека из льда («Der Mann aus dem Eis») показали наличие скелетно-мышечных повреждений и патологий: остеоартрит дугоотростчатых суставов шейного отдела позвоночника, остеоартрит правого тазобедренного сустава, сакрализация позвонка L5, повреждение медиального мениска и медиальной коллатеральной связки правого коленного сустава, а также наличие атеросклероза и клещевого боррелиоза [12]. Имеется мнение, что Человек из льда мог использовать татуировки на коже над коленными и голеностопными суставами и паравerteбрально в области грудопоясничного отдела позвоночника как форму локализованной терапии болевого синдрома [6, 12].

Общепринято, что остеоартрит является частью процесса старения, но может развиваться в среднем возрасте в результате тяжелого труда, что не удивительно как в отношении населения Древнего Египта, так и в отношении Европы в античные времена [9, 12]. Хотя возможно, что основной причиной дегенерации тканей суставов у античных людей были травма и особенности жизненного уклада, реже – врожденные и приобретенные деформации и дисплазии, асептический некроз, эпифизеолиз или болезнь Легга – Кальве – Пертеса [16]. С другой стороны, признаки ревматоидного артрита выявлены в палеоантропологических объектах, которые проживали задолго до ранних 1800-х годов, когда Огюст Жаков Ландре-Бове (Augustin Jacob Landré-Beauvais) впервые диагностировал это заболевание, а в настоящее время патология установлена по современным критериям на основе РКТ-визуализации костных эрозий, деформации оснований фаланг и совместного подвывиха суставов пальцев кисти,

вовлечения крестцово-подвздошных сочленений [7, 15]. Случай рассекающего остеохондрита (osteochondritis dissecans) выявлен у 4000-летней мумии, найденной в Чили: объект женского пола среднего возраста имел характерные двусторонние эрозии медиальных мыщелков обеих бедренных костей в соответствии с современными критериями [13].

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Мумия женщины обнаружена в 1993 г. в погребении, относящемся к пазырыкской культуре скифской эпохи, представители которой в V–III вв. до н.э. населяли плато Укок в Горном Алтае [2, 3]. По данным дендрохронологического анализа погребение датировано 413 г. до н.э., а высокая сохранность мумифицированного тела объясняется его постоянным нахождением в ледяной «линзе» без оттаивания [5]. Возраст погребенной женщины определен в 28–30 лет, что соответствует среднему возрасту дожития пазырыкских женщин. Смерть наступила, вероятно, в январе, но состояние кожных покровов свидетельствует, что до погребения соплеменники сохраняли мумию от трех до шести месяцев [4]. Ребальзамирование мумии выполнено в 1993–1994 гг. сотрудниками Всероссийского НИИ лекарственных и ароматических растений профессором В.Л. Козельцевым и В.И. Семке.

МРТ выполнена 27.06.2010 в Международном томографическом центре СО РАН (г. Новосибирск) на магнитно-резонансном томографе Achieva Nova 1,5 Тл (Philips, Нидерланды). Мумия при исследовании находилась на специальном деревянном помосте, полностью закрыта непрозрачной пленкой, в искусственной среде с антисептиком и увлажнителем, поверхностные катушки не использовались (рис. 1). МР-томограммы выполнялись по модифицирован-

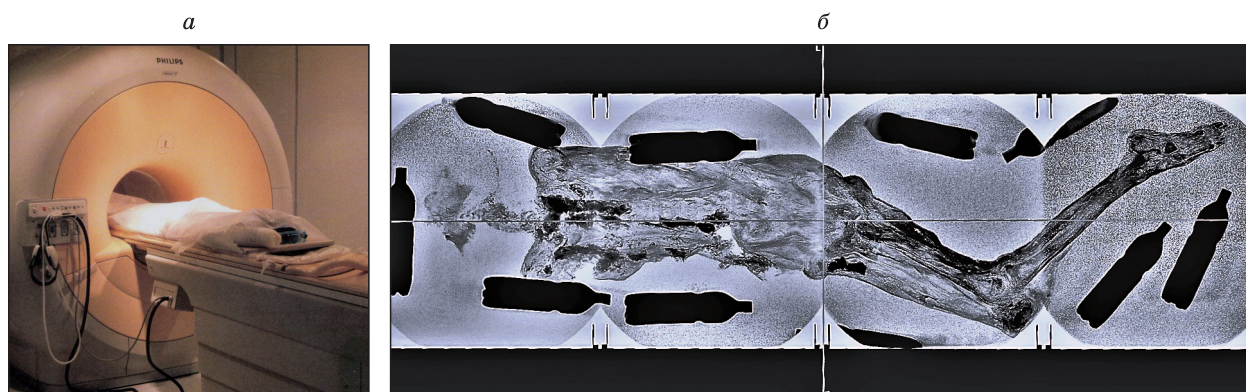


Рис. 1. Магнитно-резонансный томограф Achieva Nova (а); мумия – на специальном деревянном помосте, полностью закрыта непрозрачной пленкой, в искусственной среде с антисептиком и увлажнителем (б)

ной МР-последовательности BFFE (TRIVE HR CLEAR®, Philips), позволившей получить достаточный МР-сигнал от тканей с низким содержанием свободной и связанной жидкости. Параметры последовательности: TR/TE: 5,6/2,7, 6,0/2,9 и 6,2/3,0 мс, толщина среза 6,0 мм, межсрезовое расстояние 3,0 мм (с целью не пропустить мелких изменений с субвоксельной величиной). Технология Total Body multistation (Philips) с последующим «сшиванием» полученных изображений позволила получить тотальные томограммы всего тела мумии. Начальное поле зрения (field of view, FOV) – 480 × 480 мм, конечная FOV – 480 × 1737 мм (режим 4-stations); начальная матрица – 368 × 368, конечная матрица – 368 × 1332. Объем вокселя 1,3 × 1,3 × 3 мм.

Чтобы обеспечить устойчивую работу томографа, по периферии тела мумии были расположены герметичные емкости с водой, поскольку ткани антропоархеологических объектов дегидратированы: 10,5 ± 0,2 % связанной и 4,2 % свободной воды у мумии, тогда как при посмертных измерениях в течение 24 ч после смерти – соответственно 20,1 ± 1,3 и 56,7 ± 1,1 % [1].

Визуальный анализ томограмм и постобработка (3D, MPR, усиление контраста) проводились с использованием свободно распространяемой программы для анализа DICOM-изображений Radiant Dicom Viewer 4.6.5.18450beta (64-bit).

РЕЗУЛЬТАТЫ

На МР-томограммах длина мумии при измерении по точкам биомеханических сегментов тела от 1548 до 1576 мм; прижизненный рост был, вероятно, на 5–6 см больше, поскольку все 23 межпозвоноковых диска дегидратированы, их толщина составляет 2–3 мм, что в 2–3 раза меньше нормальной величины. Масса мумии 49 кг, толщина подкожно-жировой клетчатки явно снижена, что указывает на состояние кахексии перед смертью.

Подкожная жировая клетчатка правой кисти имеет диффузное утолщение за счет отека (усиление МР-сигнала) дистальнее и проксимальнее лучезапястной складки (рис. 2, б). Мягкие ткани средней и проксимальной части правого предплечья, правого локтевого сустава и правого плеча утрачены (рис. 2, а), но в плечевой, лучевой и локтевой костях очаговых отека изменений не выявлено, а МР-сигнал от тканей правого локтевого сустава значительно снижен по причине выраженной дегидратации и отсутствия окружающих тканей. Мягкие ткани вокруг правого плечевого сустава также утрачены, тем не менее на МР-томограммах выявляется дефект по верх-

нему контуру головки плечевой кости глубиной до 3,5–4,5 мм, с прилежащей субхондральной отеком шириной до 4 мм, что более всего соответствует прижизненному травматическому поражению. В акромеальном конце правой ключицы и в структурах свода правого плеча выявляются мелкие отека очаги – вероятно, по типу остеоартрита с низкоэнергетическими воспалительными очагами (рис. 2, в).

Кости левой кисти без признаков поражения, подкожная клетчатка без признаков отека. Имеются отечно-кистозные изменения вдоль сухожилий разгибателей кисти – проявления тендинита (рис. 2, г, д). Мягкие ткани левого локтевого сустава и прилежащих тканей левого плеча и предплечья выглядят достаточно сохранными, но в структуре локтевого отростка имеется единичный отечный очаг размером до 9 × 7 × 8 мм и в структуре блока локтевой кости очаг до 11 × 9 × 6 мм (рис. 2, е). В левом плечевом суставе структура костей с мелкими субхондральными склеротическими изменениями, с незначительной деформацией контура головки плечевой кости и мелким отечным очагом (до 5 × 4 × 6 мм) в структурах свода сустава, что укладывается в проявления дистрофического процесса с возрастными и механическими повреждениями – вероятно, по типу остеоартрита с низкоэнергетическими воспалительными очагами (рис. 2, ж).

Крестцово-подвздошные сочленения узкие, ушковидная поверхность крестца сформирована напротив тел позвонков S1, S2 и S3, с отеком в боковых массах крестца и с элементами окостенения самих сочленений с закрытием суставной щели, по всей видимости – в результате перенесенного воспаления крестцово-подвздошных суставов – двухстороннего сакроилиита (рис. 3).

Визуализированы субхондральные диффузные склеротические изменения головки правой бедренной кости глубиной до 5 мм (дегенеративно-дистрофические изменения). Правый тазобедренный сустав вывихнут (рис. 4, а): резкая отечность в области шейки и в межтрохантерной зоне (внутри сустава), видна «пустая» гленоидальная полость, головка бедренной кости вывихнута за пределы края гленоидальной полости на 17 мм кпереди, в сторону клетчатки правого бедренного треугольника, а большой вертел из нормально-латерального положения переместился кзади, под ягодичные мышцы. Капсула сустава имеет неровные верхнелатеральные контуры (травматический разрыв) и явную отечность, внутри суставной капсулы – небольшое количество жидкости, отечность клетчатки правой паховой области (правого бедренного треугольника).

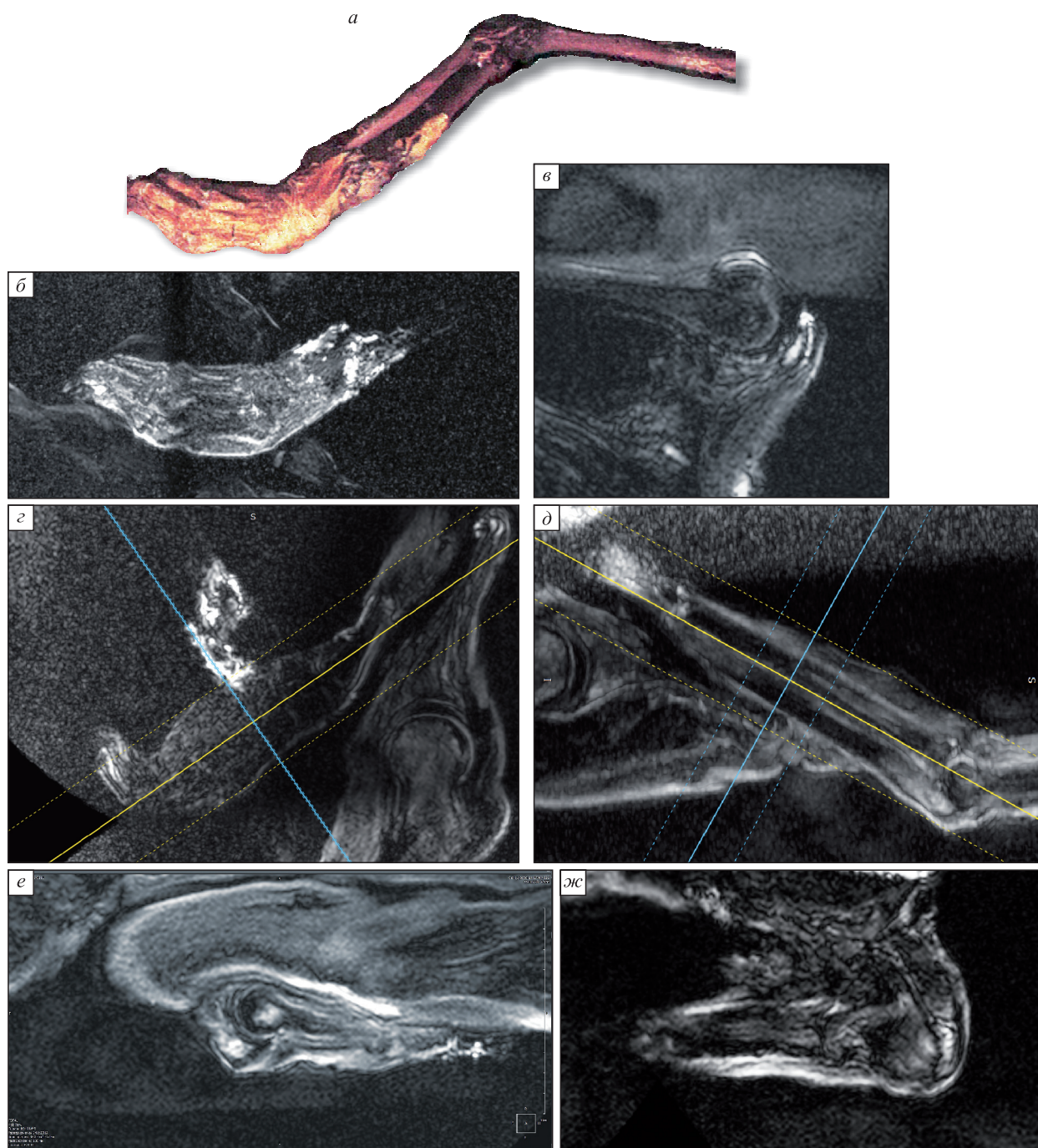


Рис. 2. Кости и суставы верхних конечностей и плечевого пояса: а – фото правой руки мумии, фрагмент адаптирован с изменениями из [3 (фото № 82, стр. 85)]; б – проксимальные фаланги, запястные и пястные кости правой кисти, проксимальная треть правого предплечья – технология наложения полупрозрачных соседних томографических срезов (видна диффузно-очаговая отечность и утолщение подкожно-жировой клетчатки); в – правый плечевой сустав, по верхнему контуру головки плечевой кости виден дефект и отечная зона вокруг него; г – левая кисть; д – левое предплечье (видны отечно-кистозные изменения вдоль сухожилий разгибателей кисти); е – левый локтевой сустав (в структуре локтевого отростка – отечный очаг); ж – левый плечевой сустав (мелкий отечный очаг в своде сустава)

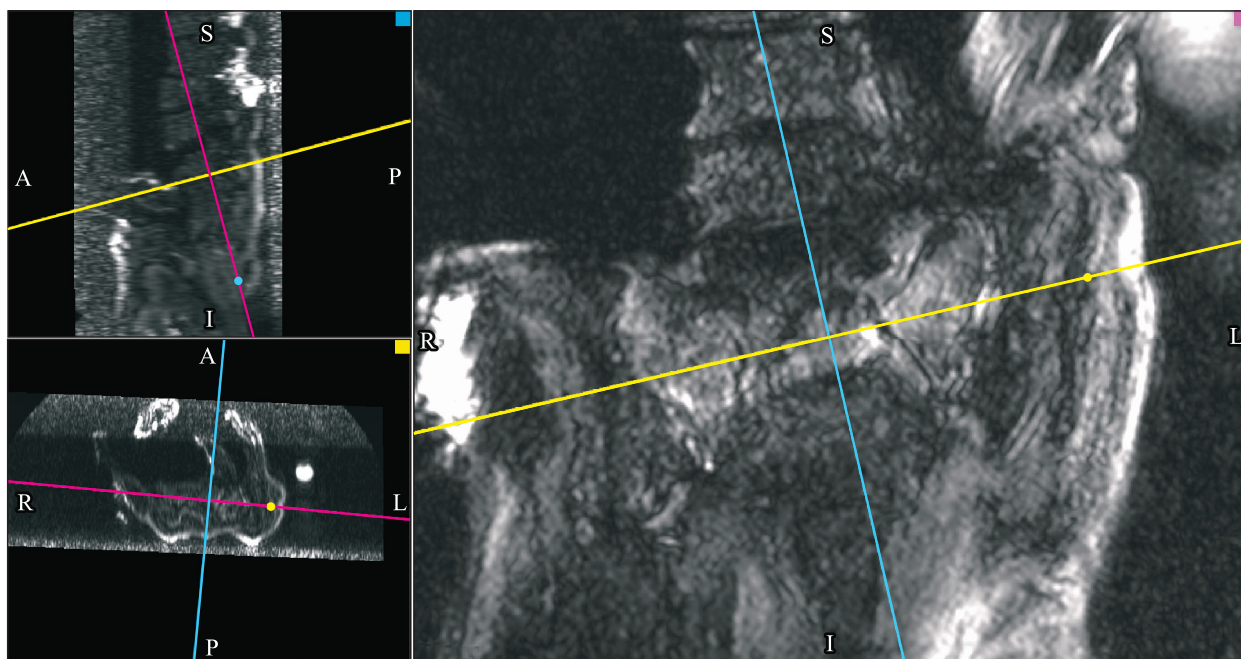


Рис. 3. Крестцово-подвздошные сочленения с элементами окостенения сочленений и с закрытием суставной щели

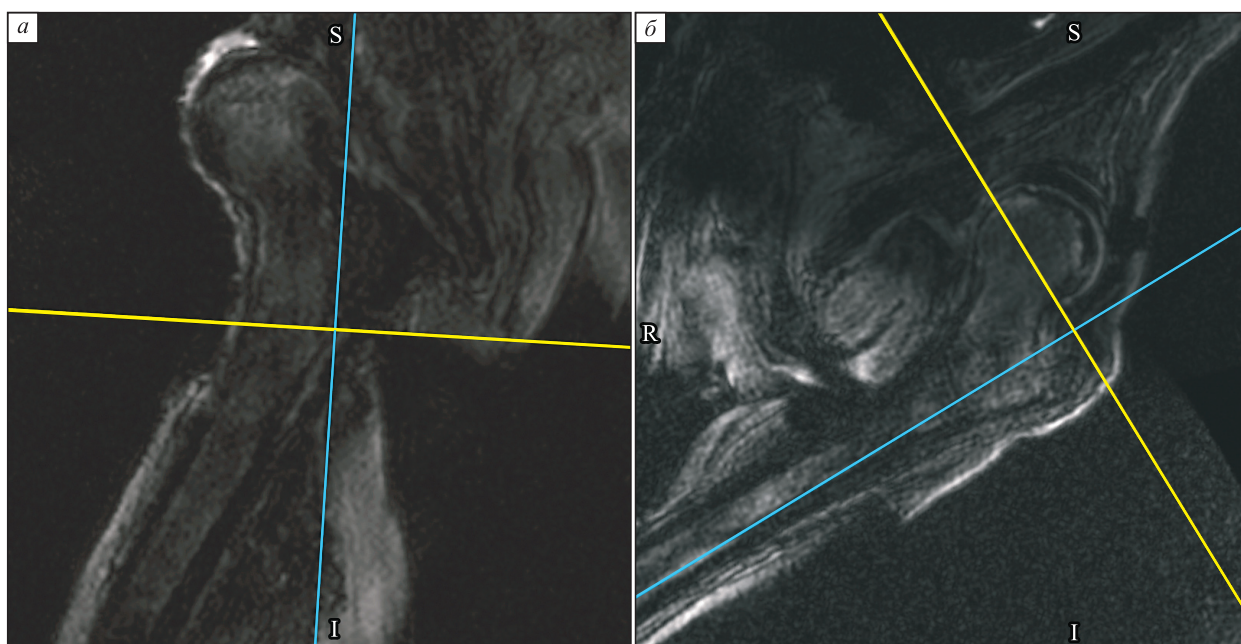


Рис. 4. Тазобедренные суставы: а – правый, травматический вывих; б – левый, отечно-дегенеративные субхондральные изменения

В левом тазобедренном суставе – субхондральные диффузные отечно-эрозивные изменения суставного хряща головки бедренной кости глубиной до 2–4 мм и локальная отечность до 2 × 4 мм по верхнему контуру прикрепления хрящевой губы гленоидальной впадины, что указывает на остеоартритические изменения (рис. 4, б). Угол шейки к телу левой бедренной кости 129,2°, а в

правой бедренной кости – 129,1° (у современного человека – до 130°).

Длина бедренных костей 427–429 мм. В метаэпифизарной зоне и в дистальной части диафизарной полости правой бедренной кости – серийные отечные очаги общим размером 13 × 15 × 85 мм. В патоморфологическом плане эти изменения, так же как и в левой бедренной

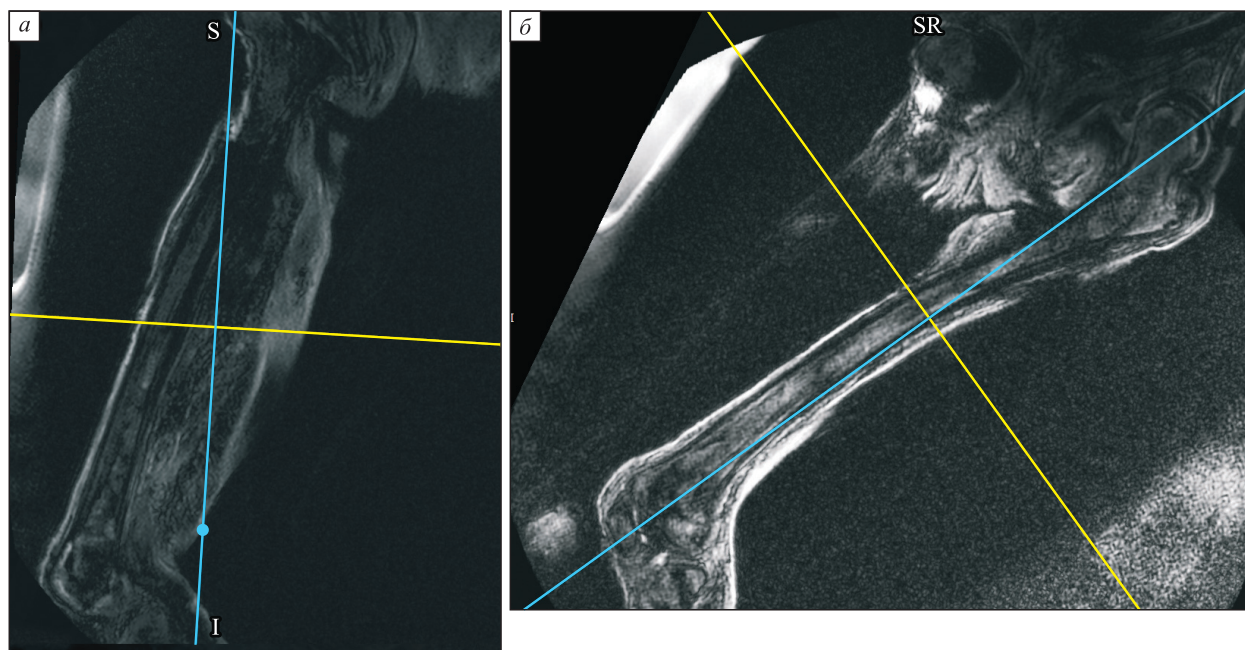


Рис. 5. Отечно-склеротические очаги в дистальных частях диафизарных полостей правого (а) и левого (б) бедер

кости, можно оценить как остеомиелитические изменения в остро-подострой фазе (рис. 5, а). В дистальной части диафизарной полости левой бедренной кости – отечно-склеротические очаги общим размером $19 \times 16 \times 76$ мм. В патоморфологическом плане эти изменения более всего соответствуют остеосклеротическим последствиям остеомиелитического процесса в подостро-хронической фазе (рис. 5, б).

В правом коленном суставе – выраженные отечные изменения до 15–25 мм по передней поверхности дистального эпифиза правой бедренной кости в области контакта с надколенником, накопление свободной жидкости и реактивных изменений слизистой оболочки в препателлярной сумке и в латеральной части полости сустава – в проекции переднего рога латерального мениска, что укладывается в состояние артрита (синовита и гипертрофии слизистой оболочки). Передняя крестообразная связка правого коленного сустава деформирована и утолщена, но ее форм-фактор сохранен (рис. 6, а). В левом коленном суставе признаки субхондрального склерозирования и отечные очаги диаметром от 4 до 13 мм в проксимальном эпифизе левой большеберцовой кости – в обеих мыщелках, больше – в латеральном; умеренный микровыпот в ретропателлярном пространстве и в проекции переднего рога латерального мениска; передняя крестообразная связка достаточно сохранна (рис. 6, б). Это укладывается в МР-картину дегенеративно-дистрофических изменений с низкоэнергетическими отеками по типу остеоартрита.

Кости правой голени: диафизы большеберцовой и малоберцовой костей выглядят сохранными, без явных очагов, с сохранными контурами. Имеются мелкие отечно-склеротические изменения в головке правой малоберцовой кости и субхондральные изменения по дистальному мыщелку большеберцовой кости – по задне-латеральному контуру (рис. 7, а). Кости левой голени: очаги отека губчатого вещества в латеральной лодыжке левой малоберцовой кости до $15 \times 25 \times 10$ мм и в дистальном эпифизе (в медиальной лодыжке) левой большеберцовой кости до $12 \times 15 \times 10$ мм, а также по заднему углу дистального края большеберцовой кости (рис. 7, б).

Длина правой стопы 213 мм, левой – 217 мм; ширина стоп на уровне плюсно-фаланговых сочленений – до 68 мм. В костях правой стопы очаги с отечной периферией и с пониженным МР-сигналом от центральных зон в правой кубовидной кости, в I плюсневой кости, в проксимальной фаланге I пальца, как проявления, вероятно, онкологического метастатического процесса [14], возможно – в сочетании с дегенеративными изменениями по типу остеоартрита с низкоэнергетическими отеками. Имеются признаки нарушения контуров lig. bifurcatum и отечная зона в месте прикрепления ахиллова сухожилия к пяточной кости, последнее может трактоваться как один из вариантов энтезопатии – ахиллобурсита (рис. 8, а). В костях левой стопы – очаги с отечной периферией и с МР-плотными (темными) центральными зонами, интерпретированные

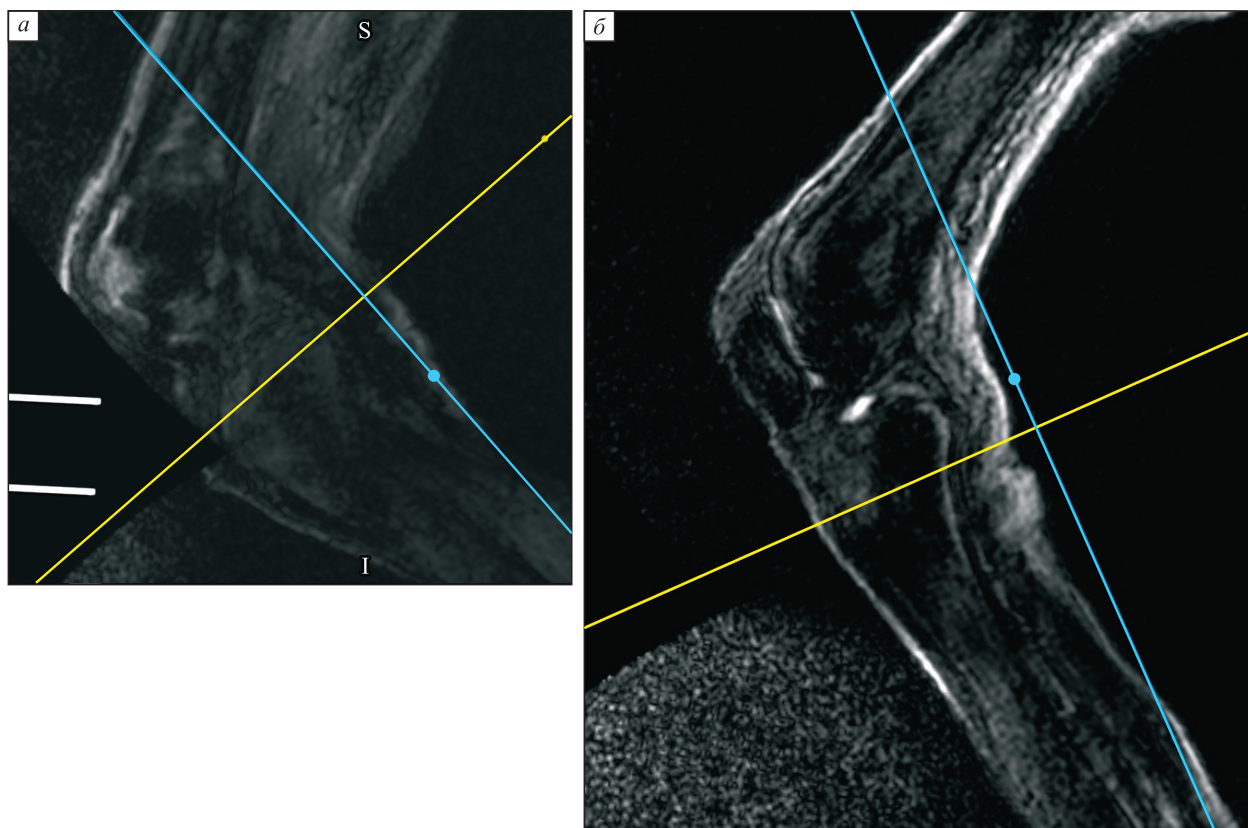


Рис. 6. Коленные суставы: а – правый, передняя крестообразная связка деформирована, утолщена, но ее форм-фактор сохранен, артрит – синовит и гипертрофия слизистой оболочки (к сожалению, правый надколенник не визуализирован, его ткани не попали в поле зрения); б – левый, достаточно сохранная передняя крестообразная связка, микровыпот в сустав, дегенеративно-дистрофические изменения с низкоэнергетическими отеками по типу остеоартрита

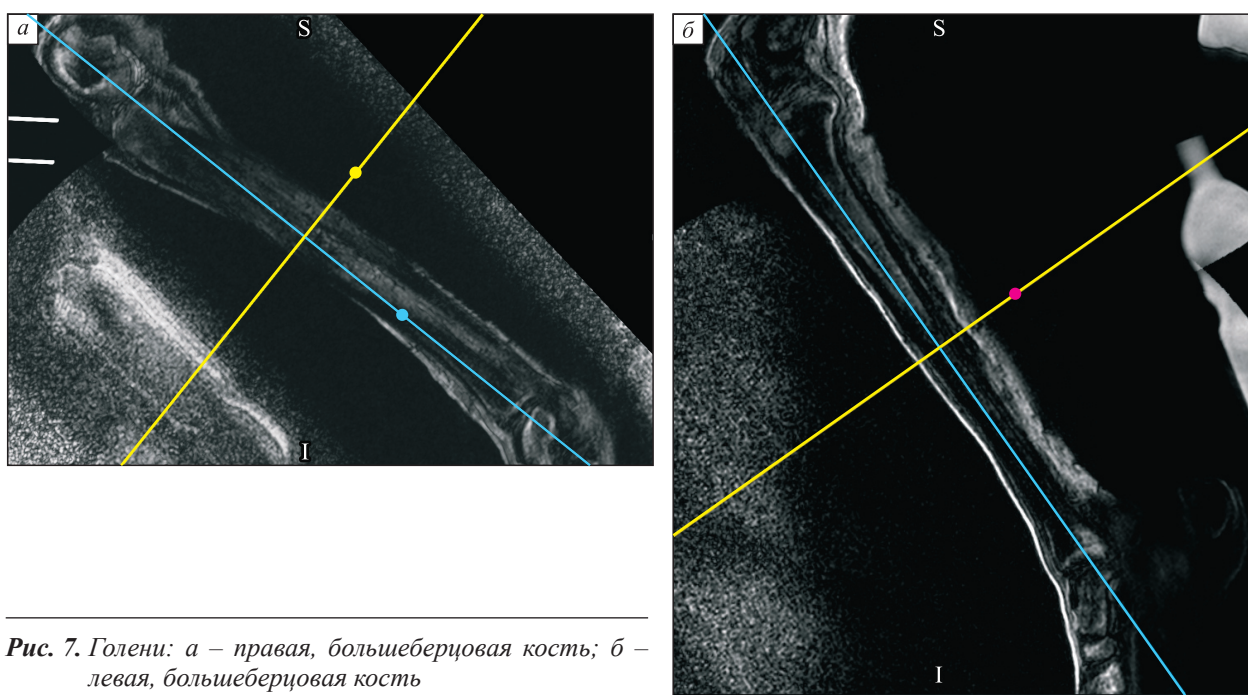


Рис. 7. Голени: а – правая, большеберцовая кость; б – левая, большеберцовая кость

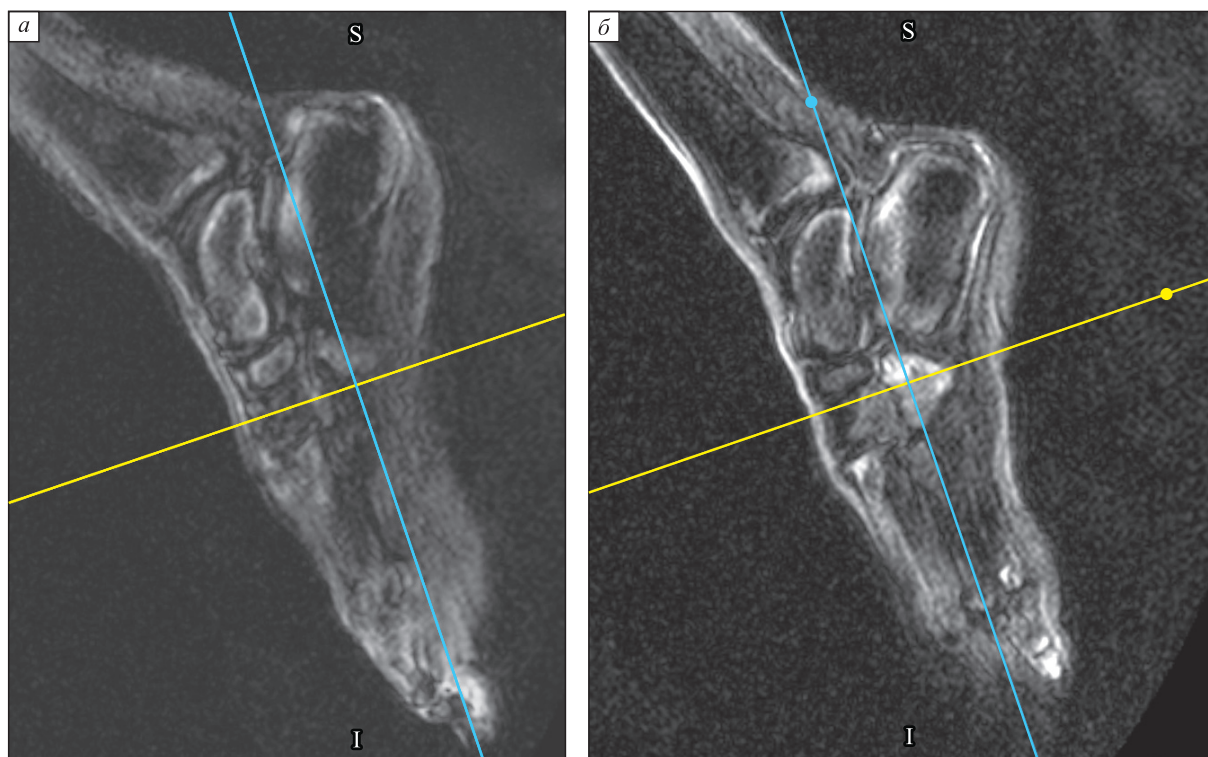


Рис. 8. Стопы: а – правая, очаги метастатического генеза, нарушение контуров lig. bifurcatum и ахиллобурсит; б – левая, очаги метастатического генеза

нами ранее как проявления онкологического метастатического процесса [14], вероятно – в сочетании с дегенеративными изменениями по типу остеоартрита с низкоэнергетическими отеками (рис. 8, б).

ОБСУЖДЕНИЕ

Таким образом, данные, полученные при высокопольной МР-томографии, позволяют объединить палеорадиологические (палеопатологические) находки в тканях суставов и конечностей мумии женщины из могильника Ак-Алаха-3 урочища Укок в четыре группы.

Группа 1 – очаги онкогенного происхождения (метастазы опухоли) в губчатых костных структурах с диффузно пониженным МР-сигналом, с «плотным» центром и «яркой» периферической отечностью – в кубовидной, таранной, пяточной, в плюсневых костях и в проксимальной фаланге I пальца левой стопы, в левой латеральной лодыжке и в дистальном диафизе левой большеберцовой кости; в кубовидной, I плюсневой кости и в проксимальной фаланге I пальца правой стопы. Источником метастазов можно считать правую молочную железу мумии [14].

Группа 2 – остеомиелитические очаги в дистальных частях диафизарной полости обеих бедренных костей: отечно-склеротические, с более

выраженным отеком в правой бедренной кости и с более выраженными склеротическими изменениями в левой бедренной кости. Ситуация радиологически и патоморфологически напоминает остеомиелитические очаги в подостро-хронической фазе (слева), и в остро-подострой фазе (справа), что предположительно может указывать на наличие сепсиса (остеомиелита).

Группа 3 – симптомокомплекс, объединяющий признаки двухстороннего сакроилиита, МР-признаков хронического синовита (артрита) правого коленного сустава и правостороннего ахиллобурсита, который является патогномоничным для группы спондилоартритов. Учитывая МР-признаки двухстороннего сакроилиита высоких градаций и относительно молодой возраст объекта, можно предположить, что женщина страдала анкилозирующим спондилитом. В литературе имеется аналогичный случай сочетания воспалительно-инфекционной и дегенеративной патологий, обнаруженных в костной системе палеоантропологического объекта [8].

Помимо этого имеются проявления нелетальных прижизненных воздействий в виде дистрофических последствий микротравматических (стрессорных) изменений в костных структурах суставов, при принятии факта, что прижизненно исследуемый объект подвергался физическим воздействиям при подъеме тяжестей, верховой

езде, при падениях и ударах. Признаки остеоартрита в сочетании с микротравматическими изменениями были выявлены практически во всех крупных суставах (неоднородность сигнала в субхондральной зоне плечевых, тазобедренных и коленных суставов) и в суставах стоп.

Обнаруженный вывих правого тазобедренного сустава в сочетании с травматической деформацией головки правой плечевой кости, деформацией передней крестообразной связки правого коленного сустава и *lig. bifurcatum* правой стопы позволяют предположить наличие значительной прижизненной травмы локомоторного характера – падение с высоты или при движении с высокой скоростью (например, падение при верховой езде); все перечисленные изменения – преимущественно с правой стороны и с судебно-медицинской точки зрения их можно отнести к травмам средней степени тяжести.

Полученные данные подтверждают проявления жесткой функциональной нагрузки и действие неблагоприятных факторов травматического генеза на костный скелет и суставной аппарат конечностей, тем более что аналогичные проявления обнаружены и у антропоархеологического объекта Человек изо льда [12]. Ориентируясь на литературные данные и современные медицинские критерии, мы дифференцировали прижизненные (патологические) и посмертные (за счет особенностей после кончины) изменения, поскольку мумия была найдена в идеальном состоянии в ледяной «линзе», заполнившей объем погребальной камеры. При этом возможности высокопольной МРТ для изучения антропоархеологических объектов в археологии и палеоантропологии вполне оправданы и плодотворны с позиций посмертного МРТ-анализа. Методы постобработки являются незаменимым инструментом виртуальной аутопсии в многопрофильном исследовании мумий. Корреляции между обычной и виртуальной аутопсиями дают основание утверждать, что эти два метода дополняют друг друга как в отношении «диагнозов», так и в отношении антропологических данных. Это позволяет выполнять убедительные биоархеологические реконструкции, получать важную информацию о распространении заболеваний и образе жизни людей в античные времена и помогает пониманию, что болезнь «преследует» людей в течение многих тысячелетий – от древних до современных популяций.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при финансовой поддержке ФАНО России (темы 0324-2018-0003 и 0333-2017-0003) и РФФИ (проект № 14-50-00036). Благодарности администрации и коллективу лаборатории медицинской диагностики Международного томографического центра СО РАН, и лаборатории научно-клинической МРТ НИИ физиологии и фундаментальной медицины.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Быков В.А., Ромаков Ю.А., Ребров Л.Б., Козельцев В.Л., Коржова Л.П., Реброва Г.А., Дубинская В.А., Володина Т.В., Кузнецова Н.В., Стрелкова Л.Б., Фролова Е.В. Глава 4.2. Химическое и биохимическое исследование тканей мумий // Феномен алтайских мумий / ред. А.П. Деревянко, В.И. Молодин. Новосибирск: Изд-во Института археологии и этнографии СО РАН, 2000. 200–207.
2. Воевода М.И., Ситникова В.В., Ромашенко А.Г. Глава 4.7. Расово- и этноспецифические особенности мтРНК представителей пазырыкской культуры // Феномен алтайских мумий / ред. А.П. Деревянко, В.И. Молодин. Новосибирск: Изд-во Института археологии и этнографии СО РАН, 2000. 224–230.
3. Полосьяк Н.В. Глава 2.2. Погребальный комплекс Ак-Алаха-3 // Феномен алтайских мумий / ред. А.П. Деревянко, В.И. Молодин. Новосибирск: Изд-во Института археологии и этнографии СО РАН, 2000. 57–86.
4. Хаури Р., Блаттер У. Глава 4.8. Патолого-анатомические исследования женской мумии памятника Ак-Алаха-3 // Феномен алтайских мумий / ред. А.П. Деревянко, В.И. Молодин. Новосибирск: Изд-во Института археологии и этнографии СО РАН, 2000. 231–232.
5. Чикишева Т.А. Глава 1.3. Антропология носителей пазырыкской культуры // Феномен алтайских мумий / ред. А.П. Деревянко, В.И. Молодин. Новосибирск: Изд-во Института археологии и этнографии СО РАН, 2000. 35–49.
6. Capasso L. 5300 years ago, the Ice Man used natural laxatives and antibiotics // *Lancet*. 1998. 352. 1864.
7. Ciranni R., Garbini F., Neri E., Melai L., Giusti L., Fornaciari G. The «Braids Lady» of Arezzo: A case of rheumatoid arthritis in a 16th century mummy // *Clin. Exp. Rheumatol*. 2002. 20. (6). 745–752.
8. Dedouit F., Getraut A., Baranov V., Ludes B., Rouger D., Telmon N., Cruberzy E. Virtual and macroscopical studies of mummies – Differences or complementarity? Report of a natural frozen Siberian mummy // *Forensic Sci. Int*. 2010. 200. (1-3). 7–13.
9. Hughes S. CT scanning in archaeology // *Computed Tomography – Special Applications* / Ed. L. Saba. InTech Europe, 2011. 57–70.

10. Jackowski Ch. Postmortem MRI-current applications and future developments // Int. J. Legal Med. 2012. 126. (Suppl. 1). 5–21.
11. Jackowski Ch., Grabherr S., Schwendener N. Pulmonary thrombembolism as cause of death on unenhanced postmortem 3T MRI // Eur. Radiol. 2013. 23. 1266–1270.
12. Kean W.F., Tocchio S., Kean M., Rainsford K.D. The musculoskeletal abnormalities of the Similaun Iceman («Ötzi»): clues to chronic pain and possible treatments // Inflammopharmacology. 2013. 21. 11–20.
13. Kothari A., Ponce P., Arriaza B., O'connor L. Osteochondritis dissecans of the knee in a mummy from Northern Chile // Knee. 2009. 16. 159–160.
14. Letyagin A.Y., Savelov A.A., Polosmak N.V. High field magnetic resonance imaging of a mummy from Ak-Alakha-3 mound 1, Ukok Plateau, Gorny Altai: Findings and interpretations // Archaeol. Ethnol. Anthropol. Eurasia. 2014. 42. (4). 83–91.
15. Lynnerup N. Medical Imaging of Mummies and Bog Bodies – A Mini-Review // Gerontology. 2010. 56. 441–448.
16. McLain R.F. The nature of joint disease in early man // Iowa Orthop. J. 1991. 11. 94–100.
17. Ribeiro M.M., Martins H., Carreiras M., Pais D., O'Neill J. Brain anatomy characterization through post-mortem structural MR imaging // Surg. Radiol. Anat. 2013. 35. 659.
18. Scherf H. Computed tomography in paleo-anthropology – an overview // Archaeol. Anthropol. Sci. 2013. 5. 205–214.

HIGH FIELD MRI OF JOINTS AND LIMBS' TISSUES OF THE WOMAN'S MUMMY FROM BURIAL AK-ALAKHA-3 ON THE UKOK PLATEAU

Andrey Yurievich LETYAGIN^{1,3}, Nataliya Viktorovna POLOS'MAK²,
Andrey Aleksandrovich SAVELOV³, Maxim Alexandrovich KOROLEV¹,
Elena Alekseevna LETYAGINA¹

¹ Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology –
a Branch of Federal Research Center of the Institute of Cytology and Genetics of SB RAS
630060, Novosibirsk, Timakov str., 2

² Institute of Archeology and Ethnography of SB RAS
630090, Novosibirsk, Academician Lavrentiev av., 17

³ Institute «International Tomographic Center» of SB RAS
630090, Novosibirsk, Institutskaya str., 3a

The goal is to perform a paleoradiologic MRI study of the tissues of the musculoskeletal system of the mummy of a woman from the Pazyryk culture from the Ak-Alakh-3 burial ground on the Ukok Plateau, in which previously had been found tumor metastases (from the right breast) and the consequences of a severe trauma – a dislocation of the right hip and damage to the right brachial joints. The **method** is a high-field MRI on the magnetic resonance scanner (Achieva Nova, Philips, 1.5 T). **Results.** The manifestations of osteomyelitis of the femurs bones were revealed in the tissues of the musculoskeletal apparatus of the mummy. The signs of damage to the anterior cruciate ligament of the right knee joint and lig. bifurcatum of the right foot were revealed, which indicates the effect of unfavorable factors of traumatic genesis. There were also signs of an inflammatory process, spondyloarthritis and osteoarthritis (probably autoimmune genesis): a pronounced narrowing of both sacroiliac joints, zones of inflammatory edema of bone tissue in the projection of the left sacroiliac joint, joints of the foot, involvement of the periarticular soft tissues-achillobursitis.

Key words: mummy, magnetic resonance imaging, joints, musculoskeletal system.

Letyagin A.Yu. – doctor of medical sciences, professor, head of research institute, e-mail: letyagin-andrey@yandex.ru
Polos'mak N.V. – doctor of historical sciences, corresponding member of RAS, chief researcher, e-mail: polosmaknatalia@gmail.com

Savelov A.A. – candidate of physical and mathematical sciences, senior researcher, e-mail: as@tomo.nsc.ru

Korolev M.A. – candidate of medical sciences, deputy director for scientific and clinical work, head of the laboratory of connective tissue pathology, e-mail: kormax@bk.ru

Letyagina E.A. – candidate of medical sciences, head of rheumatology division, e-mail: elena_letyagina@list.ru

НАПРАВЛЕННОЕ ПЕРЕПРОГРАММИРОВАНИЕ СОМАТИЧЕСКИХ КЛЕТОК: ПРЕИМУЩЕСТВА И НЕДОСТАТКИ ИНДУЦИРОВАННЫХ ПЛЮРИПОТЕНТНЫХ СТЕЛОВЫХ КЛЕТОК (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Анастасия Викторовна КОРЕЛЬ, Сергей Борисович КУЗНЕЦОВ

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

Стволовые клетки разделяют на эмбриональные и стволовые клетки взрослого организма. Актуальность использования стволовых клеток в клинической практике в последние годы получает новые подтверждения, однако способы получения эмбриональных стволовых клеток для медицинских целей вызывают этическое неприятие. Альтернативой стволовым клеткам служат индуцированные плюрипотентные клетки, мультипотенциальные и сравнимые по свойствам с эмбриональными стволовыми клетками, но с дополнительными преимуществами: их получение позволяет исключить многие этические проблемы, связанные с использованием эмбрионального материала, их применение снижает риск иммунного отторжения. Возможность перепрограммирования соматических клеток в плюрипотентные стволовые клетки открывает огромные перспективы для регенеративной медицины. Применение метода направленного перепрограммирования позволяет получать из индуцированных стволовых клеток пациента практически любые типы клеток для аутологичной клеточной терапии. Индуцированные плюрипотентные стволовые клетки также могут использоваться для моделирования заболеваний человека и скрининга лекарственных средств. Тем не менее существует еще ряд препятствий, которые необходимо преодолеть, прежде чем использование индуцированных плюрипотентных стволовых клеток войдет в повседневную практику. В настоящем обзоре рассматриваются история создания индуцированных плюрипотентных стволовых клеток и последние достижения в области перепрограммирования соматических клеток, а также проблемы, которые необходимо преодолеть, чтобы применять эту стратегию в клинической практике.

Ключевые слова: индуцированные плюрипотентные стволовые клетки, дифференцировка, соматические и эмбриональные стволовые клетки.

Стволовые клетки представляют собой особое подмножество клеток в организме, самообновляющихся и поддерживающихся в недифференцированном состоянии и способных превращаться в различные типы клеток [10]. По способности к самовоспроизведению и пластичности стволовые клетки можно разделить на две основные категории, а именно: эмбриональные стволовые клетки (ЭСК) и неэмбриональные стволовые клетки взрослого организма. Самовоспроизведение является способностью клеток претерпевать неограниченное число делений при сохранении недифференцированного состояния, а пластичность описывается как способность клеток одного ствола дифференцироваться в различные клеточные типы. ЭСК, обладающие тотипотентностью, получают из эмбрионов на ранних стадиях развития. Они могут бесконечно долго делиться в определенных условиях с сохранением

недифференцированного состояния (самообновляться) и дифференцироваться в клетки тканей всех зародышевых листков, а также в клетки тканей околоплодных оболочек или клетки плаценты [24]. В течение нескольких дней после оплодотворения эти тотипотентные клетки созревают и образуют более специализированные клетки, называемые плюрипотентными, последние на стадии бластоцисты могут дифференцироваться во все типы клеток, кроме клеток внезародышевых органов (плаценты и желточного мешка) [8, 27].

Тканеспецифичные стволовые клетки взрослого организма являются недифференцированными клетками, находящимися в постнатальных тканях. Эти специализированные клетки считаются мультипотентными, у них ограниченные возможности к самовоспроизведению и тканеспецифической дифференцировке [8]. Эти мульт-

Корель А.В. – к.б.н., старший научный сотрудник лабораторно-экспериментального отдела,
e-mail: akorel@niito.ru

Кузнецов С.Б. – к.б.н., старший научный сотрудник лабораторно-экспериментального отдела,
e-mail: sergei_kuznetsov@yahoo.com

типотентные стволовые клетки являются источником новых клеток в тканях их локализации и отличаются друг от друга степенью своей полноты. Особенностью стволовых клеток взрослого организма является их «пластичность»: будучи клетками одной ткани, они могут дифференцироваться в клетки другой ткани в зависимости от условий, определяющих их рост и дифференцировку. Стволовые клетки взрослого организма могут быть выделены из различных источников, и часто называются по ткани их происхождения: стволовые клетки костного мозга, полученные из жировой ткани стволовые клетки, гемопоэтические стволовые клетки [4, 25, 38].

ЭСК мышей были первым типом плюрипотентных клеток, выделенных на ранних эмбриональных стадиях. В 1981 г. Эванс и Кауфман [10] и Мартин [23], независимо друг от друга, описали успешное введение в культуру клеток, полученных из внутренней клеточной массы бластоцисты мыши. В 1998 г. Томсон и его коллеги выделили ЭСК из бластоцисты человеческих эмбрионов, полученных методом экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) для клинических целей [43]. Таким способом были созданы первые культивируемые линии ЭСК человека. Томсон предложил три критерия, которые определяли бы ЭСК приматов: (I) выделение из преимплантационного или пери-имплантационного эмбриона; (II) продолжительная пролиферация клеток в недифференцированном состоянии, (III) стабильное развитие в нормальный эмбрион с образованием производных всех трех зародышевых листков, даже после длительного культивирования клеток *in vitro* [43]. Однако способ получения этих клеток оказался существенным препятствием в развитии технологий ЭСК. Общественные и религиозные организации сочли не этичным использовать человеческие эмбрионы в качестве источника получения стволовых клеток, хотя не возражали против уничтожения лишних эмбрионов после ЭКО. Тем не менее во многих странах были приняты законы, запрещающие использование ЭСК даже в исследовательских целях.

Перепрограммированные (индуцированные) соматические клетки (ИПСК) также демонстрируют способность к самовозобновлению и дифференцировке в клетке тканей всех трех зародышевых листков в условиях *in vivo* и *in vitro*. Таким образом, ИПСК также считаются плюрипотентными стволовыми клетками; через сложные механизмы управления они ответственны за рост, репарацию и функционирование тканей. Плюрипотентность и высокие регенеративные свойства делают их подходящими для клеточной терапии, тестирования лекарств и моделирования заболе-

ваний. Тем не менее развитие технологий в области ЭСК ограничено этическими проблемами, такими как источники их получения и методы выделения.

Поиски методов перепрограммирования соматических клеток в мульти- или плюрипотентные клетки велись давно, когда стало понятно, что гены, отвечающие за свойства ЭСК, присутствуют во всех соматических клетках организма, но находятся в неактивном состоянии. Понимание этого и появление методов воздействия на гены внутри живой клетки привели к идее «выявить» гены, необходимые и достаточные для поддержания клетки в плюрипотентном состоянии. Целью таких исследований было выяснить, возможно ли дифференцированную соматическую клетку вернуть в недифференцированное состояние, заставив те «спящие» гены снова работать? Открытия в областях молекулярной и клеточной биологии за последние два десятилетия привели к разработке способа получения ИПСК методом перепрограммирования генома дифференцированных клеток [5]. Последующие исследования подтвердили способность ИПСК к самовозобновлению и дифференцировке во многие типы клеток как в *in vitro*, так и в *in vivo* условиях. И такие клетки позволят обойти множество этических проблем и моральных конфликтов, связанных с использованием ЭСК в клинической практике [39]. Действительно, использование ИПСК в регенеративной медицине является перспективным для преодоления этических проблем, связанных с использованием ЭСК, и обеспечивает потенциально неограниченный источник клеток для регенераторной медицины.

ИПСК. Плюрипотентность может быть восстановлена в терминально-дифференцированных клетках даже на поздних стадиях онтогенеза различными методами. В 1958 г. Гурдон с соавторами [14] с помощью техники ядерной трансплантации, первоначально описанной Бригс и Кинг [3], показали, что ядра клеток эпителия кишечника головастика после пересадки в энуклеированные икринки лягушки могут начать делиться как зигота и развиваться в нормальных и здоровых головастиках, демонстрируя тем самым успешное перепрограммирование диплоидного ядра соматической клетки. Это была первая попытка замены ядра яйцеклетки, в которой присутствуют побуждающие/или поддерживающие плюрипотентность ключевые факторы, ядром соматической клетки. После развития такой яйцеклетки до ранней эмбриональной стадии можно было получить ЭСК и ввести их в культуру. Данный эксперимент лег в основу будущих открытий в геномном перепрограммировании, а

также технологии клонирования многоклеточных организмов.

В 2006 г. Яманака и Такахаши [39] продемонстрировали метод перепрограммирования генома соматической клетки и приведение его в плюрипотентное состояние с помощью эктопической экспрессии четырех генов: *Oct4* (Octamer-Binding Transcription Factor 4), *Sox2* (Sex Determining Region Y box 2), *Klf4* (Kruppel-like factor 4) и *c-Myc* (Avian Myelocytomatosis Viral Oncogene Homolog). Для трансфекции этих генов в ядра соматических клеток был использован ретровирусный вектор, а четыре гена стали известны как «факторы Яманаки», или «факторы OSKM» («Yamanaka factors», или «OSKM factors»). В отличие от перепрограммирования генома с помощью ядерного переноса, плюрипотентные стволовые клетки с OSKM можно было получать непосредственно из дифференцированных соматических клеток, и этот метод описан как «прямое» перепрограммирование. В 2012 г. Яманака получил Нобелевскую премию за открытие ИПСК и призвал ученых отказываться от использования ЭСК для решения задач регенеративной медицины. Эти искусственно полученные плюрипотентные клетки обладают молекулярными и функциональными характеристиками, аналогичными характеристикам ЭСК, но их использование не противоречит этическим нормам. Кроме того, ИПСК потенциально могут обеспечить получение неограниченного количества аутологичных клеток для клеточной терапии, моделирования заболеваний человека, выявления новых терапевтических линий и тестирования новых методов лечения. Ниже приводятся методы и стратегии перепрограммирования.

Техники перепрограммирования. В организмах млекопитающих, в том числе человека, большое разнообразие тканей и типов соматических клеток с терминальной дифференцировкой, например: фибробласты, клетки крови, кератиноциты, гепатоциты, клетки желудочно-кишечного тракта и другие. Кроме клеток нормальных тканей существуют клетки новообразований (опухолей), и все типы клеток потенциально могут быть использованы для получения ИПСК [13, 19, 21, 29, 37, 41, 49]. В настоящее время существует ряд подходов для перепрограммирования соматических клеток, но только некоторые из них эффективны.

Интегративные методы. Первые линии индуцированных плюрипотентных клеток были получены методом трансдукции факторов OSKM с помощью ретровирусного вектора в мышинные фибробласты [39]. Суть метода состоит в том, что гены, кодирующие факторы OSKM, были интегрированы в геном модифицированного ре-

тровируса, и этим вирусом «заражались» фибробласты. Геном вируса встраивался в геном фибробластов, и гены факторов OSKM начинали экспрессироваться в клетках. Запускался каскад биохимических реакций, которые превращали клетку с нулевой потенцией в индуцированную плюрипотентную клетку. И это превращение было подтверждено строгим скринингом 24 факторов, связанных с плюрипотентностью. Ретровирусная трансдукция для получения ИПСК была успешно использована для нескольких типов клеток мыши и человека: фибробласты, нервные стволовые клетки, кератиноциты, адипоциты, гепатоциты и клетки крови. Эффективность перепрограммирования клеток человека составляет от 0,01 до 0,02 % [40]. Альтернативным подходом к трансдукции факторов OSKM для получения ИПСК является использование системы лентивирусов. Этот метод дает более высокую эффективность (0,1–2 %), чем ретровирусная трансдукция, его недостатком является интеграция вирусного генома в геном клетки хозяина, что может приводить к злокачественной трансформации [28].

Неинтегративные методы на основе ДНК. Как показано ранее, одним из основных недостатков стратегий перепрограммирования является интеграция вирусных векторов, используемых для переноса факторов перепрограммирования в геном соматической клетки. Генная конструкция на основе вирусного вектора может встраиваться в геном клетки в любом его месте и нарушать работу каких-то генов, что может привести к нестабильности генома и вызывать злокачественную трансформацию клетки [7]. Например, исследования на мышах показали, что у химерных животных, полученных с участием ИПСК, часто развиваются опухоли в результате реактивации онкогена *c-Myc* [22, 30]. Хотя прямое перепрограммирование было достигнуто и без участия гена *c-Myc*, три оставшихся интегральных фактора перепрограммирования также могут вызывать опухоли [7, 45]. Таким образом, чтобы использовать ИПСК для лечения человека, их перепрограммирование должно быть осуществлено с использованием неинтегрирующих стратегий. В связи с этим разработано несколько неинтегрирующих вирус-опосредованных методов перепрограммирования ИПСК. Наиболее привлекательным оказался метод использования дефектных по репликации аденовирусных векторов, экспрессирующих факторы OSKM, но не встраивающихся в хромосомную ДНК [15]. Несмотря на то, что они не интегрируются в геном клетки, экспрессия генов, которые они привносят, может длиться в течение нескольких дней, обеспечивая достаточное количество времени

для запуска процесса перепрограммирования соматических клеток в плюрипотентное состояние. Этот способ в основном используется для создания ИПСК из клеток печени и фибробластов [31, 48]. Такие аденовирусные векторы имеют более низкую эффективность трансдукции по сравнению с ретровирусными аналогами [31], поэтому необходима дальнейшая оптимизация эффективности протоколов перепрограммирования.

Метод получения ИПСК из стромальных клеток жировой ткани человека при использовании невирусных векторов, содержащих миникольцевую ДНК с кассетой генов *Lin28*, *Nanog*, *Sox2*, *Oct4* и *GFP* (зеленый флуоресцентный белок), имел эффективность трансдукции около 0,005 % [17]. Другим неинтегративным способом перепрограммирования соматических клеток в ИПСК является использование эписомальных плазмид [6, 26], которые применяются для получения ИПСК из пуповинной крови и клеток периферической крови [32]. В этом методе используются специально сконструированные плазмиды, содержащие элементы, например EBNA1/OriP, позволяющие экспрессию привнесенных генов без встраивания в геном клетки, а также размножение плазмиды и передачу ее дочерним клеткам при делении. Для трансфекции может одновременно использоваться несколько плазмид, содержащих отдельные гены OSKM, либо одна плаزمида со всем набором генов.

Неинтегративные методы без использования ДНК. Одноцепочечная РНК вируса Сендай (SV) является привлекательной альтернативой плазмидам на основе ДНК для получения индуцированных стволовых клеток, поскольку геномный материал не проникает в ядро клетки-хозяина, не встраивается в геном хозяина и может быть легко удален методом негативной селекции антителами. Фузаки и соавторы [12] сообщили об эффективной индукции фибробластов человека в ИПСК с помощью конструкции на основе РНК генома вируса Сендай. Вирус Сендай является одним из наиболее подходящих кандидатов для подобных процедур, так как эффективность получения ИПСК составляет около 0,1 %, что сравнимо с использованием лентивирусных конструкций, но при этом отсутствует интеграция в геном клетки.

Другой способ избежать введения чужеродного генетического материала в геном перепрограммируемых клеток состоит в использовании микроРНК (микроРНК-трансфекция) [36]. МикроРНК представляют собой один из ключевых регуляторов экспрессии генов при установлении и поддержании уникальных клеточных типов. Было определено, что несколько классов микроРНК высокоспецифично экспрессируются

в ЭСК и регулируются основными факторами транскрипции Oct4, Sox2 и Klf4. Одним из таких классов микроРНК является кластер mir-302/367, которыми обогащены плюрипотентные клетки *in vivo* и *in vitro*. Использование для перепрограммирования mir-302/367, либо самостоятельно, либо в сочетании с факторами Яманаки (Oct4, Sox2, c-Мус и Klf4), привело к созданию индуцированных плюрипотентных стволовых клеток при высокой эффективности трансфекции. Такой способ получения плюрипотентных стволовых клеток представляет собой безопасный и эффективный метод для создания ИПСК с «нулевым следом». Кроме того, этот метод соматического перепрограммирования клеток с использованием синтетических микроРНК обеспечивает пониженную иммуногенную реакцию. Известно, что цитозольная доставка микроРНК в клетки млекопитающих может быть достигнута путем электропорации или путем комплексообразования РНК с катионным носителем для облегчения поглощения эндоцитозом [1, 9, 16]. Уоррен с соавторами [44] сосредоточились на последнем подходе, полагая, что это позволит повторять трансфекцию для поддержания экспрессии эктопического белка в течение дней и недель, необходимых для перепрограммирования клеток. Они модифицировали РНК, заменив некоторые нуклеотиды на их аналоги, что увеличило время полураспада РНК, и добились высокой эффективности трансфекции. Ежедневная трансфекция модифицированной РНК обеспечивала устойчивую экспрессию белков без существенного ухудшения жизнеспособности культуры клеток при умеренном уменьшении кинетики роста, которая во многом была связана с трансфекционным реагентом.

Очищенные OSKM-белки представляют собой еще один привлекательный «не-ДНК» метод перепрограммирования. Зои с соавторами [50] продемонстрировали возможность получения стабильных ИПСК из фибробластов человека путем прямой доставки четырех белков факторов перепрограммирования (OSKM) с эффективностью 0,001 %. Линии ИПСК человека, полученные при помощи этих рекомбинантных белков, успешно существовали более 35 пассажей и дифференцировались в производные всех трех зародышевых листков как в лабораторных, так и в естественных условиях. В своем обзоре Ли с коллегами [20] показали, что одной из основных трудностей такого метода перепрограммирования клеток является внутриклеточная доставка белков OSKM из-за их ограниченной способности проникать через клеточную мембрану. Однако многочисленные исследования позволили

найти оптимальное решение этой проблемы. Новые методы перепрограммирования, основанные на трансдукции белка, не связаны с интеграцией вирусов в геном, что дает возможность создавать безопасные и последовательные ИПСК. Однако низкая эффективность этих методов была одной из самых больших проблем. Насколько нам известно, только около девяти исследовательских групп сообщили о получении ИПСК через трансдукцию белка, и эти исследования были ограничены только клетками мыши и человека.

Клинико-терапевтическое применение ИПСК. Получение аутологичных плюрипотентных клеток для регенерации ткани и клеточной трансплантационной терапии было недостижимой целью регенеративной медицины со времени открытия стволовых клеток. Регенеративные свойства плюрипотентных клеток делают их идеальным инструментом для клеточной терапии. Однако из-за того, что стволовые клетки получали из эмбрионов, из-за отсутствия эффективных протоколов дифференцировки, а также из-за иммунной несовместимости между клетками и организмом реципиента использование ЭСК в клеточной терапии было ограничено. После того, как были разработаны механизмы перепрограммирования дифференцированных клеток в плюрипотентные, их все чаще стали использовать в качестве альтернативы ЭСК. Стало возможным получать плюрипотентные клетки из клеток самого пациента, что сняло этические проблемы использования ЭСК. Кроме того, простота и скорость наращивания необходимого количества клеток *in vitro* и отсутствие иммунного конфликта делают ИПСК более предпочтительными для клеточной трансплантационной терапии.

Важно, что возраст организма, у которого берутся клетки для получения ИПСК, не принципиален. При восстановлении плюрипотентности теломеры в ядрах клеток восстанавливаются до оптимальной длины. Ривера с соавторами [35] показали, что длина теломер в индуцированных стволовых клетках регулируется активностью теломераз (ферментов, удлиняющих теломеры), с одной стороны, и белков XRCC3 и Nbs1, обрезающих излишне длинные теломеры, – с другой. Поэтому появляется возможность применять клеточную терапию даже к пожилым пациентам без опасения, что лимит Хейфлика их клеток будет исчерпан и теломеры станут слишком короткими за время манипуляций с клетками. Кроме того, появились методы направленной дифференцировки ИПСК и получения из них клеток нужного типа для терапии. Например, установлено, что кардиомиоциты, полученные из человеческих ИПСК, функционально равнозначны получен-

ным из ЭСК [11]. Ву с соавторами [46] продемонстрировали потенциал ЭСК в модели лечения гемофилии у мышей. ИПСК, полученные от мышей другой линии, были дифференцированы в гепатоциты, продуцирующие фактор свертывания крови IX, как в естественных условиях, так и *in vitro*. Гепатоциты, полученные из индуцированных плюрипотентных клеток и пересаженные мышам с гемофилией, показали улучшение свертывающей активности фактора IX на 2–3 %, демонстрируя существенное облегчение течения болезни.

В лаборатории Сеттон [42] ИПСК человека подвергали действию различных факторов роста и культуральных сред для стимулирования образования необходимых маркеров и дальнейшего полного превращения в клетки хорды. Далее ученые использовали аналогичную методику для развития полученных клеток в клетки пульпозного ядра. В прошлых проектах исследователи пытались получить из ИПСК человека различные типы дифференцированных клеток костной, хрящевой, нервной и жировой тканей. Сеттон и ее группа пошли другим путем, разработав методику, позволяющую сначала создать хорду – хрящевидную структуру, которая формируется на самых ранних этапах развития, превращаясь в дальнейшем в позвоночник.

Аутологичные ИПСК являются потенциальным источником клеток всех типов для решения проблем регенеративной медицины. Более того, они широко используются в биологических и медицинских исследованиях как модели генетических заболеваний. ИПСК, полученные от пациентов с известными генетическими нарушениями, могут быть источниками клеточных линий для проведения таких исследований. Использование ИПСК при моделировании болезни позволяет создавать множественные линии различных типов, изучение которых необходимо для понимания этиологии заболевания и определения набора лекарственной терапии.

Известно достаточно большое количество исследований, подтверждающих, что использование ИПСК для моделирования болезни дает уникальную возможность имитировать патологическое состояние человека в лабораторных условиях, что в свою очередь позволяет исследовать заболевания и разработать адекватные лекарственные средства для его лечения [18, 34, 47]. Использование ИПСК в качестве источника дифференцированных клеток позволяет дополнить исследования новым инструментом и преодолеть разрыв между животными моделями, которые могут быть неточными или нетрансляционными, и клиническими исследованиями на человеке,

которые являются чрезвычайно дорогостоящими, трудоемкими и строго регламентированными. В этом контексте использование ИПСК для моделирования патологий и разработки лекарств является собой прорыв в современной фармакологии.

Несмотря на все преимущества ИПСК, несмотря на то, что в многочисленных исследованиях убедительно показан потенциал применения технологии ИПСК в трансляционной медицине, все еще существуют серьезные проблемы, препятствующие массовому применению этих клеток в клинической медицине. В первую очередь это проблемы, связанные с перепрограммированием соматических клеток взрослого организма. Долгосрочные эффекты индуцированного плюрипотентного состояния все еще не ясны. Соматические клетки за время жизни организма накапливают в своих геномах изменения, которые могут отразиться на свойствах полученных из них плюрипотентных клеток. Перепрограммирование может активировать онкогены, из-за чего возрастает риск возникновения опухолей или тератокарцином из пересаженных пациенту индуцированных плюрипотентных клеток. Совсем недавно [33] Паске с соавторами показали, что мужские и женские клетки по-разному ведут себя во время и после перепрограммирования. Объясняется это различием в количестве X-хромосом. В женских клетках их две, но одна не активна. Гипометилирование в масштабе всего генома в женских клетках влияет на многие геномные ориентиры, включая энхансеры и области контроля импринтинга, и сопровождается реактивацией неактивной X-хромосомы. Во время культивирования перепрограммированных клеток процесс метилирования ДНК усиливается, целый ряд генов становятся вновь неактивными, как и одна из X-хромосом. В мужских клетках таких драматических изменений при перепрограммировании не происходит. Эти различия следует учитывать при клинико-терапевтических процедурах.

Хотя методы направленной дифференцировки плюрипотентных клеток существуют, но отсутствие надежных и эффективных протоколов дифференцировки создает препятствие для использования ИПСК в клеточной терапии, поскольку остается не нулевой вероятностью присутствия клеток нежелательного типа в клеточном трансплантате. На преодоление этих проблем направлены усилия многочисленных исследовательских коллективов и в нашей стране, и за рубежом. С появлением ИПСК возникла и возможность редактировать их геном и возвращать пациенту уже исправленные клетки. На недавнем ежегодном саммите AAAS (The American Association for the Advancement of Science) [2]

был сделан доклад о достижениях в этой области. Цель исследования заключалась в том, чтобы исправить мутацию, ответственную за серповидноклеточную анемию, тогда откорректированные стволовые клетки будут дифференцироваться в нормальные клетки крови, включая эритроциты. Исследователи отбирали стволовые клетки и гемопоэтические клетки-предшественники с поверхностным клеточным маркером CD34. Затем клетки изменяли с помощью технологии редактирования геномов CRISPR/Cas9 и специального шаблона ДНК для исправления мутации. Ученые вводили полученные клетки в костный мозг иммунодефицитных мышей и спустя 19 недель наблюдали, сколько отредактированных стволовых клеток прижилось. Результаты показали, что их уровень все это время оставался стабильным. Хотя ученые использовали стволовые клетки костного мозга, но потенциально также можно использовать и ИПСК.

Открытие способов получения ИПСК сильно изменило научное представление о биологии стволовых клеток. Это открытие является замечательным достижением в биологии и медицине. Доступность источника клеток, легкость их выделения, способность к быстрому и надежному размножению *in vitro*, ЭСК-подобные характеристики, отсутствие иммунного конфликта делают ИПСК идеальной заменой ЭСК в трансляционной медицине. Из-за отсутствия этических ограничений и легкодоступной донорской ткани эти клетки могут широко использоваться в исследовательских работах для лучшего понимания природы ИПСК. В первую очередь такие исследования необходимы для выявления различий в геномах ИПСК и ЭСК и поиска путей и методов для сведения этих различий к минимуму [15]. Остается неясным, эффективно ли методы перепрограммирования подавляют гены родительских соматических клеток, активируя ЭСК-гены. Эффекты «неполного» перепрограммирования не до конца изучены, но считается, что они позволяют получать разные уровни дифференцировки и потенции ИПСК. Остаются не до конца понятными долгосрочные риски использования индуцированных клеток в клинической медицине. Однако это непонимание будет уменьшаться со временем, поскольку технология очень молодая. По мере совершенствования протоколов перепрограммирования и направленной дифференцировки клеток использование ИПСК в трансплантационной медицине, а также в моделировании болезней и тестировании лекарств будет расширяться. Современные клеточные технологии моделируют фенотипические проявления болезней, однако степень повторяемости всех факторов за-

болевание по-прежнему не высока. Повысить ее сможет использование индуцированных плюрипотентных клеток.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ИПСК обладают огромным потенциалом для использования их в биологических и медицинских исследованиях, а также в клинической медицине. После решения ряда проблем, связанных с биологией этих клеток, ИПСК могут стать мощным инструментом в репарационной и регенеративной медицине.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Audouy S., Hoekstra D. Cationic lipid-mediated transfection in vitro and in vivo (review) // *Mol. Membr. Biol.* 2001. 18. (2). 129–143.
2. Bao G. CRISPR/Cas9-based genome editing for treating sickle cell disease // *Abstr. AAAS Annual Meeting*, Austin, February 15–19, 2018. <https://aaas.confex.com/aaas/2018/meetingapp.cgi/Paper/21361>.
3. Briggs R., King T.J. Transplantation of living nuclei from blastula cells into enucleated frogs' eggs // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1952. 38. (5). 455–463.
4. Bunnell B.A., Flaatt M., Gagliardi C., Patel B., Ripoll C. Adipose-derived stem cells: Isolation, expansion and differentiation // *Methods*. 2008. 45. (2). 115–120.
5. Chin M.H., Mason M.J., Xie W., Volinia S., Singer M., Peterson C., Ambartsumyan G., Aimiwu O., Richter L., Zhang J., Khvorostov I., Ott V., Grunstein M., Lavon N., Benvenisty N., Croce C.M., Clark A.T., Baxter T., Pyle A.D., Teitell M.A., Pelegri M., Plath K., Lowry W.E. Induced pluripotent stem cells and embryonic stem cells are distinguished by gene expression signatures // *Cell Stem Cell*. 2009. 5. 111–123.
6. Chou B.K., Mali P., Huang X., Ye Z., Dowey S.N., Resar L.M., Zou C., Zhang Y.A., Tong J., Cheng L. Efficient human iPS cell derivation by a non-integrating plasmid from blood cells with unique epigenetic and gene expression signatures // *Cell Res*. 2011. 21. (3). 518–529.
7. Cieslar-Pobuda A., Knoflach V., Ringh M.V., Stark J., Likus W., Siemianowicz K., Ghavami S., Hudecki A., Green J.L., Los M.J. Transdifferentiation and reprogramming: Overview of the processes, their similarities and differences // *Biochim. Biophys. Acta*. 2017. 1864. (7). 1359–1369.
8. De Vries W.N., Evsikov A.V., Brogan L.J., Anderson C.P., Graber J.H., Knowles B.B., Solter D. Reprogramming and differentiation in mammals: motifs and mechanisms // *Cold Spring Harb. Symp. Quant. Biol.* 2008. 73. 33–38.
9. Elango N., Elango S., Shivshankar P., Katz M.S. Optimized transfection of mRNA transcribed from a d(A/T)100 tail-containing vector // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2005. 330. (3). 958–966.
10. Evans M.J., Kaufman M.H. Establishment in culture of pluripotent cells from mouse embryos // *Nature*. 1981. 292. 154–156.
11. Fu J.D., Stone N.R., Liu L., Delgado-Olguin P., Ding S., Bruneau B.G., Srivastava D. Direct reprogramming of human fibroblasts toward a cardiomyocyte-like state // *Stem Cell Reports*. 2013. 1. (3). 235–247.
12. Fusaki N., Ban H., Nishiyama A., Saeki K., Hasegawa M. Efficient induction of transgene-free human pluripotent stem cells using a vector based on Sendai virus, an RNA virus that does not integrate into the host genome // *Proc. Jpn. Acad. Ser. B Phys. Biol. Sci.* 2009. 85. 348–362.
13. Gopalakrishnan S., Hor P., Ichida J.K. New approaches for direct conversion of patient fibroblasts into neural cells // *Brain Res*. 2017. 1656. 2–13.
14. Gurdon J.B., Byrne J.A. The first half-century of nuclear transplantation // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2003. 100. (14). 8048–8052.
15. He T.C., Zhou S., da Costa L.T., Yu J., Kinzler K.W., Vogelstein B. A simplified system for generating recombinant adenoviruses // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1998. 95. 2509–2514.
16. Holtkamp S., Kreiter S., Selmi A., Simon P., Koslowski M., Huber C., Türeci O., Sahin U. Modification of antigen-encoding RNA increases stability, translational efficacy, and T-cell stimulatory capacity of dendritic cells // *Blood*. 2006. 108. (13). 4009–4017.
17. Jia F., Wilson K.D., Sun N., Gupta D.M., Huang M., Li Z., Panetta N.J., Chen Z.Y., Robbins R.C., Kay M.A., Longaker M.T., Wu J.C. A nonviral minicircle vector for deriving human iPS cells // *Nat. Methods*. 2010. 7. (3). 197–199.
18. Jungverdorben J., Till A., Brustle O. Induced pluripotent stem cell-based modeling of neurodegenerative diseases: a focus on autophagy // *J. Mol. Med.* 2017. 95. (7). 705–718.
19. Kumano K., Arai S., Hosoi M., Taoka K., Takayama N., Otsu M., Nagae G., Ueda K., Nakazaki K., Kamikubo Y., Eto K., Aburatani H., Nakauchi H., Kurokawa M. Generation of induced pluripotent stem cells from primary chronic myelogenous leukemia patient samples // *Blood*. 2012. 119. (26). 6234–6242.
20. Li X., Zhang P., Wei C., Zhang Y. Generation of pluripotent stem cells via protein transduction // *J. Dev. Biol.* 2014. 58. 21–27.

21. Liu H., Zhaohui Y., Kim Y., Sharkis S., Jang Y.Y. Generation of endoderm-derived human induced pluripotent stem cells from primary hepatocytes // *Hepatology*. 2010. 51. (5). 1810–1819.
22. Markoulaki S., Hanna J., Beard C., Carey B.W., Cheng A.W., Lengner C.J., Dausman J.A., Fu D., Gao Q., Wu S., Cassady J.P., Jaenisch R. Transgenic mice with defined combinations of drug-inducible reprogramming factors // *Nat. Biotechnol.* 2009. 27. 169–171.
23. Martin G.R. Isolation of a pluripotent cell line from early mouse embryos cultured in medium conditioned by teratocarcinoma stem cells // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1981. 78. 7634–8.
24. Maureen L. Condit totipotency: What it is and what it is not // *Stem Cells Dev.* 2014. 23. (8). 796–812.
25. Mendez-Ferrer S., Scadden D.T., Sanchez-Aguilera A. Bone marrow stem cells: Current and emerging concepts // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2015. 1335. 32–44.
26. Meraviglia V., Zanon A., Lavdas A.A., Schwienbacher C., Silipigni R., Di Segni M., Chen H.S., Pramstaller P.P., Hicks A.A., Rossini A. Generation of induced pluripotent stem cells from frozen buffy coats using non-integrating episomal plasmids // *J. Vis. Exp.* 2015. 100. e52885.
27. Mitalipov S., Wolf D. Totipotency, pluripotency and nuclear reprogramming // *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.* 2009. 114. 185–199.
28. Nakhaei-Rad S., Bahrami A.R., Mirahmadi M., Matin M.M. New windows to enhance direct reprogramming of somatic cells towards induced pluripotent stem cells // *Biochem. Cell Biol.* 2012. 90. (2). 115–123.
29. Novak A., Shtrichman R., Germanguz I., Segev H., Zeevi-Levin N., Fishman B., Mandel Y.E., Barad L., Domev H., Kotton D., Mostoslavsky G., Binah O., Itskovitz-Eldor J. Enhanced reprogramming and cardiac differentiation of human keratinocytes derived from plucked hair follicles, using a single excisable lentivirus // *Cell. Reprogram.* 2010. 12. (6). 665–678.
30. Okita K., Ichisaka T., Yamanaka S. Generation of germline-competent induced pluripotent stem cells // *Nature*. 2007. 448. 313–7.
31. Okita K., Nakagawa M., Hyenjong H., Ichisaka T., Yamanaka S. Generation of mouse induced pluripotent stem cells without viral vectors // *Science*. 2008. 322. (5903). 949–953.
32. Okita K., Yamakawa T., Matsumura Y., Sato Y., Amano N., Watanabe A., Goshima N., Yamanaka S. An efficient nonviral method to generate integration-free human-induced pluripotent stem cells from cord blood and peripheral blood cells // *Stem Cells*. 2013. 31. 458–466.
33. Pasque V., Karnik R., Chronis C., Petrella P., Langerman J., Bonora G., Song J., Vanheer L., Sadhu Dimashkie A., Meissner A., Plath K. X Chromosome dosage influences DNA methylation dynamics during reprogramming to mouse iPSCs // *Stem Cell Reports*. 2018. 10. (5). 1537–1550.
34. Rajaei B., Shamsara M., Amirabad L.M., Massumi M., Sanati M.H. Pancreatic endoderm-derived from diabetic patient-specific induced pluripotent stem cell generates glucose-responsive insulin-secreting cells // *J. Cell. Physiol.* 2017. 232. (10). 2616–2625.
35. Rivera T., Haggbloom C., Cosconati S., Karlseider J. A balance between elongation and trimming regulates telomere stability in stem cells // *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2017. 24. (1). 30–39.
36. Sandmaier S.E.S., Telugu B.P.L. MicroRNA-mediated reprogramming of somatic cells into induced pluripotent stem cells // *Cell. Reprogram.* 2015. 1330. 29–36.
37. Seki T., Yuase S., Fukuda K. Generation of induced pluripotent stem cells from a small amount of human peripheral blood using a combination of activated T cells and Sendai virus // *Nat. Protocols*. 2012. 7. 718–728.
38. Shizuru J.A., Negrin R. S., Weissman I.L. Hematopoietic stem and progenitor cells: Clinical and preclinical regeneration of the hematolymphoid system // *Annu. Rev. Med.* 2005. 56. 509–538.
39. Takahashi K., Tanabe K., Ohnuki M., Narita M., Ichisaka T., Tomoda K., Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors // *Cell*. 2007. 131. (5). 861–872.
40. Takahashi K., Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors // *Cell*. 2006. 126. 663–676.
41. Takahashi K., Yamanaka S. A developmental framework for induced pluripotency // *Development*. 2015. 142. 3274–3285.
42. Tang R., Jing L., Willard V.P., Wu C., Guilak F., Chen J., Setton L.A. Differentiation of human induced pluripotent stem cells into nucleus pulposus-like cells // *Stem Cell Res. Ther.* 2018. 9. 61.
43. Thomson J.A., Itskovitz-Eldor J., Shapiro S.S., Waknitz M.A., Swiergiel J.J., Marshall V.S., Jones J.M. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts // *Science*. 1998. 282. 1145–1147.
44. Warren L., Manos P.D., Ahfeldt T., Loh Y.H., Li H., Lau F., Ebina W., Mandal P.K., Smith Z.D., Meissner A., Daley G.Q., Brack A.S., Collins J.J., Cowan C., Schlaeger T.M., Rossi D.J. Highly efficient reprogramming to pluripotency and directed differentiation of human cells with synthetic modified mRNA // *Cell Stem Cell*. 2010. 7. (5). 618–30.
45. Wernig M., Meissner A., Cassady J.P., Jaenisch R. c-Myc is dispensable for direct reprogramming of mouse fibroblasts // *Cell Stem Cell*. 2008. 2. 10–12.
46. Wu Y.M., Huang Y.J., Chen P., Hsu Y.C., Lin S.W., Lai H.S., Lee H.S. Hepatocyte-like cells derived from mouse induced pluripotent stem cells produce functional coagulation factor IX in a

hemophilia B mouse model // *Cell Transpl.* 2016. 25. (7). 1237–1246.

47. Xie M., Tang S.B., Li K., Ding S. Pharmacological reprogramming of somatic cells for regenerative medicine // *Acc. Chem. Res.* 2017. 50. (5). 1202–1211.

48. Yu J., Hu K., Smuga-Otto K., Tian S., Stewart R., Slukvin I.I., Thomson J.A. Human induced pluripotent stem cells free of vector and transgene sequences // *Science*. 2009. 324. (5928). 797–801.

49. Zang X., Gruz F.D., Remotti F., Matushasky I. Terminal differentiation and loss of tumorigenicity of human cancers via pluripotency-based reprogramming // *Oncogene*. 2013. 32. 2249–2260.

50. Zhou H., Wu S., Joo J.Y., Zhu S., Han D.W., Lin T., Trauger S., Bien G., Yao S., Zhu Y., Siuzdak G., Schöler H.R., Duan L., Ding S. Generation of induced pluripotent stem cells using recombinant proteins // *Cell Stem Cell*. 2009. 4. (5). 381–384.

DIRECTED RE-PROGRAMMING OF SOMATIC CELLS: ADVANTAGES AND LIMITATIONS OF INDUCED PLURIPOTENT STEM CELLS (REVIEW)

Anastasiya Viktorovna KOREL, Sergey Borisovich KUZNETSOV

Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopaedics n.a. Ya.L. Tsivyan of Minzdrav of Russia 630091, Novosibirsk, Frunze str., 17

Stem cells are divided into embryonic and adult stem cells. The relevance of the use of stem cells in clinical practice has received new evidence in recent years however, the methods of obtaining stem cells for medical purposes cause ethical rejection. An alternative to the stem cells is the induced pluripotent cells. These cells are multipotential and comparable with features of embryonic stem cells but with additional advantages: their preparation allows to avoid many ethical problems associated with the use of embryonic material, their use reduces the risk of immune rejection. The possibility of somatic cells reprogramming into pluripotent stem cells opens the great prospects for regenerative medicine. An applying of directional reprogramming method makes possible to obtain practically any cell type from induced stem cells of the patient to use in autologous cell therapy. Induced pluripotent stem cells can also be used to model the human diseases and for screening of medicines. However, there are still a number of obstacles that need to be overcome before the use of induced pluripotent stem cells will be involved to routine clinical practice. This review examines the history of the creation of induced pluripotent stem cells and recent advances in the reprogramming of somatic cells, as well as the challenges that need to be overcome in order to apply this strategy in clinical practice.

Key words: induced pluripotent stem cells, differentiation, somatic and embryonic stem cells.

Korel A.V. – candidate of biological sciences, senior researcher of laboratory experimental department,
e-mail: akorel@niito.ru

Kuznetsov S.B. – candidate of biological sciences, senior researcher of laboratory experimental department,
e-mail: sergei_kuznetsov@yahoo.com

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ЭЛЕКТРОННО-МИКРОСКОПИЧЕСКОЕ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПРЕПАРАТОВ ПРОТЕИНАТА СЕРЕБРА

Василий Александрович БУРМИСТРОВ¹, Владимир Иванович ЗАЙКОВСКИЙ²,
Антон Васильевич БУРМИСТРОВ³, Любовь Никифоровна РАЧКОВСКАЯ³,
Анна Вениаминовна ШУРЛЫГИНА³, Татьяна Викторовна ПОПОВА³,
Маргарита Владимировна РОБИНСОН³, Максим Александрович КОРОЛЕВ³,
Андрей Юрьевич ЛЕТЯГИН³

¹ Научно-производственный центр «Вектор-Вита»
630098, г. Новосибирск, ул. Приморская, 33-212

² Институт катализа им. Г.К. Борескова СО РАН
630090, г. Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 5

³ НИИ клинической и экспериментальной лимфологии –
филиал ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН
630060, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2

Целью данной работы являлось сравнительное исследование размеров частиц коммерческих препаратов коллоидного серебра методом электронной микроскопии в связи с характеристикой специфической антимикробной активности препаратов в одинаковых условиях. Исследовали четыре коммерческих препарата коллоидного серебра: Витаргол Форте (производство НПЦ «Элюсан»), Проталор (производство ООО «Эско-Фарм», Армения), Сиалор (производство ПФК «Обновление») и, в качестве препарата сравнения, Протаргол (рецептурный аптечный препарат). **Материал и методы.** Размеры частиц серебра в препаратах определялись с помощью просвечивающей электронной микроскопии высокого разрешения на электронном микроскопе JEM 2010 (JEOL, Япония) с разрешением по решетке 0,14 нм при ускоряющем напряжении 200 кВ. Изучение антимикробной активности препаратов протеината серебра проводили стандартным методом серийных разведений на жидких питательных средах и методом диффузии с использованием бактериальных культур *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* и *Pseudomonas aeruginosa*. **Результаты и их обсуждение.** Наиболее мелкодисперсным и монодисперсным является препарат Витаргол Форте, изготавливаемый по усовершенствованной технологии. Наиболее грубодисперсным и полидисперсным был препарат стандартного классического Протаргола, приготовленный в аптечных условиях. **Заключение.** Показана зависимость антимикробной активности препарата от размера частиц серебра в нем. Из четырех исследованных препаратов протеината серебра наименьший размер частиц был в Витарголе Форте. Этот же препарат продемонстрировал наиболее высокую бактерицидную и бактериостатическую активность.

Ключевые слова: коллоидное серебро, протеинат серебра, размеры частиц, бактерицидное действие, бактериостатическое действие.

Бурмистров В.А. – к.х.н., директор, e-mail: vector-vita@ngs.ru

Зайковский В.И. – к.х.н., старший научный сотрудник, e-mail: viz@catalysis.ru

Бурмистров А.В. – зам. директора, e-mail: vector-vita@mail.ru

Рачковская Л.Н. – к.х.н., зав. лабораторией, e-mail: noolit@niikel.ru

Шурлыгина А.В. – д.м.н., проф., ведущий научный сотрудник, e-mail: anna_v_s@mail.ru

Попова Т.В. – младший научный сотрудник, e-mail: noolit@niikel.ru

Робинсон М.В. – старший научный сотрудник, e-mail: mil777@ngs.ru

Королев М.А. – к.м.н., зав. лабораторией, e-mail: kormax@bk.ru

Летягин А.Ю. – д.м.н., проф., руководитель НИИКЭЛ – филиал ФИЦ ИЦиГ СО РАН,
e-mail: letyagin-andrey@yandex.ru

Важнейшей проблемой медицины и клинической практики является разработка новых и эффективных методов лечения инфекционных заболеваний, вызванных бактериями, устойчивыми к антибиотикам. Ее решению способствуют разработки эффективных противомикробных препаратов с использованием наночастиц серебра, обладающих широким спектром антимикробных свойств. В литературе имеются данные, которые убедительно показывают, что наночастицы серебра способны уничтожать патогенные бактерии, резистентные к антибиотикам *in vivo* и *in vitro* [4]. Препараты коллоидного серебра рассматриваются как перспективные средства для профилактики и лечения инфекционных заболеваний, включая острые респираторно-вирусные инфекции и лор-заболевания [1, 5]. В настоящее время появился ряд новых препаратов коллоидного серебра и его разновидности – кластерного серебра (с меньшим размером частиц серебра) [3]. Целью данной работы являлось сравнительное исследование размеров частиц коммерческих препаратов коллоидного серебра методом электронной микроскопии в сопоставлении со специфической антимикробной активностью этих препаратов в одинаковых условиях.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследовали четыре коммерческих препарата коллоидного серебра: Витаргол Форте (производство НПЦ «Элюсан»), Проталор (производство ООО «Эско-Фарм», Армения), Сиалор (производство ПФК «Обновление») и, в качестве препарата сравнения, Протаргол (рецептурный аптечный препарат).

Размеры частиц серебра в препаратах определяли методом электронной микроскопии. Перед исследованием все образцы дополнительно разбавляли дистиллированной водой в 50 раз и обрабатывали ультразвуком с частотой 35 кГц и плотностью излучения до 1 Вт/см² с целью диспергирования агрегатов частиц серебра. Полученные водные растворы серебра помещали на перфорированные углеродные пленки, закрепленные на медных сетках, и после высушивания при комнатной температуре исследовали с помощью просвечивающей электронной микроскопии высокого разрешения на электронном микроскопе JEM 2010 (JEOL, Япония) с разрешением по решетке 0,14 нм при ускоряющем напряжении 200 кВ.

Антимикробную активность препаратов протеината серебра изучали стандартным методом серийных разведений на жидких питательных

средах и методом диффузии. Методики отработаны с учетом стандартных рекомендаций в соответствии с Методическими указаниями [2]. Исследование методом серийных разведений проводили с использованием бактериальных культур *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* и *Pseudomonas aeruginosa* путем подсчета количества жизнеспособных бактерий в 1 мл культуры (КОЕ/мл) при культивировании тест-штамма на жидкой питательной среде в присутствии определенного разведения исследуемого препарата. В качестве контроля использовали суспензию тест-штамма без препарата. Суспензии бактериальных культур с концентрацией 10⁵–10⁶ КОЕ/мл получали разведением свежеприготовленной «ночной» культуры в L-бульоне. В пробирки с 10 мл суспензии бактерий добавляли препарат из расчета получения разведения 1/10, 1/50, 1/200, 1/1000 (соответственно по 100/20/5/1 мкл/мл) и инкубировали на качалке (180 оборотов в мин) при 37 °С. Пробы суспензии отбирали через 4 и 24 ч от начала культивирования. Для подсчета концентрации жизнеспособных бактерий (КОЕ) делали десятикратные разведения отобранных проб на физиологическом растворе и высевали на чашки Петри с рыбным питательным агаром, которые инкубировали в термостате при 37 °С. Через 20 ч культивирования подсчитывали число выросших колоний и рассчитывали концентрацию жизнеспособных бактерий в КОЕ/мл суспензии. Все эксперименты выполняли в двух повторях, результаты усредняли.

Определение антимикробной активности препаратов методом диффузии в агаре выполняли на тест-штамме *P. aeruginosa*. Суспензию клеток суточной культуры тест-штамма в количестве 1,0 × 10⁷ КОЕ с использованием верхнего агара равномерно наносили на чашки Петри с агаризованной средой (РПА). В полученном «газоне» делали лунки диаметром 6 мм и вносили в них по 50 мкл разведений препаратов, которые готовили на дистиллированной воде: А) разведение в 10 раз; В) разведение в 50 раз; С) разведение в 200 раз; D) разведение в 1000 раз. Для каждого образца использовали две параллельные лунки. Через сутки культивирования учитывали результаты (наличие зон угнетения роста бактерий).

При проведении статистической обработки результатов исследования вычисляли среднее арифметическое значение (*M*), стандартное отклонение (*SD*) и представляли в виде *M* ± *SD*. Различия между группами оценивали с помощью критерия Стьюдента, достоверными считались результаты при *p* < 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Типичные электронно-микроскопические снимки изученных препаратов серебра представлены на рис. 1, гистограммы распределения частиц серебра по размерам в препаратах – на рис. 2, количественные показатели гистограмм обобщены в табл. 1. Как видно из представленных данных, наиболее мелкодисперсным и монодисперсным является препарат Витаргол Форте. Средний размер частиц серебра в нем в 1,5–2 раза меньше, чем в других препаратах. Наиболее грубодисперсным и полидисперсным был препарат стандартного классического Протаргола, приготовленный в аптечных условиях.

Результаты тестирования антимикробной активности препаратов представлены в табл. 2 и 3. Отсутствие роста бактерий, т.е. бактерицидное действие – 0; снижение титра по сравнению с контролем более чем в 3 раза означает бактериостатическое действие, угнетение роста бактерий. При тестировании диффузионным методом Проталор и стандартный Протаргол какого-либо

значимого антимикробного действия не проявили, образования зон угнетения роста не отмечалось. Препарат Сиалор оказывал небольшое антимикробное воздействие лишь при разведении 1/10, размер зоны угнетения роста тест-штамма составил примерно 8 мм. Витаргол Форте из изученных препаратов был наиболее активным, оказывал антимикробное действие при разведениях 1/10 и 1/50, размер зон угнетения составил соответственно 11 и 8 мм. На рис. 3 приведены фотографии чашек Петри с «газоном» тест-штамма и лунками с тестируемыми препаратами Сиалор и Витаргол Форте.

ОБСУЖДЕНИЕ

Использованная методика тестирования методом серийных разведений на жидких питательных средах с отбором проб через 4 и 24 ч позволяет количественно оценивать бактерицидную и бактериостатическую составляющие активности и дает представление о динамике процесса (скоростях роста и гибели бактерий).

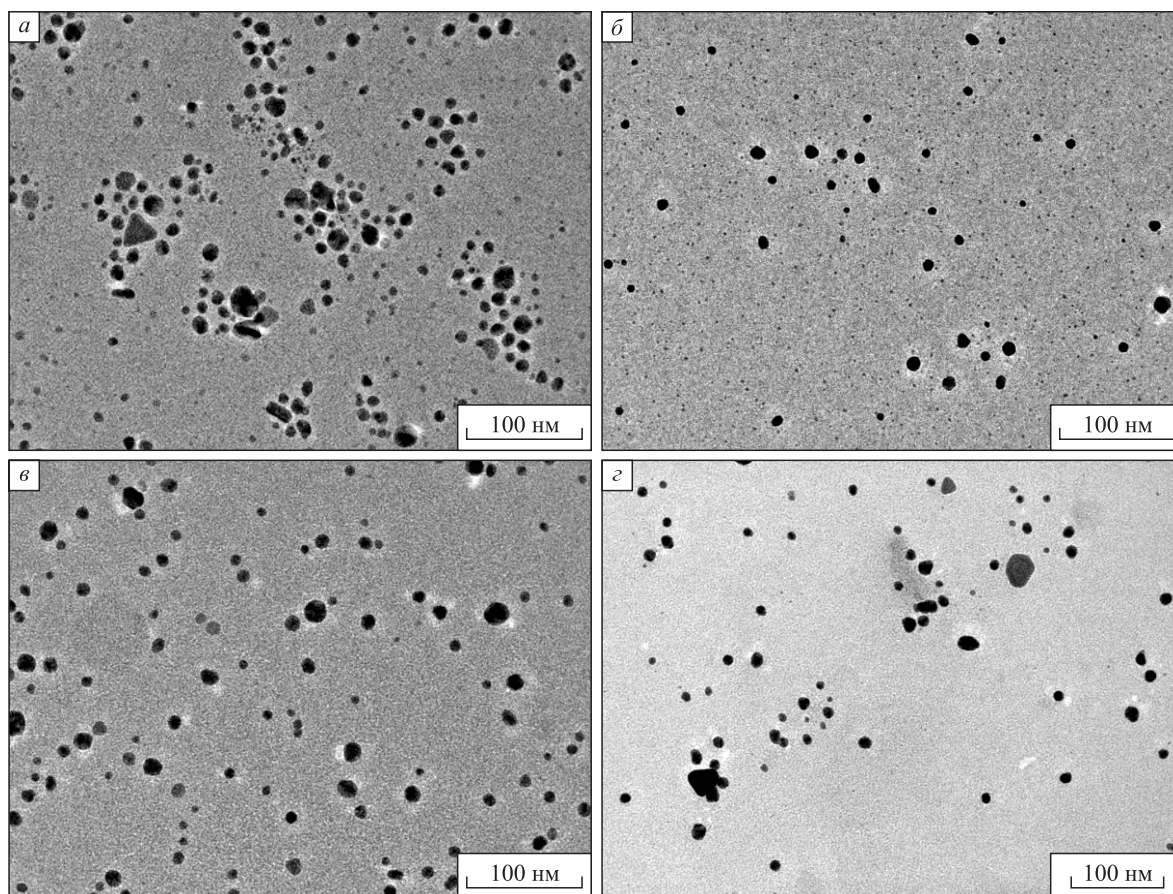


Рис. 1. Типичные электронно-микроскопические снимки образцов препаратов Сиалор (а), Витаргол Форте (б), Проталор (в) и Протаргол (г). Просвечивающая электронная микроскопия высокого разрешения, электронный микроскоп JEM 2010 (JEOL, Япония) с разрешением по решетке 0,14 нм при ускоряющем напряжении 200 кВ

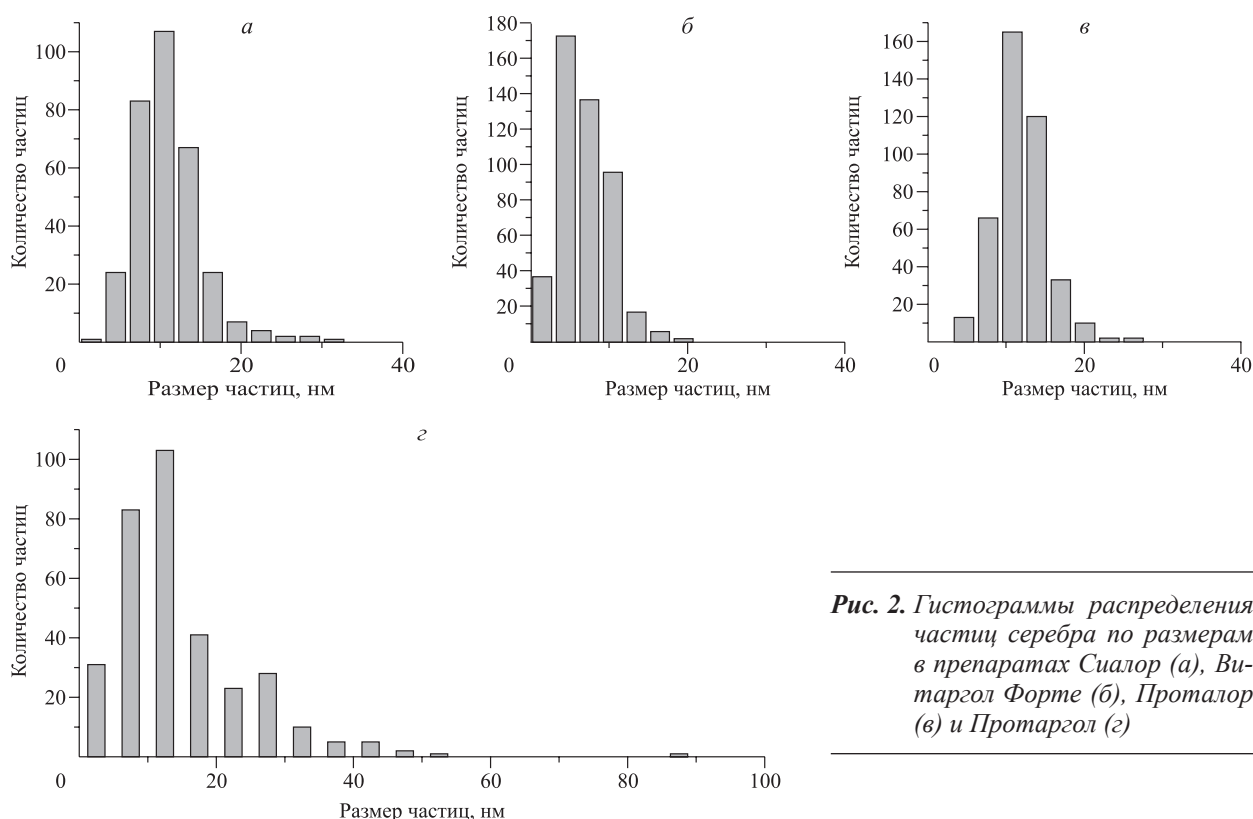


Рис. 2. Гистограммы распределения частиц серебра по размерам в препаратах Сиалор (а), Витаргол Форте (б), Проталор (в) и Протаргол (г)

Таблица 1

Размер частиц в препаратах

Препарат	Размер, нм	Выборка (количество частиц)
Сиалор	$11,0 \pm 4,1^{* \#}$	322
Витаргол Форте	$6,8 \pm 3,1^{\#}$	468
Проталор	$11,5 \pm 3,3^{* \#}$	411
Протаргол	$14,9 \pm 10,1^{*}$	333

Примечание. Обозначены статистически значимые ($p < 0,05$) отличия от величин соответствующих показателей:
* – Витаргола Форте, # – Протаргола.

Из представленных в табл. 2 и 3 результатов следует, что бактерии различаются по своей чувствительности к действию препаратов серебра: тест-штамм *St. aureus* более устойчив к действию препаратов серебра по сравнению с *E. coli*.

Препараты серебра значительно различаются между собой по антимикробной активности. Наименее активными были Проталор и стандартный Протаргол. Бактерицидного действия в использованных условиях тестирования они не

Таблица 2

Бактерицидная и бактериостатическая активность препаратов в отношении тест-штамма *St. aureus*

Препарат	Концентрация бактерий при разведении препарата через 4 и 24 ч культивирования, КОЕ/мл						
	1/10		1/50		1/200		1/1000
	4 ч	24 ч	4 ч	24 ч	4 ч	24 ч	24 ч
Сиалор	0	0	$2,4 \times 10^6$	$1,3 \times 10^9$	$2,8 \times 10^6$	$1,2 \times 10^9$	$1,4 \times 10^9$
Витаргол Форте	0	0	$1,5 \times 10^5$	$1,7 \times 10^6$	$3,2 \times 10^6$	$1,6 \times 10^9$	$1,1 \times 10^9$
Проталор	$1,5 \times 10^3$	$8,6 \times 10^6$	$3,8 \times 10^6$	$1,1 \times 10^9$	$4,0 \times 10^6$	$1,8 \times 10^9$	$1,5 \times 10^9$
Протаргол	$6,4 \times 10^2$	$7,8 \times 10^5$	$2,1 \times 10^6$	$1,2 \times 10^9$	$3,8 \times 10^6$	$1,3 \times 10^9$	$1,3 \times 10^9$

Примечание. Исходная посевная концентрация бактерий $1,3 \times 10^5$ КОЕ/мл, контроль через 4 и 24 ч культивирования – соответственно $3,6 \times 10^6$ и $1,6 \times 10^9$ КОЕ/мл.

Таблица 3

Бактерицидная и бактериостатическая активность препаратов в отношении тест-штамма *E. coli*

Препарат	Концентрация бактерий при разведении препарата через 4 и 24 ч культивирования, КОЕ/мл						
	1/10		1/50		1/200		1/1000
	4 ч	24 ч	4 ч	24 ч	4 ч	24 ч	24 ч
Сиалор	0	0	$1,1 \times 10^5$	0	$6,7 \times 10^4$	$4,8 \times 10^8$	$2,1 \times 10^9$
Витаргол Форте	0	0	$1,4 \times 10^4$	0	$3,7 \times 10^4$	0	$2,3 \times 10^9$
Проталор	$5,2 \times 10^3$	$5,5 \times 10^5$	$1,6 \times 10^5$	$7,1 \times 10^7$	$1,9 \times 10^5$	$1,1 \times 10^9$	$1,2 \times 10^9$
Протаргол	$3,0 \times 10^2$	$4,5 \times 10^4$	$1,3 \times 10^5$	$5,2 \times 10^7$	$1,8 \times 10^5$	$7,1 \times 10^8$	$1,1 \times 10^9$

Примечание. Исходная посевная концентрация бактерий $4,0 \times 10^5$ КОЕ/мл, контроль через 4 и 24 ч культивирования – соответственно $2,7 \times 10^6$ и $1,8 \times 10^9$ КОЕ/мл.

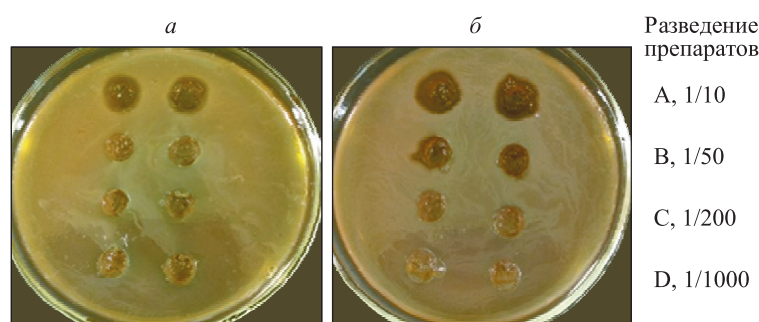


Рис. 3. Фотографии чашек Петри с тестируемыми препаратами Сиалор (а), Витаргол Форте (б)

оказывали, проявляли сильное бактериостатическое действие в разведении 1/10 (снижение титров на 3–4 порядка на тест-штамме *E. coli*, до 3 порядков на тест-штамме *St. aureus*). В разведении 1/50 эти препараты снижали титры *E. coli* на 1–1,5 порядка. Более активным был Сиалор. В разведении 1/10 он проявлял бактерицидное действие на обоих штаммах, в разведении 1/50 оказывал бактерицидное действие на *E. coli* через 24 ч культивирования и бактериостатическое действие при 4 ч культивирования, в разведении 1/200 – бактериостатическое действие на *E. coli* при 4 ч культивирования.

Наибольшую антимикробную активность из четырех изученных препаратов проявил Витаргол Форте. В разведении 1/10 он оказывал бактерицидное действие на обоих штаммах, в разведении 1/50 и 1/200 – бактерицидное действие на *E. coli* через 24 ч культивирования и бактериостатическое действие при 4 ч культивирования. В разведении 1/50 оказывал сильное бактериостатическое действие (снижение титров на 1–3 порядка) на тест-штамм *St. aureus*. По результатам тестирования диффузионным методом препарат Витаргол Форте также проявил наиболее высокую антимикробную активность в отношении тест-штамма *P. aeruginosa*.

При одинаковой концентрации серебра увеличение удельной (на единицу серебра) антимикробной активности может быть связано с

меньшим размером частиц серебра в препарате. По данным электронной микроскопии, средний размер частиц серебра в Витарголе в 1,5–2 раза меньше, чем в других препаратах (см. табл. 1). Это ведет к увеличению суммарной площади поверхности всех частиц серебра или, иными словами, суммарной площади взаимодействия серебра с бактериями, что положительно сказывается на активности препарата. Уменьшение наблюдаемого линейного размера в 1,5–2 раза означает, что средний объем или средняя масса одной частицы серебра в препарате уменьшается не менее чем в 4–8 раз (1,5–2 в третьей степени). Это повышает агрегационную устойчивость препарата, а также облегчает диффузию наночастиц серебра в агар, что подтверждается при тестировании активности диффузионным методом. В целом все это обуславливает более высокую активность и стабильность Витаргола по сравнению с другими протеинатами серебра.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Показана зависимость антимикробной активности препарата от размера частиц серебра в нем. Из четырех исследованных препаратов протеината серебра наименьший размер частиц был в Витарголе Форте. Этот же препарат продемонстрировал наиболее высокую антимикробную активность.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Блажитко Е.М., Бурмистров В.А., Колесников А.П., Михайлов Ю.И., Родионов П.П. Серебро в медицине. Новосибирск: Наука-Центр, 2004. 254 с.
2. МУК 4.2.1890-04. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам. Методические указания. М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. 91 с.
3. Рачковская Л.Н., Летягин А.Ю., Бурмистров В.А., Королев М.А., Гельфонд Н.Е., Бородин Ю.И., Коненков В.И. Модифицированные сорбенты для практического здравоохранения // Сиб. науч. мед. журн. 2015. 35. (2). 47–54.
4. Escárcega-González C.E., Garza-Cervantes J.A., Vázquez-Rodríguez A., Montelongo-Peralta L.Z., Treviño-González M.T., Díaz Barriga Castro E., Saucedo-Salazar E.M., Chávez Morales R.M., Regalado Soto D.I., Treviño González F.M., Carrazco Rosales J.L., Cruz R.V., Morones-Ramírez J.R. In vivo antimicrobial activity of silver nanoparticles produced via a green chemistry synthesis using *Acacia rigidula* as a reducing and capping agent // Int. J. Nanomedicine. 2018. 13. 2349–2363.
5. Epstein N.E. Do silver-impregnated dressings limit infections after lumbar laminectomy with instrumented fusion? // Surg. Neurol. 2007. 68. (5). 483–485.

COMPARATIVE ELECTRON-MICROSCOPIC AND MICROBIOLOGICAL INVESTIGATION OF SILVER PROTEINATE PREPARATIONS

Vasiliy Aleksanrovich BURMISTROV², Vladimir Ivanovich ZAYKOVSKIY³,
Anton Vasil'evich BURMISTROV², Lyubov' Nikiforovna RACHKOVSKAYA¹,
Anna Veniaminovna SHURLYGINA¹, Tat'yana Viktorovna POPOVA¹,
Margarita Vladimirovna ROBINSON¹, Maksim Aleksandrovich KOROLEV¹,
Andrey Yur'evich LETYAGIN¹

¹ *Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology –
Branch of the Institute of Cytology and Genetics of SB RAS
630060, Novosibirsk, Timakov str., 2*

² *Vector-Vita Ltd.
630060, Novosibirsk, Primorskaya str., 33-212*

³ *Boreskov Institute of Catalysis of SB RAS
630090, Novosibirsk, Academician Lavrentiev av., 5*

The purpose of this work was a comparative study of the particle sizes of commercial preparations of colloidal silver by the method of electron microscopy, in connection with the characteristics of specific antimicrobial activity of the preparations under the same conditions. Four commercial preparations of colloidal silver were investigated: Vitargol Forte (manufactured by NPC «Elusan»), Protalor (manufactured by ООО «Esko-Farm», Armenia), Sialor (manufactured by PFK «Obnovlenie»). Protargol (prescription drugstore) served as the drug of comparison. **Material and methods.** The silver particle sizes in the preparations were determined by high-resolution transmission electron microscopy using a JEM 2010 electron microscope (JEOL, Japan) with a resolution of 0.14 nm at an accelerating voltage of 200 kV. The antimicrobial activity of the silver protein preparations was studied by a standard serial dilution method in liquid nutrient media and diffusion method using bacterial cultures of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. Results and discussion. Vitargol Forte, manufactured using advanced technology, is the most fine-dispersed and monodisperse preparation. The preparation of standard classical Protargol, prepared in pharmacy conditions, was the most coarsely dispersed and polydispersed. **The conclusion.** The dependence of antimicrobial activity of the preparation on the size of its silver particles was shown. Of the four investigated preparations of silver proteinate, the smallest particle size was in the Vitargol Fort preparation. The same drug showed the highest bactericidal and bacteriostatic activity.

Key words: colloidal silver, silver proteinate, particle size, bactericidal action, bacteriostatic action.

Burmistrov V.A. – candidate of chemical sciences, director, e-mail: vector-vita@ngs.ru

Zaykovskiy V.I. – candidate of chemical sciences, senior researcher, e-mail: viz@catalysis.ru

Burmistrov A.V. – deputy director, e-mail: vector-vita@mail.ru

Rachkovskaya L.N. – candidate of chemical sciences, head of laboratory, e-mail: noolit@niikel.ru

Shurlygina A.V. – doctor of medical sciences, professor, leading researcher, e-mail: anna_v_s@mail.ru

Popova T.V. – junior researcher, e-mail: noolit@niikel.ru

Robinson M.V. – senior researcher, e-mail: mil777@ngs.ru

Korolev M.A. – candidate of medical sciences, head of laboratory, e-mail: kormax@bk.ru

*Letyagin A.Yu. – doctor of medical sciences, professor, head of research institute,
e-mail: letyagin-andrey@yandex.ru*

АНТИГЕННЫЕ СВОЙСТВА ИСКУССТВЕННОГО ПОЛИЭПИТОПНОГО ВИЧ-ИММУНОГЕНА

Андрей Павлович РУДОМЕТОВ¹, Надежда Борисовна АНДРЕЕВА¹,
Антон Николаевич ЧИКАЕВ², Надежда Сергеевна ЩЕРБАКОВА¹,
Ольга Николаевна КАПЛИНА¹, Лариса Ивановна КАРПЕНКО¹

¹ Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора
630559, р. п. Кольцово Новосибирской области

² Институт молекулярной и клеточной биологии СО РАН
630090, г. Новосибирск, просп. Академика Лаврентьева, 8/2

Создание иммуногена, способного обеспечить защиту от заражения и развития ВИЧ-инфекции, до сих пор является нерешенной и актуальной задачей. Поскольку для ВИЧ-1 характерна сильная генетическая изменчивость, эффективная вакцина должна обеспечивать защиту от множества различных штаммов вируса. Решением проблемы могло бы стать создание иммуногена, способного индуцировать ВИЧ-нейтрализующие антитела широкого спектра действия (bNAbs). В отличие от обычных антител, bNAbs реагируют с консервативными эпитопами, обеспечивая защитный иммунитет против подавляющего большинства штаммов ВИЧ. Целью исследования являлось конструирование и анализ антигенных свойств полиэпитопного ВИЧ-иммуногена, включающего в свой состав эпитопы, узнаваемые bNAbs. **Материал и методы.** В качестве молекулы-носителя использован созданный ранее белок TBI, на основе которого был получен его модифицированный вариант – pTBI. В его состав вошли эпитопы, узнаваемые bNAbs 10E8, 4E10, 2F5, а также линейный миметик конформационного эпитопа bNAbs VRC01. Анализ антигенных свойств эпитопов в составе pTBI проводили с помощью иммуноблоттинга. Для очистки pTBI использовали металл-хелатную хроматографию. Для оценки иммуногенных свойств pTBI проводили иммунизацию кроликов очищенным препаратом и определяли специфическую активность их сывороток с помощью ИФА. IgG из сывороток кроликов получали путем аффинной хроматографии на белке А. Вируснейтрализующую активность очищенных IgG определяли в реакции нейтрализации с использованием рекомбинантного вируса ВИЧ-1 92BR025. **Результаты.** Сконструирован иммуноген pTBI, содержащий эпитопы, узнаваемые bNAbs. Получен продуцент белка pTBI, обеспечивающий выход целевого белка до 30 % от суммы клеточных белков продуцента. Показано, что, находясь в контексте белка pTBI, линейные эпитопы сохраняют свои антигенные свойства. При иммунизации кроликов pTBI индуцирует образование антител, способных нейтрализовать рекомбинантный штамм ВИЧ-1 92BR025. **Заключение.** Показана принципиальная возможность использования искусственного белка TBI в качестве каркасной молекулы для экспонирования эпитопов, узнаваемых широко нейтрализующими антителами.

Ключевые слова: ВИЧ-1, полиэпитопные ВИЧ-иммуногены, эпитопы, нейтрализующие антитела широкого спектра действия, bNAbs.

Согласно данным ЮНЭЙДС (Объединенная программа Организации Объединенных Наций по ВИЧ/СПИД), широкое применение антиретровирусной терапии позволило снизить количество новых случаев заражения ВИЧ-инфекцией в ряде регионов мира. Однако в Российской Федерации и странах Восточной Европы число людей, впервые обнаруживших у себя ВИЧ, по-прежнему продолжает расти. По данным

Роспотребнадзора, число зарегистрированных ВИЧ-инфицированных в РФ к концу 2017 г. составило 1 220 659 человек. Сибирский федеральный округ относится к одному из самых пораженных эпидемией ВИЧ-инфекции регионов РФ.

Несмотря на то, что высокоактивная антиретровирусная терапия (ВААРТ) существенно продлевает жизнь ВИЧ-инфицированных, она не способна элиминировать вирус из организма

Рудометов А.П. – аспирант, e-mail: rudometov_ap@vector.nsc.ru

Андреева Н.Б. – аспирант, e-mail: andreeva_nb@vector.nsc.ru

Чикаев А.Н. – к.б.н., научный сотрудник, e-mail: chikaev@ngs.ru

Щербакова Н.С. – к.б.н., научный сотрудник, e-mail: shherbakova_ns@vector.nsc.ru

Каплина О.Н. – старший научный сотрудник, e-mail: okaplina@vector.nsc.ru

Карпенко Л.И. – д.б.н., зав. лабораторией, e-mail: karpenko@vector.nsc.ru

[3, 13]. Кроме того, высокая стоимость антиретровирусных препаратов, наличие ряда побочных эффектов и формирование вирусов с множественной лекарственной устойчивостью являются одними из наиболее важных проблем ВААРТ.

Наиболее очевидным решением проблемы распространения ВИЧ-инфекции является применение эффективной профилактической вакцины [5, 8]. К сожалению, в результате высокой генетической и, как следствие, антигенной вариативности ВИЧ-1 до сих пор не удалось создать иммуноген, способный индуцировать формирование протективного иммунного ответа против широкого разнообразия генетических вариантов вируса.

Надежду на появление эффективной вакцины против ВИЧ дало открытие антител, способных нейтрализовать большое разнообразие генетических вариантов вируса. По этой причине они были названы нейтрализующими антителами широкого спектра действия (broadly neutralizing antibodies, bNAbs) [1, 15]. Способность bNAbs связывать и нейтрализовать большое число разнообразных штаммов ВИЧ-1 обеспечивается тем, что они взаимодействуют с консервативными участками вируса. В настоящее время усилия ряда исследовательских групп направлены на разработку иммуногенов, способных индуцировать выработку таких bNAbs [9].

Один из подходов к созданию ВИЧ-иммуногенов заключается в конструировании полностью искусственных полиэпитопных белков, включающих протективные Т- и В-клеточные эпитопы из вирусных антигенов. Это позволяет нацелить формирование иммунного ответа к строго определенным протективным эпитопам и одновременно исключает вероятность появле-

ния нежелательных детерминант, вызывающих индукцию аутоантител или антител, увеличивающих инфекционность вируса [10].

Целью данной работы являлись конструирование и анализ антигенных и иммуногенных свойств искусственного полиэпитопного ВИЧ-иммуногена с эпитопами, узнаваемыми нейтрализующими ВИЧ-1 антителами широкого спектра действия.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Моноклональные антитела, линии клеток, штаммы бактерий, плазмиды, ферменты. Моноклональные антитела (МКА) 4E10 (№ 10091), VRC01 (№ 12033), 10E8 (№ 12294), 2F5 (№ 1475), эукариотические клетки U87.CD4.CCR5 (№ 4035) и плазида pSVIII-92BR025.9 (№ 3083) получены в рамках программы предоставления реактивов NIH AIDS Research and Reference Reagent Program (США). Штамм *Escherichia coli* BL21 (DE3) pLysS (Invitrogen) и эукариотические клетки HEK 293T/17 предоставлены отделом «Коллекции микроорганизмов» Государственного научного центра вирусологии и биотехнологии «Вектор» (Кольцово, Россия). Эндонуклеазы рестрикции XbaI и Sfr274I приобретены в компании «СибЭнзим» (Новосибирск, Россия).

Конструирование генов рекомбинантных белков. При проектировании белков TBI_tag и nTBI за основу взят ранее разработанный белок TBI (Т- и В-клеточный иммуноген) – компонент кандидатной вакцины «КомбиВИЧвак» [4, 11, 12] (рис. 1, а). Оптимизацию кодового состава гена TBI проводили с помощью онлайн-ресурса GenScript (<https://www.genscript.com/>). Гены, кодирующие спроектированные белки TBI_tag и

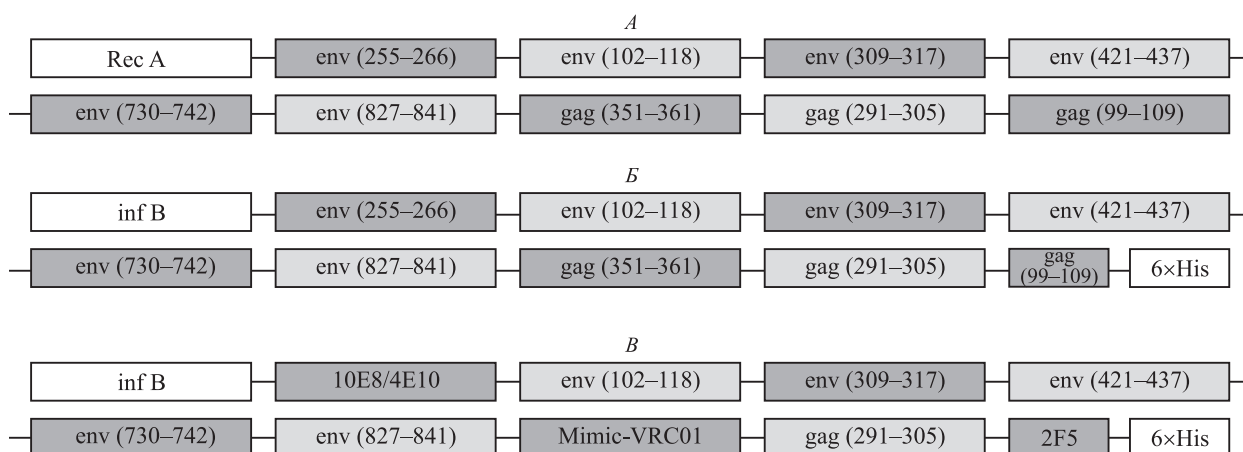


Рис. 1. Схематическое изображение структуры иммуногенов TBI (А), TBI_tag (Б) и nTBI (В). Темным фоном выделены В-клеточные эпитопы, светлым – Тh-эпитопы. RecA – фрагмент белка *P. mirabilis* RecA. InfB – фрагмент белка-активатора транскрипции *E. coli* InfB. 6 × His – шесть аминокислотных остатков гистидина

nTBI, были синтезированы компанией «Евроген» (Москва, Россия) и затем клонированы в составе плазмидного вектора pET21a (Novagen) по сайтам узнавания эндонуклеаз рестрикции XbaI и Sfr274I. Структура целевых плазмид pET-nTBI и pET-TBI_tag подтверждена секвенированием в Центре коллективного пользования «Геномика» СО РАН (Новосибирск, Россия).

Наработка и очистка рекомбинантных белков nTBI и TBI_tag. Бактериальные штаммы-продуценты белков nTBI и TBI_tag получали путем трансформации компетентных клеток *E. coli* BL21 (DE3) rLysS плазмидами pET-nTBI и pET-TBI_tag. Для наращивания биомассы отдельные колонии клеток *E. coli* BL21 культивировали в течение ночи в среде LB (0,5 % дрожжевого экстракта, 1 % триптона и 0,5 % NaCl) с ампициллином (50 мкг/мл). Ночную культуру добавляли к 150 мл среды LB в соотношении 1:100 и культивировали при 37 °C и 160 об/мин до значения оптической плотности $OD_{\lambda 600} = 0,5$. Экспрессию генов nTBI и TBI_tag индуцировали добавлением 100 мкл 1M изопропил- β -D-1-тиогалактопиранозид (ИПТГ) (Медиген, Россия). Бактериальные клетки осаждали центрифугированием при 6000 g 5 мин при 4 °C (Beckman Coulter Avanti J-30I, США). Биомассу дезинтегрировали ультразвуком на льду с использованием гомогенизатора Soniprep 150 Plus (MSE, Великобритания). Дебрис осаждали центрифугированием и растворяли в 6М мочевины. Рекомбинантные белки очищали на колонке с Ni-NTA (Qiagen, Германия) согласно инструкции производителя. Очищенные препараты иммуногенов диализовали против физиологического раствора. Степень очистки целевого белка оценивали с помощью электрофореза по Леммли в 15%-м полиакриламидном геле (SDS-PAGE) с последующей фиксацией и окрашиванием Кумасси G250.

Дот-блот анализ. Дот-блот-анализ проводили с использованием системы SNAP i.d. (Millipore, США). На нитроцеллюлозную мембрану (Amersham, Австрия) наносили в четыре точки по 1 мкл 2-кратных последовательных разведений белков TBI_tag и nTBI (стартовая концентрация 0,25 мг/мл), затем блокировали 1%-м бычьим сывороточным альбумином (БСА) в фосфатно-солевом буфере (PBS) и промывали 3 раза промывочным буфером (PBS с 0,1 % Tween 20). Мембрану помещали в раствор MKA VRC01, 10E8, 2F5 или 4E10, разбавленный в блокирующем буфере (PBS, 1 % БСА) в соотношении 1:10000, инкубировали в течение 10 мин при комнатной температуре и отмывали 3 раза промывочным буфером. Далее мембраны инкубировали 10 мин с конъюгированными с щелочной фосфатазой антителами кролика против IgG человека

(Sigma, США), разбавленными в блокирующем буфере в соотношении 1 : 5000, затем промывали 5 раз промывочным буфером. Иммунный комплекс визуализировали добавлением NBT/BCIP-субстратного раствора (Sigma, США).

Иммунизация животных. В экспериментах использовали 4-месячных кроликов-самцов (вес 1,6–2 кг) породы шиншилла. Животных содержали в отдельных клетках (виварий Государственного научного центра вирусологии и биотехнологии «Вектор») на стандартном рационе со свободным доступом к пище и воде. Эксперименты одобрены на заседании Биоэтической комиссии Государственного научного центра вирусологии и биотехнологии «Вектор» (протокол № 2 от 17.02.2017) и выполнены с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации.

Животные были случайным образом разделены на две группы (3 кролика в каждой группе). Перед иммунизацией у животных был произведен забор образцов крови и получена сыворотка, которая использовалась в качестве отрицательного контроля. Первая группа кроликов была иммунизирована белком nTBI, вторая – белком TBI_tag, которые вводили трехкратно на 1-й, 14-й и 28-й дни. При первой иммунизации кроликам подкожно вводили по 500 мкг nTBI либо TBI_tag с полным адъювантом Фрейнда, при второй – по 500 мкг белка в комплексе с неполным адъювантом Фрейнда, при третьей – по 500 мкг белка без адъюванта. На 14-й день после последней иммунизации производился забор образцов крови, из которых получали сыворотки и анализировали их на наличие специфических антител.

Очистка фракций суммарных IgG из сывороток иммунизированных кроликов. Очищенные IgG из сывороток кроликов получали путем аффинной хроматографии на белке A (BioVision, США) в соответствии с протоколом производителя. Степень очистки IgG оценивали с помощью SDS-PAGE. Очищенные препараты IgG хранили при –40 °C.

Иммуноферментный анализ. Специфическую активность сывороток иммунизированных кроликов оценивали с помощью ИФА. В качестве отрицательного контроля использовали сыворотки, взятые до иммунизации животных. Белки nTBI или TBI_tag (5 мкг/мл) сорбировали на 96-луночные планшеты (Thermo Fisher Scientific, США), блокировали BSA, после этого вносили восемь серийных разведений образцов сывороток, в трех повторах. Затем в лунки добавляли антитела козы против антител кроликов, конъюгированные с щелочной фосфатазой, инкубировали, отмывали

ли от несвязавшихся антител и вносили раствор субстрата BCIP/NBT (Sigma, США). Оптическую плотность измеряли при длине волны OD₄₀₅ (Model 680 Micro plate reader, Bio Rad, США). Все эксперименты проводили в трех повторах. Учитывались значения OD, превышающие в два раза средний фон преиммунной сыворотки кролика. Для оценки достоверности различий полученных значений использовали критерий Стьюдента.

Анализ нейтрализующей активности очищенных IgG. Наличие вируснейтрализующей активности очищенных IgG определяли путем постановки реакции нейтрализации с использованием рекомбинантного вируса ВИЧ-1 92BR025 (уровень устойчивости 1B) и клеток-мишеней U87.CD4.CCR5, как описано ранее [6, 14]. Для анализа использовали суммарный пул IgG каждой группы. Среднее значение IC₅₀ вычисляли с помощью программы GraphPad Prism 6.0 (GraphPad, США) по результатам трех параллельных измерений и выражали в концентрации антител, при которой происходит снижение люминесцентного сигнала на 50 %, используя метод нелинейной регрессии.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При конструировании нового иммуногена за основу взят ранее разработанный искусственный белок TBI, содержащий четыре Th-клеточных эпитопа и пять В-клеточных эпитопов из белков ВИЧ-1 [4, 11, 12] (см. рис. 1, а). Исходный вариант гена, кодирующего белок TBI, находился в составе плазмиды pTBI под контролем индуцибельного промотора *recA* из *Proteus mirabilis* (см. рис. 1, а) [4]. Данная система не позволяла добиться высокого выхода целевого белка, поэтому были проведены работы по улучшению продуцента белка TBI и упрощению схемы его очистки, для чего была выполнена оптимизация кодонного состава гена *TBI* для оптимальной экспрессии в системе *E. coli*. При смене экспрессионного вектора на pET21a ген *TBI* клонировали в общей рамке считывания с последовательностью, кодирующей шесть аминокислотных остатков (а.о.) гистидина (рис. 1, б), для упрощения очистки рекомбинантного белка. Кроме того, из структуры гена *TBI* был удален фрагмент, кодирующий 20 а.о. белка *RecA P. mirabilis*, и заменен последовательностью, кодирующей фрагмент (7 а.о.) белка-активатора транскрипции *InfB E. coli* [7]. Оптимизированный вариант TBI был назван TBI_tag (см. рис. 1, б). В результате оптимизации структуры гена уровень продукции TBI_tag в клетках *E. coli* увеличился в несколько раз по сравнению с исходным TBI.

Для улучшения иммуногенных свойств белка TBI_tag был изменен его эпитопный состав. Три В-клеточных эпитопа были заменены на последовательность, узнаваемую bNAbs 10E8 и 4E10 (NWFNITNWLWYIK), эпитоп, узнаваемый bNAbs 2F5 (NEQELLELDKWASLWN), и мимотоп, узнаваемый VRC01 (VSWPELYKWTWS). Поскольку bNAbs VRC01 узнает конформационный эпитоп ВИЧ-1, который невозможно воспроизвести в составе полиэпитопной конструкции, для замены использовался его линейный имитатор, полученный ранее с помощью фагового дисплея [2]. Т-хелперные эпитопы TBI_tag не подвергали изменениям, поскольку они формируют альфа-спиральный каркас белка. Модифицированный вариант белка был назван nTBI (рис. 1, в).

Синтезированные гены, кодирующие TBI_tag и nTBI, были клонированы в составе плазмидного вектора pET21a и экспрессированы в клетках *E. coli* BL21 (DE3) pLysS. На рис. 2, а представлена электрофореграмма лизатов клеток-продуцентов рекомбинантных белков. Выход белков TBI_tag и nTBI составлял до 30 % от суммы клеточных белков продуцента. В ходе процедуры очистки установлено, что рекомбинантные белки TBI_tag и nTBI находятся в тельцах включения, поэтому была использована схема очистки, включающая дезинтеграцию клеток ультразвуком, экстракцию белков из телец включения раствором мочевины, аффинную хроматографию с использованием Ni-NTA-агарозы и рефолдинг целевых белков с помощью диализа. Чистоту белков TBI_tag и nTBI дополнительно проверяли с помощью SDS-PAGE. В конечном препарате степень очистки белка составляла более 98 %.

Антигенные свойства эпитопов, узнаваемых bNAbs в составе nTBI, исследованы с помощью дот-блот анализа с использованием МКА. Установлено, что линейные В-клеточные эпитопы, включенные в состав nTBI, взаимодействуют с соответствующими МКА (2F5, 10E8 и 4E10), за исключением имитатора эпитопа, узнаваемого антителом VRC01 (рис. 2, б). Будучи экспонированным на поверхности фаговой частицы, данный мимотоп с высокой аффинностью связывался с VRC01 [2]. Однако, находясь в составе nTBI, мимотоп, возможно, оказывается экранирован аминокислотным окружением фланкирующих последовательностей, в результате чего теряет способность связываться с МКА VRC01.

Для изучения иммуногенности рекомбинантных белков проводили иммунизацию кроликов TBI_tag и nTBI и оценивали активность иммунных сывороток с помощью ИФА. Показано, что в сыворотках крови обеих групп животных содержатся антитела, специфичные к исследуемым

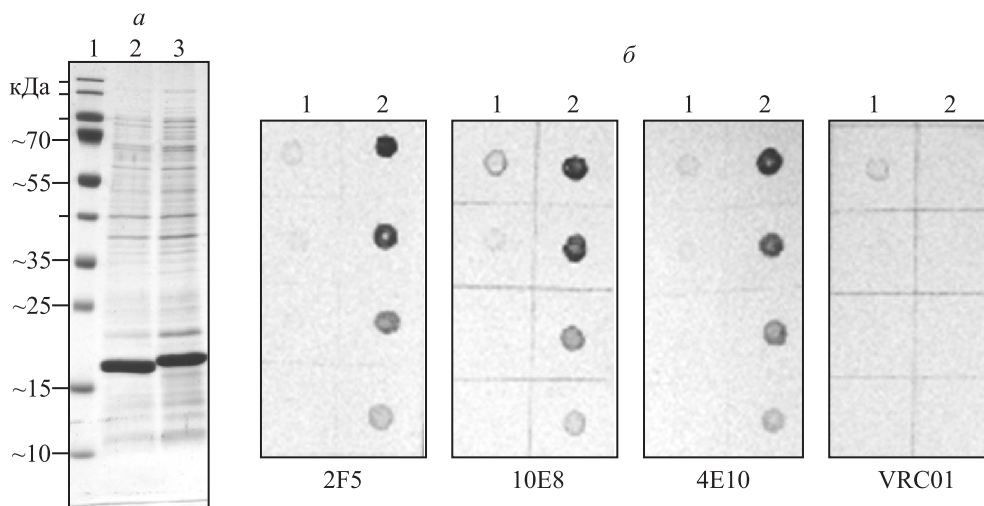


Рис. 2. а – электрофореграмма лизатов клеток *E. coli* BL21 (DE3) pLysS после индукции ИПТГ, несущих плазмиды pET-nTBI и pET-TBI_tag, в 15%-м PAGE: 1 – маркер молекулярной массы PageRuler (Thermo, США), 2 – лизат клеток *E. coli* BL21 (DE3) pLysS/pET-nTBI, 3 – лизат клеток *E. coli* BL21 (DE3) pLysS/pET-TBI_tag. б – дот-блот анализ взаимодействия рекомбинантных белков TBI_tag (1) и nTBI (2) с моноклональными антителами 2F5, 10E8, 4E10 и VRC01

иммуногенам. Средние титры антител в сыворотках кроликов, иммунизированных как TBI_tag, так и nTBI, достигали 1:3 000 000 после третьей иммунизации, между кроликами в группах существенной разницы в титре сывороток не наблюдалось. Сигнал преиммунных сывороток в ИФА не превышал фоновый уровень.

Для оценки вируснейтрализующей активности антител из сывороток иммунизированных животных выделены фракции IgG, которые исследовали в реакции вируснейтрализации с использованием рекомбинантного штамма ВИЧ-1 92BR025, входящего в панель рекомбинантных ВИЧ-1 для анализа нейтрализующей активности антител. Установлено, что и TBI_tag, и nTBI

индуцирует наработку антител, нейтрализующих штамм 92BR025 (рис. 3, а, б). При этом уровень вируснейтрализующей активности IgG, индуцированных nTBI, был выше, чем IgG, индуцированных TBI_tag. Величина IC_{50} , при которой наблюдалось 50%-я нейтрализация вируса, для анти-nTBI IgG составляла 1380 мкг/мл, для анти-TBI_tag – 2630 мкг/мл. IC_{50} для МКА 4E10, которое было использовано в качестве положительного контроля, составило 0,72 мкг/мл, что соответствует литературным данным [16].

Полученные результаты нейтрализующей активности IgG говорят об улучшении иммуногенных свойств белка nTBI по сравнению с его исходным вариантом – TBI_tag.

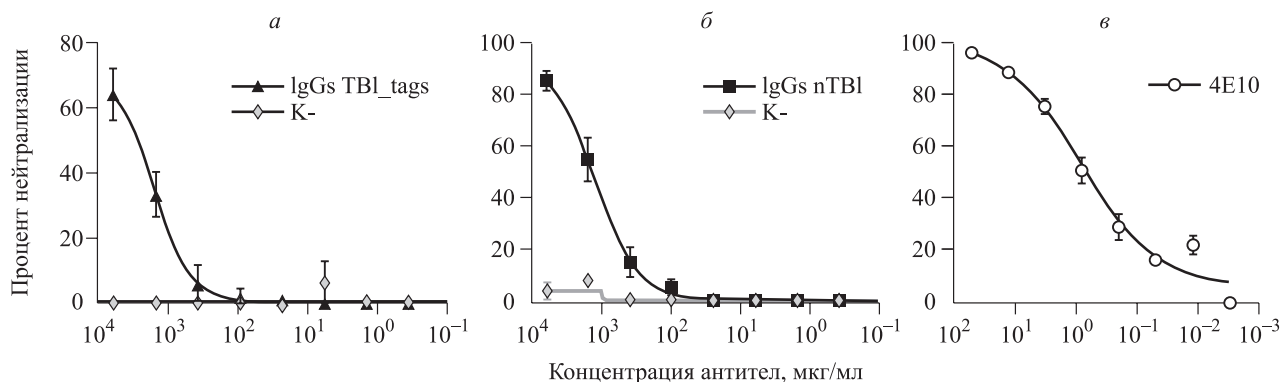


Рис. 3. Нейтрализующая активность IgG, выделенных из сывороток иммунизированных животных, в отношении рекомбинантного штамма ВИЧ-1 92BR025. а – кривые нейтрализации для анти-TBI_tag IgGs; б – кривые нейтрализации для анти-nTBI IgGs; в – кривые нейтрализации для МКА 4E10, положительный контроль. В качестве отрицательного контроля (K-) использовались IgGs, выделенные из преиммунных сывороток

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Создание иммуногена, способного обеспечить защиту от заражения и развития ВИЧ-инфекции, до сих пор является нерешенной и актуальной задачей. Вполне вероятно, что для создания эффективной вакцины будет необходимо использовать комбинацию нескольких концепций. Мы предлагаем концепцию создания ВИЧ-иммуногенов на основе полностью искусственных полиэпитопных белков, включающих протективные Т- и В-клеточные эпитопы из вирусных антигенов.

В результате проделанной работы сконструирован белок пТБИ, содержащий эпитопы, узнаваемые широко нейтрализующими МКА 10Е8, 4Е10, 2F5, и линейный имитатор конформационного эпитопа, узнаваемого МКА VRC01. С помощью иммуноблотинга установлено, что линейные эпитопы, узнаваемые бNAbs, за исключением пептида-имитатора VRC01, сохраняют свои антигенные свойства в составе рекомбинантного белка пТБИ. Мимотоп VRC01, находясь в составе пТБИ, перестал узнаваться МКА VRC01, вероятно, из-за изменения своей конформации в соответствующем пептидном окружении. Этот факт нужно учитывать в работах по созданию ВИЧ-иммуногенов в будущем. В то же время пТБИ индуцирует антитела, обладающие более высоким уровнем вируснейтрализующей активности по сравнению с антителами к исходному варианту ТБИ_tag. Полученные результаты говорят о том, что искусственные мозаичные полиэпитопные белки можно рассматривать как один из подходов для разработки кандидатных вакцин против ВИЧ-1.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 14-14-00660).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Burton D.R., Hangartner L. Broadly neutralizing antibodies to HIV and their role in vaccine design // *Annu. Rev. Immunol.* 2016. 34. 634–659.
2. Chikaev A.N., Bakulina A.Yu., Burdick R.C., Karpenko L.I., Pathak V.K., Ilyichev A.A. Selection of peptide mimics of HIV-1 epitope recognized by neutralizing antibody VRC01 // *PLoS One.* 2015. 10. (3). 1–13.

3. Eisinger R.W., Fauci A.S. Ending the HIV/AIDS Pandemic // *Emerg. Infect. Dis.* 2018. 24. (3). 413–416.
4. Eroshkin A.M., Karginova E.A., Gileva I.P., Lomakin A.S., Lebedev L.R., Kamyinina T.P., Pereboev A.V., Ignat'ev G.M. Design of four-helix bundle protein as a candidate for HIV vaccine // *Protein Eng.* 1995. 8. (2). 167–173.
5. Fauci A.S. An HIV vaccine is essential for ending the HIV/AIDS pandemic // *JAMA.* 2017. 318. 1535–1536.
6. González N., McKee K., Lynch R.M., Georgiev I.S., Jimenez L., Grau E., Yuste E., Kwong P.D., Mascola J.R., Alcamí J. Characterization of broadly neutralizing antibody responses to HIV-1 in a cohort of long term non-progressors // *PloS One.* 2018. 13. (3). 1–11.
7. Hansted J.G., Pietikäinen L., Hög F., Sperling-Petersen H.U., Mortensen K.K. Expressivity tag: a novel tool for increased expression in *Escherichia coli* // *J. Biotechnol.* 2011. 155. (3). 275–283.
8. Haynes B.F. New approaches to HIV vaccine development // *Curr. Opin. Immunol.* 2015. 35. 39–47.
9. Haynes B.F., Burton D.R. Developing an HIV vaccine // *Science.* 2017. 355. (6330). 1129–1130.
10. Karpenko L.I., Bazhan S.I., Antonets D.V., Belyakov I.M. Novel approaches in polyepitope T-cell vaccine development against HIV-1 // *Expert Rev. Vaccines.* 2014. 13. (1). 155–173.
11. Karpenko L.I., Bazhan S.I., Bogryantseva M.P., Ryndyuk N.N., Ginko Z.I., Kuzubov V.I., Lebedev L.R., Caplina O.N., Reguzova A.Yu., Ryzhikov A.B., Usova S.V., Oreshkova S.F., Nechaeva E.A., Danilenko E.D., Ilyichev A.A. Results of phase I clinical trials of a combined vaccine against HIV-1 based on synthetic polyepitope immunogens // *Russ. J. Bioorgan. Chem.* 2016. 42. (2). 170–182.
12. Karpenko L.I., Ilyichev A.A., Eroshkin A.M., Lebedev L.R., Uzhachenko R.V., Nekrasova N.A., Plyasunova O.A., Belavin P.A., Seregin S.V., Danilyuk N.K., Danilenko E.D., Masysheva V.I., Bazhan S.I. Combined virus like particle-based polyepitope DNA/protein HIV-1 vaccine. Design, immunogenicity and toxicity studies // *Vaccine.* 2007. 25. (21). 4312–4323.
13. Lorenzo-Redondo R., Fryer H.R., Bedford T., Kim E.Y., Archer J., Pond S.L.K., Chung Y.S., Penugonda S., Chipman J., Fletcher C.V., Schacker T.W., Malim M.H., Rambaut A., Haase A.T., McLean A.R., Wolinsky S.M. Persistent HIV-1 replication maintains the tissue reservoir during therapy // *Nature.* 2016. 530. (7588). 51–56.
14. Medina-Ramírez M., Sa'nchez-Merino V., Sa'nchez-Palomino S., Merino-Mansilla A., Ferreira C.B., Pérez I., González N., Alvarez A., Alcocer-González J.M., García F., Gatell J.M., Alcamí J., Yuste E. Broadly Cross-Neutralizing Antibodies in HIV-1 Patients with Undetectable Viremia // *J. Virol.* 2011. 85. 5804–5813.

15. Shcherbakov D.N., Bakulina A.Y., Karpenko L.I., Ilyichev A.A. Broadly neutralizing antibodies against HIV-1 as a novel aspect of the immune response // *Acta Naturae*. 2015. 7. (4). 11–21.

16. Webb N.E., Montefiori D.C., Lee B. Dose-response curve slope helps predict therapeutic potency and breadth of HIV broadly neutralizing antibodies // *Nature Communications*. 2015. 6. 1–10.

ANTIGENIC PROPERTIES OF ARTIFICIAL POLYEPITOPE HIV IMMUNOGEN

**Andrey Pavlovich RUDOMETOV¹, Nadezhda Borisovna ANDREEVA¹,
Anton Nikolaevich CHIKAEV², Nadezhda Sergeevna SHCHERBAKOVA¹,
Olga Nikolaevna KAPLINA¹, Larisa Ivanovna KARPENKO¹**

¹ *State Research Center of Virology and Biotechnology «Vector» of Rospotrebnadzor
630559, Koltsovo, Novosibirsk region*

² *Institute of Molecular and Cell Biology of SB RAS
630090, Novosibirsk, Academician Lavrentiev av., 8/2*

The development of immunogen being capable of providing protection against HIV-1 infection and progression is still topical and unsolved challenge. Since HIV-1 demonstrates strong genetic variability, an efficient vaccine should provide protection against a number of various virus strains. Design of immunogen with capacity to induce broadly neutralizing antibodies to HIV is believed to solve this issue. As distinct from usual antibodies, bNAbs interact with conservative epitopes providing protective immunity to overwhelming majority of HIV strains. Our study **aims to** construct and analyze antigenic features of polyepitope HIV-immunogen nTBI comprising epitopes recognized by bNAbs. **Materials and methods.** We used previously designed TBI protein as molecule-carrier and obtained on this basis protein's modified variant nTBI. It includes epitopes recognized by bNAbs 10E8, 4E10, 2F5, as well as linear mimetic of conformation epitope bNAb VRC01. Immunoblotting was used to analyze antigenic properties of epitopes in composition of nTBI. To purify nTBI, we used metal chelate chromatography. To study immunogenic properties, we immunized rabbits with purified nTBI preparation. Specific activity of sera from immunized rabbits was identified using ELISA. Affine chromatography on protein A was used to obtain IgG from sera of rabbits. Virus-neutralizing activity of purified IgG was detected in neutralization test using recombinant virus HIV-1 92BR025. **Results.** Immunogen nTBI comprising epitopes recognized by bNAbs was constructed. We obtained protein nTBI producer providing production of target protein up to 30 % of the amount of producer cell proteins. We showed that in the context of nTBI protein linear epitopes retain their antigenic properties. When immunizing rabbits, we found nTBI inducing production of antibodies capable of neutralizing recombinant HIV-1 strain 92BR025. **Conclusion.** We demonstrated principal possibility of the use of artificial TBI protein as a scaffold molecule to expose epitopes recognized by broadly neutralizing antibodies.

Key words: HIV-1, polyepitope HIV immunogen, epitopes, broadly neutralizing antibodies, bNAbs.

Rudometov A.P. – post-graduate student, e-mail: rudometov_ap@vector.nsc.ru

Andreeva N.B. – post-graduate student, e-mail: andreeva_nb@vector.nsc.ru

Chikaev A.N. – candidate of biological sciences, researcher, e-mail: chikaev@ngs.ru

Shcherbakova N.S. – candidate of biological sciences, researcher, e-mail: shcherbakova_ns@vector.nsc.ru

Kaplina O.N. – senior researcher, e-mail: okaplina@vector.nsc.ru

Karpenko L.I. – doctor of biological sciences, head of the laboratory, e-mail: karpenko@vector.nsc.ru

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТЕМПЕРАТУРНОГО ПОЛЯ ПРИ ЛАЗЕРКОАГУЛЯЦИИ ХОРИОРЕТИНАЛЬНОГО КОМПЛЕКСА С ПОМОЩЬЮ ОПТОАКУСТИКИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ *IN VITRO*

Алеся Валерьевна АРДАМАКОВА¹, Наталья Анатольевна ФЕДОРУК¹,
Антон Павлович ЛЫТКИН², Андрей Викторович ЛАРИЧЕВ²,
Владимир Иванович СИПЛИВЫЙ³

¹ *НИИ глазных болезней*

119021, г. Москва, ул. Россолимо, 11А, Б

² *Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова*

119991, г. Москва, Ленинские горы, 1

³ *Первый Московский государственный медицинский университет*

им. И.М. Сеченова Минздрава России

119991, Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2

В работе обсуждается способ определения воздействия лазерного излучения с известными параметрами на ткани глазного дна, основанный на использовании оптоакустического зондирования. Маломощный зондирующий лазер с импульсами 7–10 нс генерирует в точке прицеливания акустические волны, распространяющиеся по среде (физиологическому раствору в кювете) до акустического приемника. Характеристики акустической волны позволяют судить о значении в этой точке коэффициента оптического поглощения – величины, определяющей температуру нагревания области после воздействия терапевтического лазера. Для расчета температурного поля используется трехмерная модель теплопроводности, которая позволяет определить распределение температуры в любой точке при нагреве коагулятором, а также после его выключения. Для сравнения с рассчитанным температурным полем проведено прямое измерение температуры на поверхности поглощающего слоя. Всего эксперимент был проведен на шести образцах тканей хориоретинального комплекса человека *in vitro*, полученные значения коэффициента оптического поглощения лежат в диапазоне 120–300 см⁻¹, погрешность определения для каждого составила не более 20 %. Численная модель показала хорошее соответствие с экспериментальными показаниями термпары.

Ключевые слова: коэффициент оптического поглощения, распределение температурного поля, лазеркоагуляция, оптоакустика.

В настоящее время не существует надежного способа контроля лазерного воздействия при проведении лазеркоагуляции. Одним из наиболее перспективных является метод, основанный на явлении оптоакустического эффекта. К его преимуществам относится высокая разрешающая способность по температурной шкале, что позволяет достаточно точно определять степень нагрева выбранной точки при лазеркоагуляции, а также высокая скорость работы, т.е. возможность контроля в режиме реального времени. Метод, основанный на оптоакустическом эффекте, разработан группой немецких ученых [1, 2, 6, 7], од-

нако предложенная ими методика отличается от реализованной в данной работе. В проведенном этой группой исследовании используется постоянное зондирование области коагуляции с целью слежения за изменением амплитуды сигнала [3, 5], которое требует предварительной калибровки для каждого отдельного коагулята. Предлагаемый нами метод основан на исследовании временной зависимости акустического отклика, поэтому не нуждается в такой калибровке [4].

Явление оптоакустического эффекта состоит в следующем. Лазерные импульсы малой длительности способны генерировать акустические

Ардамакова А.В. – аспирант, e-mail: chiz6804@yandex.ru

Федорук Н.А. – к.м.н., старший научный сотрудник, e-mail: sashvada@mail.ru

Лыткин А.П. – аспирант кафедры медицинской физики физического факультета, e-mail: apl-92@bk.ru

Ларичев А.В. – к.ф.-м.н., доцент кафедры медицинской физики физического факультета, e-mail: larichev@optics.ru

Сипливый В.И. – к.м.н., доцент кафедры офтальмологии, e-mail: siplivy_v@mail.ru

волны при поглощении в тканях глазного дна. Форма акустического сигнала для такой волны от одиночного лазерного импульса зависит от параметров этого импульса, таких как длительность и мощность, а также от характеристик ткани в точке его попадания. В биологических тканях все акустические параметры имеют примерно одинаковое значение, а коэффициент оптического поглощения, наоборот, может варьировать в широких пределах даже на глазном дне у одного человека, не говоря о его различиях у разных людей. Форма акустического импульса может быть использована для определения коэффициента оптического поглощения в точке попадания лазера. Поглощение лазерного излучения в тканях глазного дна определяется законом Бугера. Соответственно, распределение поглощенной энергии по глубине будет определять форму акустического импульса, генерируемого поглощающей средой. Кроме того, акустический сигнал будет деформироваться при прохождении через среду вследствие дифракционных эффектов. Однако параметры конечного регистрируемого акустического сигнала могут быть использованы для определения оптического коэффициента поглощения в точке.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В качестве исследуемых образцов использовались аутопсийные ткани глазного дна человека. Образец заднего отдела склеры вместе с хориоретинальным комплексом диаметром 10 мм помещался в экспериментальную кювету. Кювета являлась фактически моделью человеческого глаза, ее диаметр составлял 25 мм. Крышка кюветы

имела входное окошко для заведения лазерного излучения, акустический приемник, регистрирующий сигнал с образца, и отверстие для манипуляций с образцом и заведения термодпары. После расположения образца пространство кюветы заполнялось физиологическим раствором. Последний служил средой для распространения сигнала к приемнику и был выбран из-за наиболее схожих с тканями глаза акустических свойств. Таким образом, вся система «объект – кювета» моделировала клиническую ситуацию.

Схема экспериментальной установки изображена на рис. 1. Основными элементами установки являлись зондирующий лазер (DTL-319QT, НПО «Лазер-компакт», импульсы длительностью 10 нс, энергией 1 мкДж, длина волны 0,527 мкм), терапевтический лазер (Novus Spectra, Lumenis, Израиль, длительное излучение, мощностью до 500 мВт, экспозицией до 1 с, длина волны 0,532 мкм), щелевая лампа, кювета с акустическим приемником, в которой располагался образец тканей глазного дна, и термодпара (IT-24P, Physitemp Instruments, США). Для определения коэффициента поглощения использовали импульсное излучение зондирующего лазера, которое заводилось через прозрачное окно в экспериментальной кювете. Блок управления зондирующим лазером одновременно запускал одиночный лазерный импульс из излучателя и подавал синхронизирующий сигнал на осциллограф. Этот сигнал служил началом записи акустического сигнала с приемника. Сгенерированный лазерный импульс, проходя через систему доставки, попадал в выбранную точку на исследуемом образце. Попадание одиночного импульса генерировало акустиче-

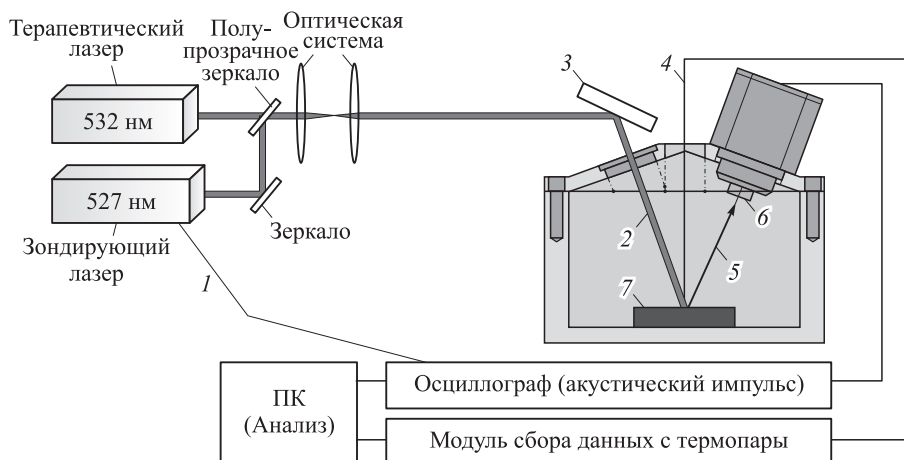


Рис. 1. Принципиальная схема экспериментальной установки. 1 – синхронизирующий сигнал; 2 – лазерное излучение; 3 – зеркало; 4 – термодпара с чувствительным элементом, погруженным в исследуемый образец; 5 – направление акустического импульса, регистрируемого приемником; 6 – приемник; 7 – исследуемый образец

скую волну, которая распространялась от образца во все стороны, в том числе и к акустическому приемнику, который ее регистрировал. Сигнал с приемника фиксировался осциллографом. Форма этого сигнала служила для определения коэффициента оптического поглощения света с длиной волны, как у зондирующего лазера – 0,527 мкм. После получения акустического сигнала в ту же точку, в которую попадал зондирующий лазер, направлялся импульс терапевтического лазера с заранее заданными параметрами – временем экспозиции и мощностью излучения.

Для определения степени воздействия терапевтического лазера на ткань в точке коагуляции использовался метод прямого измерения температуры с помощью термопары, чувствительный элемент которой располагался вблизи от точки попадания лазера на известном расстоянии. Термопара производила измерения во время действия зондирующего лазера и некоторое время после окончания импульса терапевтического лазера. Сигнал с термопары подавался на модуль сбора данных и потом шел на компьютер для последующей обработки. Термопара заводилась в кювету через отверстие в крышке, и ее чувствительный элемент располагался в некоторой выбранной точке исследуемого образца. После этого производилось прицеливание лазером в соседнюю точку, рядом с местом расположения термопары. Взаимное расположение термопары и места попадания лазера (которое определялось с помощью пилотного лазерного излучения) фиксировалось через окуляры щелевой лампы.

Полученные значения температуры, измеренной в эксперименте, сравнивались с расчетными значениями, определяемыми из численной модели. Для определения степени воздействия лазерного излучения на сетчатку использовалась математическая модель. Программа для численного моделирования температурного поля в процессе нагрева хориоретинального комплекса глаза лазером основана на решении уравнения теплопроводности в трехслойной среде, состоящей из пигментного эпителия сетчатки, хориоидеи и стекловидного тела. Распределение температуры сетчатки рассчитывается в трехмерной геометрии в процессе нагрева и остывания при различной мощности и длительности лазерного импульса. Модель хориоретинального комплекса глаза, используемая при численном моделировании уравнения теплопроводности, представлена на рис. 2.

Единственным поглощающим слоем является пигментный эпителий. Стекловидное тело лазерное излучение не поглощает, а содержание меланина в хориоидее минимально, поэтому этим можно пренебречь. Таким образом, единственным

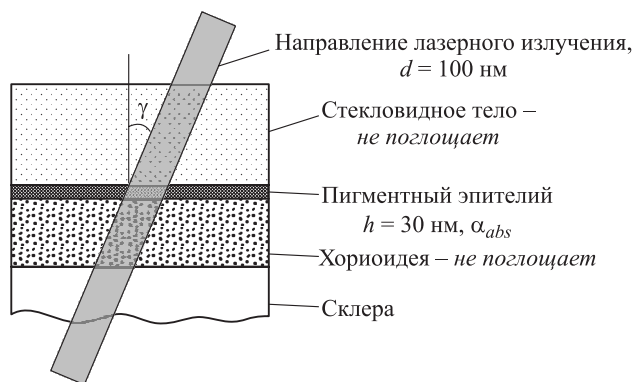


Рис. 2. Модель хориоретинального комплекса глаза

источником тепла служит объем, высекаемый лазерным лучом из слоя пигментного эпителия, толщина которого составляет 30 нм. Областью рассмотрения является параллелепипед со сторонами $[0 \dots L_x = 3000 \text{ мкм}, 0 \dots L_y = 2000 \text{ мкм}, 0 \dots L_z = 600 \text{ мкм}]$. Задача определения температурного поля с заданными источниками тепла – задача теплопроводности. Граничные условия определяются как изменение температуры, равное нулю, так как граничные области расположены достаточно далеко, и до них не доходит температурный фронт. Начальное условие – изменение температуры, равное нулю, так как до начала воздействия терапевтическим лазером все точки исследуемого образца имели одинаковую температуру. Таким образом, конечная задача выглядит следующим образом:

$$\begin{cases} \frac{\partial T}{\partial t} = \chi \Delta T + F(x, y, z, t), \\ T|_{x=0, y=0, z=0, x=L_x, y=L_y, z=L_z} = 0, \\ T|_{t=0} = 0, \end{cases}$$

где функция неоднородности

$$F = f_0(t) \cdot \exp\left(\frac{-\alpha(z - z_c)}{\cos \gamma}\right) \times \exp\left(\frac{-((x - x_c) - (z - z_c) \operatorname{tg} \gamma)^2 \cos^2 \gamma - (y - y_c)^2}{ar_0^2}\right) \times \cos \gamma.$$

Здесь $f_0(t) = \alpha I_0 / \rho C$ – временная зависимость, показывающая, включен ли лазер, $\rho = 993 \text{ кг/м}^3$, $C = 4180 \text{ Дж/(кг } ^\circ\text{C)}$, $\chi = 1,52 \cdot 10^{-7} \text{ м}^2/\text{с}$, первая экспонента описывает бугеровский закон затухания излучения в поглощающей среде, а оставшая часть – геометрию области поглощения лазера, обусловленную падением пучка под углом γ ; (x_c, y_c, z_c) – координаты центра пятна на границе пигментного эпителия и стекловидного тела,

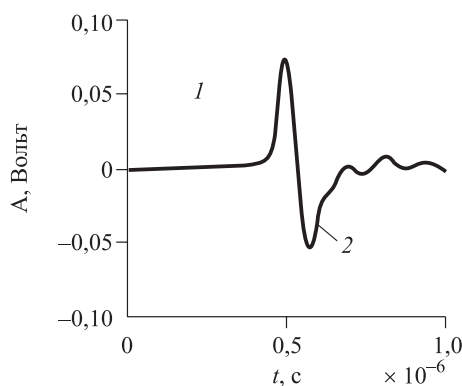


Рис. 3. Пример определения коэффициента поглощения. 1 – акустический импульс, издаваемый тканью при использовании зондирующего лазера. 2 – область, определяющая коэффициент оптического поглощения

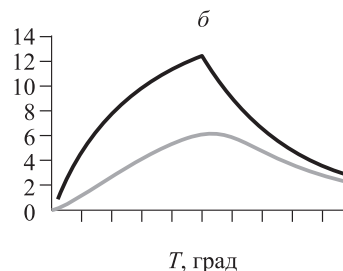
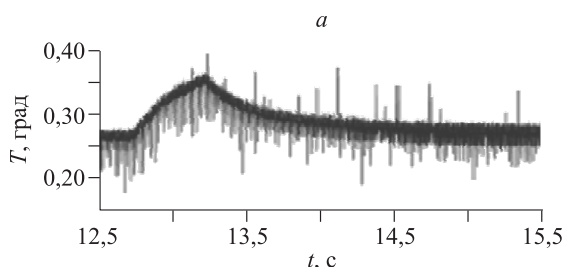


Рис. 4. Температурная зависимость, измеренная при нагревании образца терапевтическим лазером (а – мощность 195 мВт, экспозиция 0,5 с, расстояние до термопары – два диаметра лазерного пятна), и теоретически рассчитанная температурная зависимость для тех же параметров (б – две кривые ограничивают реальную зависимость и определяются погрешностью определения положения термопары, расчет кривых произведен согласно уравнениям математической модели для изменения температуры от начального равновесия)

I_0 – интенсивность, задаваемая на терапевтическом лазере; α – оптический коэффициент поглощения, определяемый из акустического профиля. При этом $T(x, y, z, t)$ – это отклонение от начального значения температуры в точке (x, y, z) в момент времени t .

РЕЗУЛЬТАТЫ

Эксперимент выполнен на шести образцах тканей глазного дна человека, для каждого образца проведены измерения температурной зависимости при наведении лазерного пучка в три различные точки относительно расположения термопары (так, чтобы каждая точка соответствовала различному расстоянию от термопары, а именно – один, два и три диаметра лазерного пятна). Типичный вид используемого акустического профиля представлен на рис. 3. Было проведено сравнение результатов измерения термопары с рассчитанными значениями температурного поля в точке расположения термопары (рис. 4). Для всех образцов полученные значения оптического поглощения лежали в диапазоне 120–300 см⁻¹, погрешность определения для каждого составила не более 20 %.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, использование оптоакустического зондирования может позволить определять степень воздействия терапевтического лазера на глазное дно и предотвращать возможные негативные последствия и побочные эффекты.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов.

БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, грант № 15-09-03905 офи_м.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Framme C., Schuele G., Kobuch K., Flucke B., Birngruber R., Brinkmann R. Investigation of selective retina treatment (SRT) by means of 8 ns laser pulses in a rabbit model // *Lasers Surg. Med.* 2008. 40. (1). 20–27.

2. Kandulla J., Elsner H., Birngruber R., Brinkmann R. Noninvasive optoacoustic online retinal temperature determination during continuous-wave laser irradiation // J. Biomed. Opt. 2006. 11. (4). 041111.
3. Koinzer S., Schlott K., Ptaszynski L., Bever M., Kleemann S., Saeger M., Baade A., Caliebe A., Miura Y., Birngruber R., Brinkmann R., Roeder J. Temperature-controlled retinal photocoagulation – A step toward automated laser treatment // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2012. 53. (7). 3605–3614.
4. Lytkin A., Larichev A., Shmeleva S., Simonova V., Sipliviy V., Ardamakova A., Bolshunov A. Method of temperature control during photocoagulation using optoacoustic technique // Proc. 8th European Meeting on Visual and Physiological Optics, Antwerp, August 22–24, 2006. Antwerp, 2016. 106–108.
5. Schlott K., Koinzer S., Ptaszynski L., Bever M., Baade A., Roeder J., Birngruber R., Brinkmann R. Automatic temperature controlled retinal photocoagulation // J. Biomed. Opt. 2012. 17. (6). 061223.
6. Schuele G., Elsner H., Framme C., Roeder J., Birngruber R., Brinkmann R. Optoacoustic real-time dosimetry for selective retina treatment // J. Biomed. Opt. 2005. 10. (6). 064022.
7. Schuele G., Huttman G., Framme C., Roeder J., Brinkmann R. Noninvasive optoacoustic temperature determination at the fundus of the eye during laser irradiation // J. Biomed. Opt. 2004. 9. (1). 173–179.

DETERMINATION OF THE TEMPERATURE FIELD DURING LASER COAGULATION OF CHORIORETINAL COMPLEX WITH OPTOACOUSTIC *IN VITRO*

Alesya Valerevna ARDAMAKOVA¹, Natalya Anatolevna FEDORUK¹,
Anton Pavlovich LYTKIN², Andrey Viktorovich LARICHEV²,
Vladimir Ivanovich SIPLIVYY³

¹ Research Institute of Eye Diseases
119021, Moscow, Rossolimo str., 11 A, B

² Lomonosov Moscow State University
119991, Moscow, Leninskie mtn., 1

³ Sechenov University
119991, Moscow, Trubetskaya str., 8-2

The article describes a determination method of the laser radiation with specific parameters effect on the eye tissues based on optoacoustic probing. Low-power probing laser with 7–10 ns pulses generates acoustic waves at the aiming point. The waves propagate through the medium (saline in a cuvette) to acoustic receiver. The characteristics of the acoustic wave give basis for estimation of optical absorption coefficient – a parameter that determines temperature in the affected area after applying therapeutic laser. Calculation of the temperature pattern was performed using a three-dimensional thermal conductivity model that enabled determination of temperature distribution at any local point during coagulation and immediately after. To compare the results with pre-calculated temperature field values, direct temperature measurement was taken from the surface of the absorbing layer. The experiment was performed on six human chorioretinal tissue samples *in vitro*; the obtained optical absorption coefficient values did not exceed 120–300 cm⁻¹ with maximum error margin of 20 %. The computational model was seen to be in good agreement with experimental thermocouple measurements.

Key words: optical absorption coefficient, temperature field distribution, laser coagulation, optoacoustics.

Ardamakova A.V. – postgraduate student, e-mail: chiz6804@yandex.ru

Fedoruk N.A. – candidate of medical sciences, senior researcher, e-mail: sashvada@mail.ru

Lytkin A.P. – postgraduate student, e-mail: apl-92@bk.ru

Larichev A.V. – candidate of physical mathematical sciences, associate professor, e-mail: larichev@optics.ru

Sipliviy V.I. – candidate of medical sciences, associate professor, e-mail: siplivy_v@mail.ru

ОЦЕНКА СИНДРОМА ВНУТРИЧЕРЕПНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ ПО ДАННЫМ СВЕРХВЫСОКОПОЛЬНОЙ МАГНИТНО-РЕЗОНАНСНОЙ ТОМОГРАФИИ

Андрей Юрьевич ЛЕТЯГИН^{1,2}, Юрий Иванович БОРОДИН¹

¹ *НИИ клинической и экспериментальной лимфологии – филиал ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН 630060, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2*

² *НИИ физиологии и фундаментальной медицины 630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 4*

Цель – оценить вклад возрастных и индивидуальных особенностей мозгового черепа, очагов в структурах центральной нервной системы (ЦНС), патоморфологических изменений ликвосодержащих пространств и ангиоцеребральных структур, визуализируемых при сверхвысокопольной магнитно-резонансной томографии (свпМРТ), в формирование синдрома внутричерепной гипертензии (ВЧГ). Внутричерепное давление (ВЧД) – фундаментальный биофизический параметр головного мозга, результат перфузии и диффузии на уровне гематотканевых, гематоликворных, ликворотканевых контактов, формирующих гематоэнцефалический барьер (ГЭБ), и ликворолимфатических контактов, формирующих ликворолимфатический барьер (ЛЛБ). Нарушения венозной церебральной гемодинамики и ликвородинамики снижают возможности дренирования субарахноидального пространства головного и спинного мозга, а «избыток» цереброспинальной жидкости (ЦСЖ) в статичном объеме мозгового черепа вызывает ВЧГ. Это проявляется в виде нарушения перфузионных и диффузионных процессов, микроочагов в структурах нервной ткани головного и спинного мозга, в изменениях сосудов головного мозга, ликворосодержащих пространств и ликворолимфатических контактов. Клинически на фоне ВЧГ формируется симптомокомплекс головной боли и снижаются функциональные способности ЦНС. Прямое измерение ВЧД – инвазивная процедура с нарушением целостности твердой мозговой оболочки. Поэтому для индивидуальной диагностики механизма повышения ВЧД у 249 пациентов с клиническими проявлениями ВЧГ были проанализированы биомаркеры (патоморфологические находки при свпМРТ): гидроцефально-гипертензионно-отечного синдрома, резидуальных церебральных изменений, неблагоприятных анатомических вариантов строения мозгового черепа и тканей головного мозга, последствий развития гидроцефально-гипертензионно-отечного синдрома, неблагоприятных вариантов строения церебральной сосудистой сети и гемодинамики.

Ключевые слова: сверхвысокопольная магнитно-резонансная томография, внутричерепное давление, гематоэнцефалический барьер, ликворолимфатический барьер, цереброспинальная жидкость, синдром внутричерепной гипертензии.

Внутричерепная гипертензия (ВЧГ) клинически диагностируется во всех возрастно-половых группах, и ее наличие, как правило, отягчает течение основного неврологического заболевания. Клиническая картина ВЧГ часто сочетается лишь с минимальными морфологическими изменениями, поэтому актуальным является поиск материального субстрата нарушенного обмена жидкостных сред ЦНС, исходя из положения, что это будут изменения ангиоцеребрального происхождения (преходящие нарушения кровообращения, микроострые нарушения мозгового кровообращения (микроОНМК), микрогеморрагии), посттравматические изменения ликворных

пространств и их сосудистых оболочек (микрогеморрагии и рубцово-кистозные изменения), изменения в зонах ГЭБ и ЛЛБ.

В последние 25–30 лет «золотым стандартом» прижизненного морфологического исследования ЦНС является свпМРТ, позволяющая получать изображения тканей ЦНС с высоким разрешением на уровне микро- и макроморфологического исследования, с детализацией, сопоставимой с результатами патолого-анатомического вскрытия [7]. Пути циркуляции цереброспинальной жидкости четко визуализируются на Т2-ВИ для селективной визуализации свободной жидкости, с факультативным использованием МР-технологий «гашения»

Летягин А.Ю. – д.м.н., проф., руководитель, e-mail: letyagin-andrey@yandex.ru

Бородин Ю.И. – д.м.н., проф., академик РАН, главный научный сотрудник

тканей. Адекватная оценка морфологических изменений требует параллельного функционального анализа процесса ликвородинамики, который можно подразделить на три основных: образование, циркуляция и реабсорбция ЦСЖ [2].

Образование ЦСЖ происходит в хориоидальных сплетениях желудочков и в эпендиме боковых и крыше III желудочка: считается, что 90 % цереброспинальной жидкости фильтруется из крови, а 10 % образуется метаболическим путем в тканях головного мозга [5]. Процесс дренирования мозговой ткани (образование интерстициальной жидкости) идет параллельно с венозной частью микроциркуляторного кровотока, осуществляясь через внесосудистый лимфатический путь («glymphatic» pathway) [11, 12, 16], далее, через паравазальные пространства Вирхова – Робина (VRS) церебральных сосудов, в субарахноидальные пространства [13], при этом VRS имеют тесный, но не прямой контакт с субарахноидальным пространством и с ЦСЖ [15]. У взрослого в норме скорость образования ЦСЖ составляет до 0,35–0,4 мл/мин, или около 500 мл/сутки, т.е. полная смена ЦСЖ происходит 3–4 раза в сутки при постоянном объеме 120 ± 30 мл: в боковых желудочках – до 15 мл, в III и IV желудочках и Сильвиевом водопроводе – 5 мл, в субарахноидальных пространствах головного мозга – 25 мл, спинного мозга – 75 мл, а ВЧД колеблется в пределах 65–195 мм вод. ст. [5].

Увеличение образования ЦСЖ может происходить за счет повышения проницаемости микрососудов мягкой мозговой и сосудистой оболочек, а также в патологических очагах мозговой ткани (в зонах травмирования, кровоизлияния, ишемизации, склерозирования и кистозных изменений). Это провоцирует гиперсекреторную (сообщающуюся) гидроцефалию за счет нарушения ГЭБ в острой фазе черепно-мозговой травмы или микроинсульта, а в хронической фазе имеется волнообразное течение – ГЭБ восстанавливается для крупных биомолекул, но проницаемость для воды остается повышенной.

Циркуляция ЦСЖ. Из боковых желудочков (V1 и V2) через отверстия Монро ЦСЖ попадает в V3, и через Сильвиев водопровод – в V4, и через парные отверстия Люшка и непарное отверстие Мажанди – в ретроцеребеллярную часть мозго-мозжечковой цистерны, затем – часть в базальные цистерны и далее в субарахноидальное пространство по поверхностям полушарий головного мозга по сложной траектории, часть – в ликворное пространство спинного мозга до конечной цистерны.

Нарушение циркуляции ЦСЖ в хронической фазе и в отсроченный период после нарушения

и частичного восстановления ГЭБ манифестируется на МР-томограммах гидроцефальными проявлениями двух видов.

1. Оклюзионная гидроцефалия возникает при склерозировании мягкой оболочки вследствие кровоизлияния, асептического воспаления, инфекции, опухолевого процесса; врожденной рестрикции или атрезии, при формировании спаек или патологических замкнутых жидкостных полостей с тонкими фиброзными стенками (кист). При этом происходит деформация и субокклюзия путей ликвороциркуляции или их локальное расширение выше уровня окклюзии, если изменения находятся в таких гидродинамически значимых зонах, как отверстия Монро, Сильвиев водопровод, отверстия Мажанди и Люшка, ретроцеребеллярная часть мозжечково-мозговой цистерны, уровень большого затылочного отверстия (БЗО).

2. Атрофическая гидроцефалия (hydrocephalus ex vacuo) проявляется в виде диффузного расширения ликворосодержащих пространств ЦНС в желудочках и субарахноидально по поверхности полушарий, ствола мозга и спинного мозга, например, у геронтов и при церебральных атрофических процессах, подобных синдрому Адамса – Хакима – Фишера [8]. При этом разделяют гидроцефалию с нормальным или низким ВЧД (пассивная гидроцефалия) и высоким ВЧД (активная гидроцефалия). Последний вариант имеет паравентрикулярную отечность на МРТ-технологиях типа FLAIR, а для регистрации атрофии используется технология SPGR (модифицированная T1-WI).

Абсорбция ЦСЖ происходит в двух направлениях: а) в венозную кровь ЦСЖ реабсорбируется через Пахионовы грануляции парасагитальной локализации, б) в лимфатические сосуды (собирающиеся затем в яремный лимфатический проток), что было показано в острых опытах на собаках по изменению уровня рефрактометрического индекса лимфы при создании в субарахноидальном пространстве повышенного или пониженного давления ликвора [1]. В лимфатическую систему ЦСЖ абсорбируется, преодолевая ЛЛБ в дубликатах твердой мозговой оболочки вокруг черепных нервов по основанию мозга – вокруг интраглазничной части зрительного нерва, вокруг Гассеровых узлов – в карманах Меккеля (Meckel's cave), вдоль стато-акустических и подъязычных нервов, в муфтах (дубликатах) твердой мозговой оболочки вокруг спинальных корешков на протяжении всего позвоночного столба и в конечной цистерне [3, 9]. Глазнично-лицевой ликворолимфатический путь из межвлагалищного пространства зрительного нерва в подчелюстные

лимфатические узлы является достаточно значимым путем оттока ЦСЖ [4]. Механизм абсорбции ЦСЖ в арахноидальных выростах и в ликворолимфатических контактах – за счет разницы ВЧД (в норме 20–50 мм вод. ст., при ВЧГ – до 200 мм вод. ст.) и давления в венозных синусах головного мозга (в норме 60–70 мм вод. ст.), и гидростатического давления в лимфатических капиллярах в тканях основания черепа и позвоночного столба (в норме 0–800 мм вод. ст.). При ВЧГ абсорбция в венозную и лимфатическую системы линейно возрастает по градиенту гидростатического давления в зависимости от соотношения дренажных потенциалов, зависящих в первую очередь от баланса уровня ЦВД и степени блока лимфотока через синусы регионарных лимфоузлов. Имеются также другие механизмы, в том числе – активного клеточного транспорта, рассмотрение которых выходит за рамки данной работы.

При блокировании эвакуации ЦСЖ в венозную и лимфатическую системы будет развиваться арезорбтивная (сообщающаяся) гидроцефалия с дисбалансом ВЧД, но у каждого пациента – по индивидуальному механизму.

При хронических нарушениях абсорбции ЦСЖ в зоне ликворолимфатических контактов образуются псевдокистозные скопления жидкости (линейными размерами от 0,1 до 7–9 мм), которые являются биомаркерами ВЧГ. В клинической картине могут отмечаться кратковременные неврологические нарушения (частичная потеря обоняния, временное снижение слуха, сужение полей зрения, кожные гиперестезии или парестезии, тики мимической мускулатуры, преходящие нарушения глотания и речи, и др.).

Считается, что патологические очаговые изменения в мозговой ткани (результат гипоксии, нарушений гемодинамики по ишемическому или геморрагическому типам, воспалительных асептических и септических очагов, прогрессирования опухолевой ткани) вызывают повышение ВЧД по следующим фазам с различными патологическими механизмами [5].

1. Цитотоксический (аноксический) отек в острой ситуации связан с изменением активности $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -зависимой АТФ-азы в нейронах; визуализируется на DW-WI в виде аномального снижения сигнала (ограничения диффузии).

2. Вазогенный отек в подострой фазе обусловлен диффузным повышением проницаемости эндотелиальных клеток капилляров и развитием межклеточного (интерстициального) отека; что визуализируется на FLAIR-WI в виде очагового или облаковидного повышения сигнала. При этом увеличивается объем ткани головного мозга, а дефицит объема абсорбции ЦСЖ «ком-

пенсирован» снижением объема артериального притока (что усиливает гипоксию) и уменьшением объема ЦСЖ (сокращается объем ликворных пространств), поэтому на МР-томограммах визуализируются узкие «поджатые» желудочки, с паравентрикулярной отечностью и вазогенным отеком сосудистых сплетений (на FLAIR-WI и DIR-WI).

3. Глиозно-микрокистозная диффузная дегенерация в хронической фазе обусловлена диффузным (в виде множественных очагов) замещением нейронов глиальными элементами или, при неблагоприятном течении, микрокистозным увеличением содержания жидкости в паравазальных пространствах Диссе, которые в норме имеют размер до нескольких микронов, а при патологии расширяются до нескольких сот микронов и распространяются вдоль артериол, венул и до мелких вен, на расстояния до нескольких сантиметров из белого вещества вплоть до коры полушарий, где имеют прямой контакт с субарахноидальным пространством головного мозга. Микроглиозные и микрокистозные паравазальные очаги визуализируются на T2-WI в виде повышения сигнала, а на T1-WI и FLAIR-WI – в виде снижения сигнала. Сеть расширенных пространств Диссе обеспечивает повышенный объем продукции и оттока ЦСЖ в субарахноидальные пространства, что может стать причиной увеличения объема субарахноидальных ликворных пространств (наружная гидроцефалия).

При повышенной ликворопродукции и достаточной гемоциркуляции, на фоне низкого ВЧД по стенкам желудочков в структурах белого вещества регистрируется перивентрикулярная отечность – доброкачественная внутричерепная гипертензия (pseudotumor cerebri), в настоящее время связываемая с атрофическими изменениями нервной ткани головного мозга в хронической фазе нейропатологических процессов.

У реального пациента нарушение количественного баланса объема ЦСЖ и ВЧД может зависеть от параллельного наличия различных фаз процессов (острой, подострой, хронической), например, при повторной спортивной травме, при повторном микроинсульте. Также сложно представить развитие синдрома ВЧГ изолированно по нарушению одного из процессов (образование – циркуляция – абсорбция ЦСЖ). Логичнее и патогенетически корректнее было бы его именовать гипертензионно-гидроцефально-отечным синдромом, представляющим собой проявление гипоксическо-ишемической энцефалопатии [5], что в большинстве зарубежных и отечественных неврологических школ считается одной из основных патогенетических фаз формирования ВЧГ.

Таким образом, взаимоотношения между объемом ликвора (размеры ликворных пространств), ликворного давления (ВЧД) и состояния мозговой ткани можно формально описать в виде сочетания вариантов ($3 \times 3 \times 4$):

1. ВЧД: пониженное – нормальное – повышенное (по наличию или отсутствию морфологических МРТ-биомаркеров).

2. Объем ЦСЖ: пониженный – нормальный – повышенный (по морфометрическим данным на T1-WI и на T2-WI).

3. Состояние нервной ткани: норма – цитотоксическая отечность – межклеточная отечность – глиозно-микрокистозные изменения (по регистрации на МРТ-последовательностях DWI-WI, FLAIR, T2-WI).

В настоящее время отсутствуют неинвазивные диагностические технологии для прямого определения внутричерепного давления, но с помощью технологий свпМРТ можно разделить: 1) проявления гидроцефально-гипертензионно-отечного синдрома, 2) резидуальные очаговые изменения, провоцирующие повышение ВЧД, 3) неблагоприятные анатомические варианты строения мозгового черепа, сосудов и тканей головного мозга – как причинные факторы повышенного ВЧД, 4) последствия развития синдрома повышенного ВЧД.

В связи с вышесказанным была поставлена цель: оценить вклад патологических, возрастных и индивидуальных особенностей в формирование синдрома ВЧД, ориентируясь на морфологические изменения структур мозгового черепа, тканей ЦНС, состояния ликвосодержащих пространств и ангиоцеребральных структур, визуализируемых на свпМРТ.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Критерии включения в исследование: мужчины или женщины в возрасте от 18 до 69 лет; дети и подростки в возрасте от 6 до 17 лет (которые могли пройти свпМРТ без анестезиологического пособия); предварительные диагнозы «преходящие мnestические или сенсорные нарушения», «головные боли», «головокружения», «вегетососудистая дистония», «преходящие нарушения кровообращения в вертебробазилярном бассейне» в подостро-хронической или хронической стадиях; подписанное информированное согласие на свпМРТ.

Критерии исключения: общие заболевания (тяжелой степени) и/или нестабилизированные состояния (злокачественные новообразования, артериальная гипертензия 3-й степени, инсульт

Таблица 1

Количество пациентов, вовлеченных в исследование

Возраст, лет	Всего	Мужчины	Женщины
6–17	27	16	9
18–29	46	9	37
30–39	44	17	27
40–49	45	12	33
50–59	42	16	26
60–69	45	11	34
«Норма»	38	10	28
Всего	287	91	194

в острой или остро-подострой стадиях, эпилепсия, инфекционные заболевания); состояния, затрудняющие аудиовизуальный контакт; наличие одного из общих противопоказаний для свпМРТ и/или явлений клаустрофобии.

Были использованы МР-томограммы пациентов без выраженной топической неврологической патологии, без острой травмы, без МРТ-очагов ОНМК в острой фазе, поступивших на МРТ-обследование головного мозга и шейного отдела позвоночника по направлениям врачей-невропатологов из медучреждений г. Новосибирска и Новосибирской области. Оценивалась достаточная выборка пациентов ($n = 249$), разделенная на шесть возрастных подгрупп (табл. 1). Исследование получило одобрение Комитета по биомедицинской этике НИИ физиологии и фундаментальной медицины. Им выполнялась комплексная МРТ головы и шейного отдела позвоночника с бесконтрастной МР-ангиографией по технологии Velocity (3D-PHAS), с последующей 3D-обработкой по технологиям MIP и 3D-представления поверхности.

Gd-контрастные препараты ни в одном случае не применялись, поскольку известно, что в норме они не переносятся через ГЭБ (минимально переносятся только в зонах острых поражений) и не накапливаются в ликворолимфатических контактах (поскольку массоперенос в них идет из субарахноидального пространства в корни лимфатической системы – через ЛЛБ в лимфатические капилляры). Аналогично – при подостро-хронической и хронической фазах очаговых изменений нервной ткани и мозговых оболочек перенос Gd-содержащего препарата через ГЭБ не происходит, и, далее, в дренажной среде (ЦСЖ) он не выявляется, что соответствует экспериментальным данным [14].

Исходя из технологических основ формирования МРТ-последовательностей и опыта радио-

лого-патоморфологических сопоставлений [7], можно утверждать, что МРТ-визуализационные находки соответствуют реальным патофизиологическим изменениям, а критериями нормы служат известные анатомические и биометрические показатели.

Группа «Норма» была сформирована из 28 человек, не предъявляющих каких-либо неврологических жалоб, без «неврологического» анамнеза (см. табл. 1).

Для МРТ-визуализации использовался сверхвысокопольный МРТ-сканер Discovery 750w (GE, США) с магнитом 3,0 Тл, радиочастотным усилителем 30 кВт, охлаждаемыми градиентными катушками и поверхностной специализированной катушкой, с возможностью высокого разрешения при изовоксельной визуализации, с МРТ-технологиями (SPGR 3D, T2-WI, T2-FLAIR, T2*-WI (GRE), DWI-WI (с расчетом ADC-card)), с МР-ангиографией по технологии PHAS 3D (Velocity).

Морфометрический и визуальный анализ полученных МР-томограмм в формате DICOM был реализован с помощью программ-просмотрщиков Radiant DICOM-Viewer v.4.5.15beta и OsiriX, имеющих морфометрические инструменты для линейных измерений. Биомаркеры фиксировались в разработанном протоколе, в котором отмечались отклонения от анатомической нормы. Случаи наблюдения оценивались по наличию морфологических проявлений ВЧГ, по состоянию венозных церебральных коллекторов и по наличию микроочаговых изменений ангиоцеребрального генеза. Частотный анализ проводился с учетом размера выборок (n), рассчитывался процент наличия биомаркера ($X\%$) в выборке и его стандартное отклонение σ , %. При этом уровень

значимости был ограничен десятиными долями процента. Различие частоты обнаружения биомаркера в выборках (p) оценивалось по уровню значимости расчетного двухвыборочного t -теста.

РЕЗУЛЬТАТЫ

К биомаркерам гидроцефально-гипертензионно-отечного синдрома были отнесены (табл. 2):

1) «поджатые» желудочки (симптом, указывающий на развитие ВЧГ, проявлялся у каждого второго только в группах 18–29 и 30–39 лет, в других группах присутствовал на уровне ~30–44 %, что не различалось с группой «Норма»);

2) перивентрикулярная отечность на FLAIR (симптом, указывающий на развивающийся межклеточный (интестициальный) отек, у обследованных встречался в единичных случаях);

3) ускорение ликвотока в предмостовом пространстве, в Сильвиевом водопроводе, в отверстиях Можанди и Люшка (по локально-линейному снижению МР-сигнала на стандартных последовательностях), что указывает на наличие ВЧГ (в контроле не выявлялось, но в группах наблюдения имелась тенденция к нарастанию от ~14 % у детей до ~20 % в группе 60–69 лет).

К биомаркерам резидуальных церебральных изменений, дающим вклад в формирование ВЧГ, были отнесены следующие (табл. 3):

1. Диффузное расширение VRS в базальных структурах, в субкортикальном и глубоком белом веществе полушарий головного мозга, что в большей степени указывает на перенесенные изменения в состоянии ГЭБ, развивающиеся в посттравматическом и в постишемическом периодах (в том числе – в посткризовом периоде при артериальной гипертензии); это указывает

Таблица 2

Выявляемость биомаркеров гидроцефально-гипертензионно-отечного синдрома

Параметр	Возрастная группа пациентов, лет						«Норма»
	6–17	18–29	30–39	40–49	50–59	60–69	
Всего	27	46	44	45	42	45	38
«Поджатые» желудочки	12 (44,44 ± 9,56)	23* (50,00 ± 7,37)	22* (50,00 ± 7,53)	15 (33,33 ± 7,02)	13 (30,95 ± 7,13)	15 (33,33 ± 7,02)	10 (26,31 ± 7,14)
Наличие перивентрикулярной отечности на FLAIR	–	–	–	1 (2,22 ± 2,19)	1 (2,38 ± 2,35)	2 (4,44 ± 3,07)	1 (2,63 ± 2,59)
Ускорение ликвотока	4* (14,81 ± 6,83)	2 (4,34 ± 3,00)	5* (11,36 ± 4,78)	5* (11,11 ± 4,68)	4* (9,52 ± 4,52)	9** (20,00 ± 5,96)	0

Примечание. Здесь и в табл. 3–7 данные представлены в виде n ($X\% \pm \sigma\%$); обозначены статистически значимые отклонения от соответствующих показателей группы «Норма»: * – при $p < 0,05$, ** – при $p < 0,01$, *** – при $p < 0,01$.

Таблица 3

Выявляемость биомаркеров резидуальных церебральных изменений

Параметр	Возрастная группа пациентов, лет						«Норма»
	6–17	18–29	30–39	40–49	50–59	60–69	
Всего	27	46	44	45	42	45	38
Расширение паравазальных пространств	26*** (96,29 ± 3,63)	34* (73,91 ± 6,47)	43*** (97,72 ± 2,24)	40** (88,88 ± 4,68)	40** (95,23 ± 3,28)	43*** (95,55 ± 3,07)	18 (47,36 ± 8,09)
Микрокисты внутрижелудочковых сосудистых сплетений	27*** (100,00 ± 0,00)	26 (56,52 ± 7,30)	37*** (84,09 ± 5,51)	30* (66,66 ± 7,02)	31** (73,80 ± 6,78)	39*** (86,66 ± 5,06)	15 (39,47 ± 7,92)
Постгеморрагические микрокисты во внутрижелудочковых сосудистых сплетениях	1 (3,70 ± 3,63)	5 (10,86 ± 4,58)	15* (34,09 ± 7,14)	16* (35,55 ± 7,13)	20** (47,61 ± 7,70)	23*** (51,11 ± 7,45)	5 (13,15 ± 5,48)
Склерозирование внутрижелудочковых сосудистых сплетений	26*** (96,29 ± 3,63)	32* (69,56 ± 6,78)	38*** (86,36 ± 5,17)	39** (86,66 ± 5,06)	38*** (90,47 ± 4,52)	40*** (88,88 ± 4,68)	16 (42,10 ± 8,00)
Ликворные кисты на уровне БЗО	15*** (55,55 ± 9,56)	19** (41,30 ± 7,25)	15* (34,09 ± 7,14)	7 (15,55 ± 5,40)	11 (26,19 ± 6,78)	7 (15,55 ± 5,40)	5 (13,15 ± 5,48)
Расширение задних рогов боковых желудочков	3 (11,11 ± 6,04)	7 (15,21 ± 5,29)	6 (13,63 ± 5,17)	9 (20,00 ± 5,96)	13* (30,95 ± 7,13)	14* (31,11 ± 6,90)	4 (10,52 ± 4,97)
«Шпоры» задних рогов боковых желудочков	24*** (88,88 ± 6,04)	21 (45,65 ± 7,34)	31** (70,45 ± 6,87)	25 (55,56 ± 7,40)	20 (47,61 ± 7,70)	25 (55,56 ± 7,40)	14 (36,84 ± 7,82)
Расширение III желудочка	4 (14,81 ± 6,83)	1 (2,17 ± 2,15)	3 (6,81 ± 3,79)	7 (15,55 ± 5,40)	7 (16,66 ± 5,75)	16*** (35,55 ± 7,13)	2 (5,26 ± 3,62)

на гиперсекреторный механизм повышения ВЧД (у пациентов группы «Норма» эти изменения присутствовали в ~47 % случаев, а в группах наблюдения – до ~73–97 %).

2. Избыточное развитие соединительной ткани и/или образования микрокист во внутрижелудочковых сосудистых сплетениях, наличие микроколичеств метаболитов гемоглобина (последствия микрокровоизлияний, рис. 1); во всех случаях повышенная продукция ликвора формирует ВЧГ по гиперсекреторному типу. Встречаемость микрокист сосудистых сплетений желудочков в контрольной группе составляла ~40 %, в группе детей – до ~100 %, в остальных – от ~56 до ~86 %. Выявляемость постгеморрагических изменений повышалась с возрастом от ~3,7 % (у детей) до ~51 % в группе 60–69 лет, хотя в группе «Норма» они также выявлялись в ~13 % случаев. Склерозирование внутрижелудочковых сосудистых сплетений в группах наблюдения достигало ~70–96 % (в контроле – ~42 %).

3. Гигроматозно-кистозные изменения в базальных субарахноидальных пространствах вызывают ликвородинамические нарушения, про-

воцирующие преходящее повышение ВЧД по окклюзионному типу. В когорте наших пациентов не обнаружено ни субблока Сильвиевого водопровода, ни расширения IV желудочка, хотя ликворные кисты на уровне БЗО в ретроцеребеллярной зоне выявлялись приблизительно в 55 % случаев среди лиц детской группы, ~34 % – в группе 30–39 лет, у более взрослых пациентов – в диапазоне ~15–26 %, что не отличалось от контрольных значений (~13 %).

4. Боковые желудочки «кольпоцефалической формы» с расширением задних рогов более верхней границы нормы либо с ликворсодержащими «шпорами» задних рогов свидетельствуют о начале гидроцефальной реакции с расширением желудочков (аналогично, но реже, расширяется III желудочек); признак формируется как за счет «экстензорного» действия избыточного количества ликвора, так и за счет вторичной диффузной гипотрофии мозговой ткани, но в любом варианте это будет манифестация ВЧГ или его последствий. В группе детей и в группе пациентов 18–29 лет расширение задних рогов боковых желудочков встречалось с той же частотой, что и в

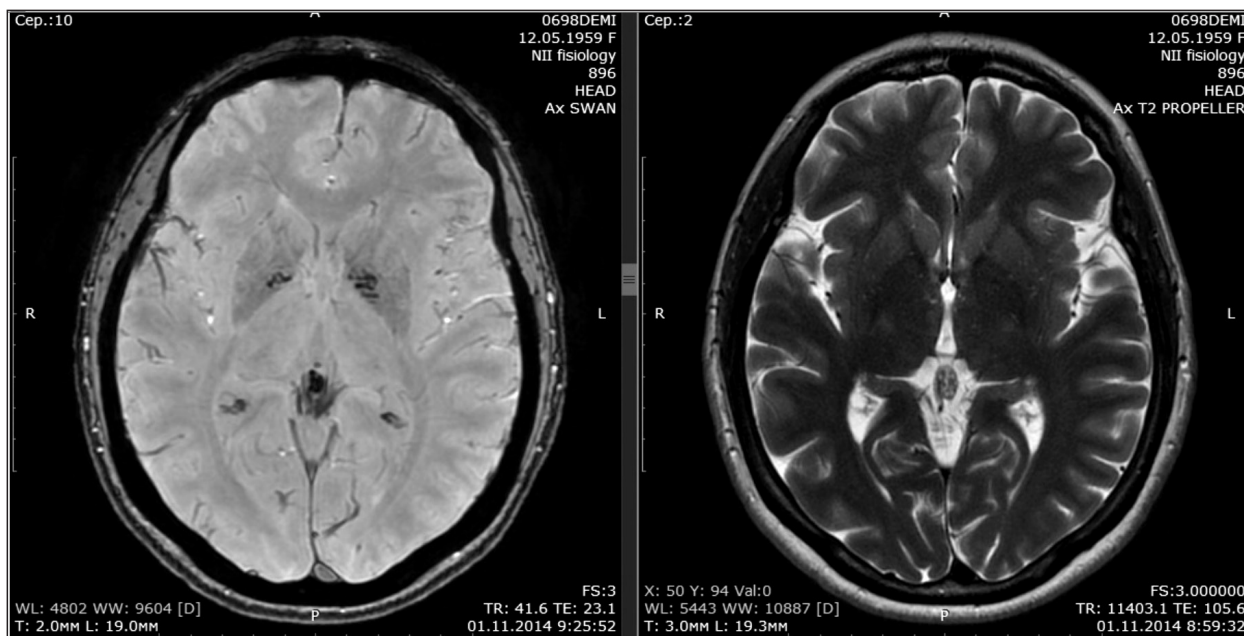


Рис. 1. Постмикроемorrhagические кистозные изменения в эпифизе, в коленах обеих внутренних капсул, в сосудистых сплетениях; томограммы T2*-WI (слева) и T2-WI (справа) выполнены в одинаковых геометрических координатах

контрольной группе (~10–11 %), с возрастом прогрессирующе повышаясь до ~31 %. Аналогичная ситуация была и с расширением III желудочка: в контроле – до ~5 %, с повышением до ~35 % в группе 60–69 лет. Формирование «шпор» задних рогов боковых желудочков носит обратный характер: у детей и пациентов 30–39 лет они выявлялись в ~70–88 % случаев, в остальных группах – на уровне ~45–55 % (без отличий от контроля, где таких случаев было ~36 %).

К биомаркерам неблагоприятных анатомических вариантов строения мозгового черепа и тканей головного мозга были отнесены следующие (табл. 4):

1. Субклинивание миндалин мозжечка в БЗО (при их низком расположении в виде синдрома «тесной задней черепной ямки (ЗЧЯ)»), что провоцирует субблок или переходящие лик-

вородинамические нарушения на уровне предмостовой, ретроцеребеллярной или четверохолмной части мозжечково-мозговой цистерны; эта ситуация акцентируется с возрастом («опущение» миндалин мозжечка) или существует изначально за счет ликворных кист (см. выше), образующихся в этой зоне, чаще во время родовой травмы. В контрольной группе встречаемость была ~28 %, в экспериментальных группах – на уровне ~45–80 %, с тенденцией повышения с возрастом (рис. 2).

2. Асимметричное строение мозгового черепа с субокклюзией субарахноидальных пространств как параконвексально, так и на уровне ЗЧЯ. В контрольной группе встречаемость ~13 %, что не отличалось от групп 30–39, 40–49 и 50–59 лет, но в группах 6–17 и 18–29 лет, как и в группе 60–69 лет, – ~34–44 %.

Таблица 4

Выявляемость биомаркеров неблагоприятных анатомических вариантов

Параметр	Возрастная группа пациентов, лет						«Норма»
	6–17	18–29	30–39	40–49	50–59	60–69	
Всего	27	46	44	45	42	45	38
Субклинивание миндалин мозжечка в БЗО (синдром «тесной ЗЧЯ»)	16* (59,25 ± 9,45)	21 (45,65 ± 7,34)	22 (50,00 ± 7,53)	27** (60,00 ± 7,30)	25** (59,52 ± 7,57)	36*** (80,00 ± 5,96)	11 (28,94 ± 7,35)
Асимметричная форма черепа	12** (44,44 ± 9,56)	16* (34,78 ± 7,02)	10 (22,72 ± 6,31)	8 (17,77 ± 5,69)	8 (19,04 ± 6,05)	16* (35,55 ± 7,13)	5 (13,15 ± 5,48)

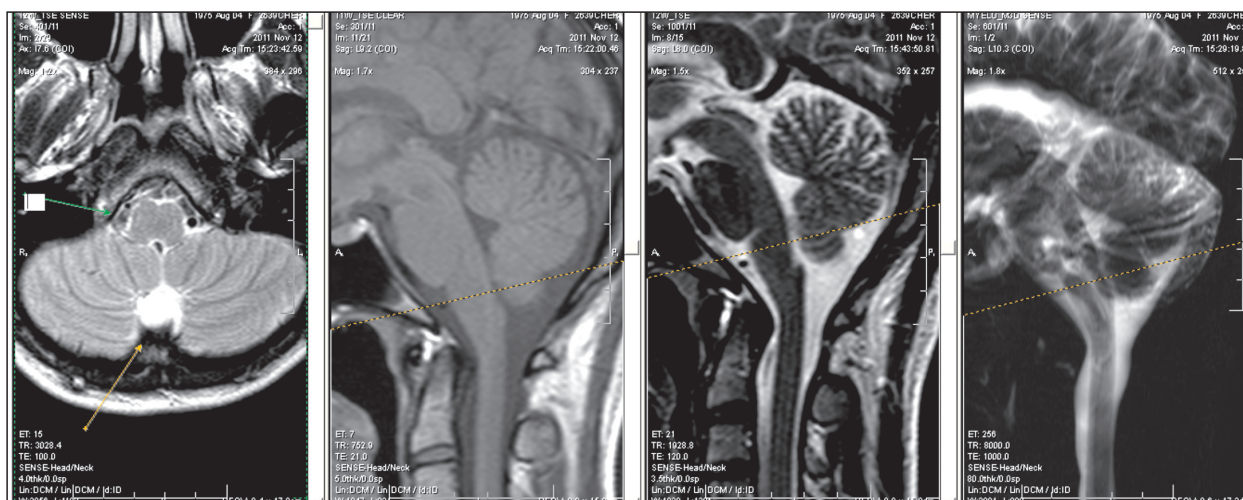


Рис. 2. Субблок на уровне мозжечково-мозговой цистерны: сужение предмостовой части со значительным ускорением ликвотока (стрелка с «флажком») и ликворная киста (стрелка) ретроцереbellарной части цистерны; слева направо срезы: T2-WI – аксиальный, T1-WI – сагиттальный, T2-WI – сагиттальный; на сагиттальных срезах пунктиром показана ориентация левого аксиального T2-WI

К биомаркерам последствий развития гидроцефально-гипертензионно-отечного синдрома, как «универсального» проявления ВЧГ любого генеза, были отнесены следующие проявления (табл. 5):

1. Грыжа (киста) оптохиазмальной цистерны (аналог «пустого турецкого седла»); форма гипофиза при этом резко изменяется, визуализируются отечные микроочаги в передней доле органа и диффузная отечность в гипоталамической обла-

сти, что может указывать на изменения в уровне гормонов, которые, в свою очередь, могут внести вклад в развитие ВЧГ. В контрольной группе этот показатель встречался в ~15 % случаев, в группах до 60 лет проспективно повышался, достигая ~46 % у пациентов 60–69 лет.

2. Расщепление (чаще – дорзальной части) или киста прозрачной перегородки. Необходимо отметить, что V желудочек, который в современной терминологии носит название «киста про-

Таблица 5

Выявляемость биомаркеров последствий развития гидроцефально-гипертензионно-отечного синдрома

Параметр	Возрастная группа пациентов, лет						«Норма»
	6–17	18–29	30–39	40–49	50–59	60–69	
Всего	27	46	44	45	42	45	38
Формирующаяся грыжа (киста) оптохиазмальной цистерны	2 (7,40 ± 5,04)	2 (4,34 ± 3,00)	9 (20,45 ± 6,08)	12 (26,66 ± 6,59)	12 (28,57 ± 6,97)	21** (46,66 ± 7,43)	6 (15,78 ± 5,91)
Расщепление прозрачной перегородки	10 (37,03 ± 9,29)	16 (34,78 ± 7,02)	26* (59,09 ± 7,41)	30** (66,66 ± 7,02)	28** (66,66 ± 7,27)	35*** (77,77 ± 6,19)	13 (34,21 ± 7,69)
Киста прозрачной перегородки	1 (3,70 ± 3,63)	0	1 (2,27 ± 2,24)	0	0	1 (2,22 ± 2,19)	0
Расширение карманов Меккеля	4 (14,81 ± 6,83)	14* (30,43 ± 6,78)	25*** (56,81 ± 7,46)	24*** (53,33 ± 7,43)	36*** (85,71 ± 5,39)	34*** (75,55 ± 6,40)	3 (7,89 ± 4,37)
Периневральная отечность зрительных нервов	3 (11,11 ± 6,04)	11 (23,91 ± 6,28)	17* (38,63 ± 7,34)	20*** (44,44 ± 7,40)	18** (42,85 ± 7,63)	20*** (44,44 ± 7,40)	5 (13,15 ± 5,48)
Парадикулярные микрокисты в шейном отделе позвоночника	2 (7,40 ± 5,04)	13 (28,26 ± 6,63)	16 (36,36 ± 7,25)	23* (51,11 ± 7,45)	24** (57,14 ± 7,63)	33*** (73,33 ± 6,59)	9 (23,68 ± 6,89)

зрачной перегородки», еще в XIX веке считался нормой; у наших пациентов он встречался в ~2–3 % случаев. Расщепление прозрачной перегородки отмечалось у ~34–37 % лиц групп контроля и пациентов в возрасте до 30 лет), после 30 лет идет значимое нарастание до ~59–77 %.

3. Расширение ликворолимфатических контактов: карманов Меккеля с отеком Гассеровых узлов, периневральная отечность зрительных нервов (ликворолимфатический и ликвороофтальмический контакты), вестибулокохлеарных и других черепных нервов (подъязычного, глазодвигательных), радикулопатия с формированием парарадикулярных кист позвоночного столба (признак «перегрузки» процессов массопереноса

жидкости между субарахноидальным пространством и лимфатической системой на фоне ВЧГ). Расширение карманов Меккеля более 4 мм наблюдалось в контроле в ~7 % случаев, а в группах наблюдения выявляемость признака прогрессивно повышалась с возрастом от ~14 до ~75 % (рис. 3). Аналогичным образом наблюдалось нарастание с возрастом периневральных отечных изменений зрительных нервов (с ~11–13 до ~44 %) и корешков в шейном отделе позвоночника (с ~7 до ~77 %) (рис. 4, 5).

Биомаркеры неблагоприятных вариантов строения церебральной сосудистой сети и гемодинамики, визуализируемые на свМРТ в режиме МР-ангиографии: «дефект» потока в виде

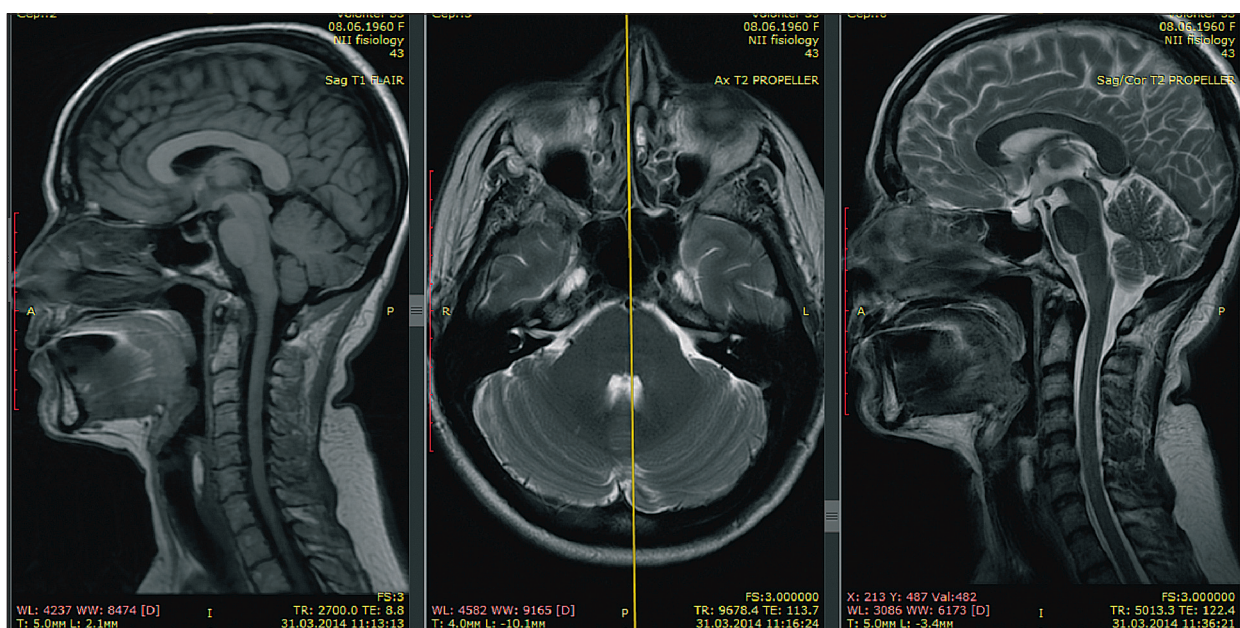


Рис. 3. Субблок на уровне мозжечково-мозговой цистерны: синдром «тесной ЗЧЯ», грыжа (киста) ОХЦ, расширенные зоны ликворолимфатических контактов (карманов Меккеля) – наиболее типичные МРТ-биомаркеры ВЧГ

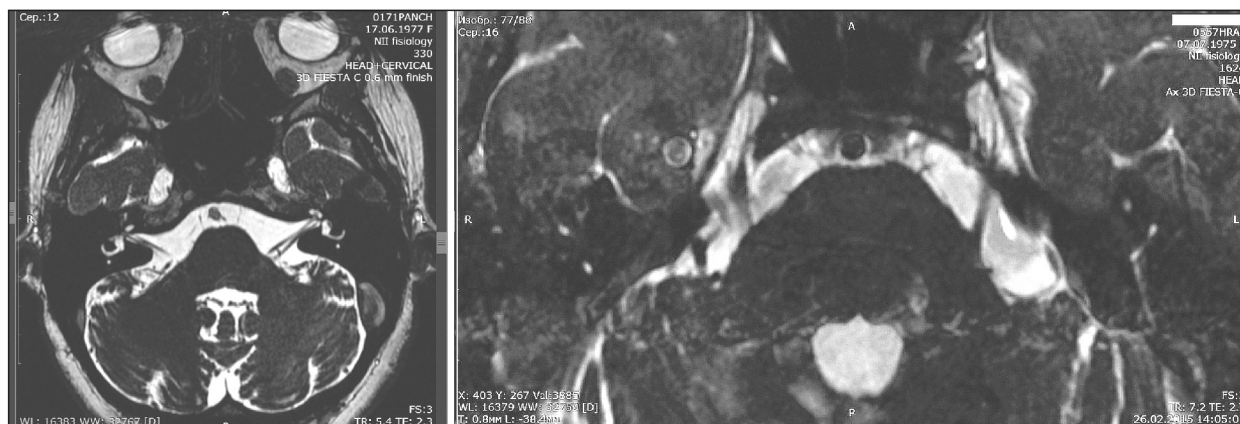


Рис. 4. Ликворолимфатические контакты вокруг черепных нервов (слева – вокруг VIII пары, справа – вокруг тройничных нервов и Гассеровых узлов). МРТ-технология 3D FIESTA с гашением сигнала от нервной ткани и «акцентированием» цереброспинальной жидкости

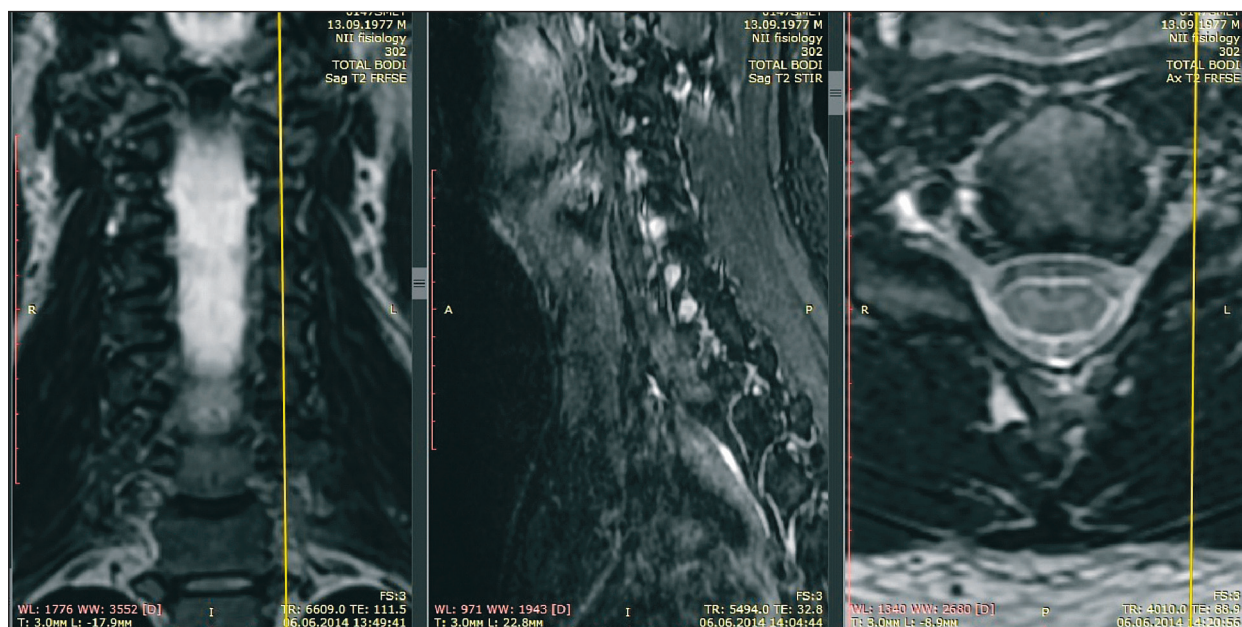


Рис. 5. Ликворолимфатические контакты в межпозвонковых отверстиях шейного отдела позвоночника. T2-ВИ с различным уровнем гашения жировой ткани. Цереброспинальная жидкость и расширение ликворолимфатических контактов вокруг корешков и чувствительных ганглиев сегментарных нервов имеют высокий МР-сигнал

резкого сужения или извитости, неомогенности, неровности контуров – общепринятые клинически значимые ангиопатологические биомаркеры (признаки атеросклеротического или ангиоспастического процессов). Технология TOF-MRA достоверно выявляет анатомию сосудистого русла, а технология PHAS-MRA, помимо этого, позволяет оценить скорость (интенсивность) кровотока по выделенному сосуду. Наиболее актуальным является выполнение тотальных или субтотальных 3D PHAS-MRA-томограмм с 3D-разрешением порядка 1000–1200 мкм и с кодированием потока скорости до 15–30 см/с, с последующей морфометрией диаметра потока по основным церебральным ветвям: передней мозговой артерии, средней мозговой артерии, задней мозговой артерии, внутренней сонной артерии, позвоночной артерии, основной артерии. Диффузное или асимметричное уменьшение диаметров ниже контрольных уровней позволяют объяснить локализацию очагов переходящих неврологических нарушений и ВЧГ.

Признаки церебрального атеросклероза с редукцией кровотока по мелким ветвям и избыточной извитостью, по типу симптома «обрубленного дерева», с признаками микроаневризм или мелких артериовенозных мальформаций (табл. 6) выявлялись соответственно в ~19 и ~37 % случаев в группах 50–59 и 60–69 лет (в контроле не обнаружено). Обратная ситуация наблюдалась в отношении диффузного ангиоспазма – с возрас-

том его встречаемость снижалась с ~18 до ~8 % (в контроле не обнаружено).

Гипоплазия отдельных церебральных артерий у контингента до 30 лет встречается в несколько раз реже, чем после 50 лет, и если у молодых пациентов эти изменения можно отнести на счет врожденных (генетических) вариантов, то у геронтов их можно расценивать как результат атеросклеротических изменений и причину переходящих гемодинамических нарушений:

1. Варианты «незамкнутого» Виллизиева круга за счет гипоплазии (отсутствие кровотока) правой, левой или обеих задних коммуникантных артерий, за счет гипоплазии передней коммуникантной артерии, а также за счет гипоплазии проксимальных сегментов правой или левой передней мозговой артерии (двустороннее поражение передней мозговой артерии не регистрировалось ни разу, вероятно, оно является летальным вариантом). Имеется вариант «незамкнутого» Виллизиева круга за счет отхождения одной из задних мозговых артерий от соименной средней мозговой артерии (при этом Виллизиев круг разомкнут от этой задней мозговой до основной артерии). У пациентов из экспериментальных групп встречаемость «незамкнутого» Виллизиева круга была в разных возрастных группах от ~45 до ~85 % (в группе «Норма» – только ~15 %).

2. С этими субвариантами смыкается ситуация асимметричной гипоплазии одной из позво-

Таблица 6

Встречаемость биомаркеров неблагоприятных вариантов строения артериальной церебральной сосудистой сети и артериальной церебральной гемодинамики

Параметр	Возрастная группа пациентов, лет						«Норма»
	6–17	18–29	30–39	40–49	50–59	60–69	
Всего	27	46	44	45	42	45	38
Выраженные признаки церебрального атеросклероза	0	0	0	0	8** (19,04 ± 6,05)	17*** (37,77 ± 7,22)	0
Признаки диффузного церебрального ангиоспазма	5* (18,51 ± 7,47)	5* (10,86 ± 4,58)	4* (9,09 ± 4,33)	5* (11,11 ± 4,68)	3 (7,14 ± 3,97)	4 (8,88 ± 4,24)	0
«Незамкнутый» Виллизиев круг	17*** (62,96 ± 9,29)	21** (45,65 ± 7,34)	22** (50,00 ± 7,53)	38*** (84,44 ± 5,40)	26*** (61,90 ± 7,49)	39*** (86,66 ± 5,06)	6 (15,78 ± 5,91)
Гипоплазия позвоночных артерий	4 (14,81 ± 6,83)	10 (21,73 ± 6,08)	13* (29,54 ± 6,87)	13* (28,88 ± 6,75)	16** (38,09 ± 7,49)	21*** (46,66 ± 7,43)	4 (10,52 ± 4,97)

ночных артерий, при этом гипоплазированная артерия может заканчиваться мозжечковыми ветвями, не формируя основную артерию (противоположная позвоночная артерия обыкновенно имеет усиленный кровоток и одна формирует основную артерию). Двусторонняя частичная гипоплазия позвоночной артерии с формированием гипоплазированной основной артерии встречается достаточно редко, но полного отсутствия основной артерии ни разу не визуализировано (вероятно, такой вариант является летальным). У пациентов в контрольной группе асимметрия позвоночной артерии отмечалась в ~10 % случаев, а в экспериментальных группах выявляемость прогрессивно повышалась с возрастом с ~14 до ~46 % (см. табл. 6).

В последнее время активно обсуждается значимость нарушений церебрального венозного кровотока в формировании очаговых изменений головного мозга (в нашей когорте пациентов с проявлениями венозного инсульта не было). В мировой литературе сформировано понятие хронической цереброспинальной венозной недостаточности (chronic cerebrospinal venous insufficiency, CCSVI) [10]. МР-ангиография в PHAS-режиме позволила выявить изменения в состоянии венозного дренажа: асимметричное сокращение диаметров сигмовидных синусов и внутренних яремных вен (табл. 7). Неизбежное повышение давления в церебральной венозной сети приводит к формированию компенсаторного усиления венозного кровотока по «резервным» коллатера-

Таблица 7

Встречаемость биомаркеров неблагоприятных вариантов строения венозной церебральной сосудистой сети и венозной церебральной гемодинамики

Параметр	Возрастная группа пациентов, лет						«Норма»
	6–17	18–29	30–39	40–49	50–59	60–69	
Всего	27	46	44	45	42	45	38
Асимметричное сокращение диаметров сигмовидных синусов	17* (62,96 ± 9,29)	17 (36,95 ± 7,11)	20 (45,45 ± 7,50)	20 (44,44 ± 7,40)	16 (38,09 ± 7,49)	21 (46,66 ± 7,43)	12 (31,57 ± 7,54)
Нарушения в формировании торкуляра Герофила	7 (25,92 ± 8,43)	18*** (39,13 ± 7,19)	13* (29,54 ± 6,87)	15** (33,33 ± 7,02)	14** (33,33 ± 7,27)	8 (17,77 ± 5,69)	2 (7,89 ± 4,37)
Избыточное пристеночное тромбирование	0	0	0	5 (11,11 ± 4,68)	2 (4,76 ± 3,28)	10 (22,22 ± 6,19)	3 (7,89 ± 4,37)
Интенсификация кровотока по веноугулярным путям венозного оттока	20*** (74,07 ± 8,43)	11* (23,91 ± 6,28)	8 (18,18 ± 5,81)	2 (4,44 ± 3,07)	2 (2,38 ± 2,35)	1 (2,22 ± 2,19)	3 (7,89 ± 4,37)

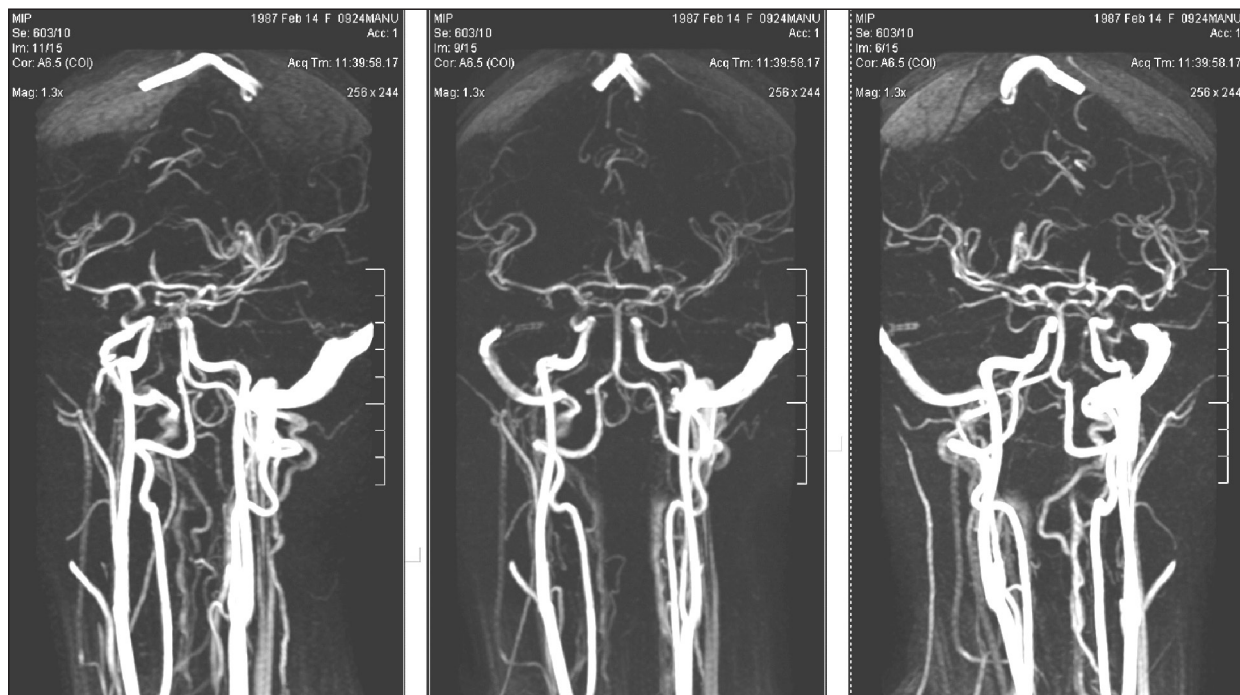


Рис. 6. Конституциональное сокращение кровотока по правому сигмовидному синусу (на томограммах слева) с усилением кровотока по субарахноидальным венозным сплетениям и внеюгулярным путям венозного оттока, PHAS-MRA, 3D-реконструкция под разными углами

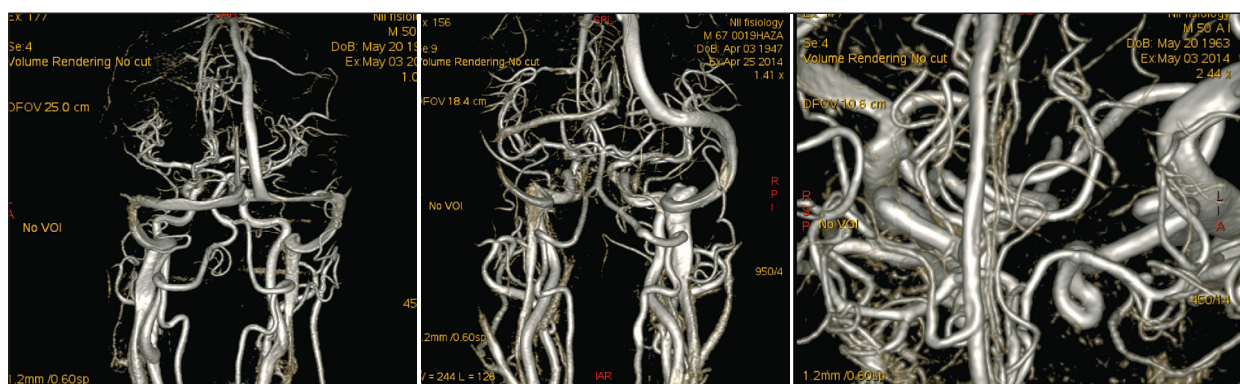


Рис. 7. Слева: сокращение кровотока по правому сигмовидному синусу (конституционально) на фоне неполного формирования торкуляра Герофила. В центре: торкуляр Герофила не сформирован, усиление кровотока по внеюгулярным путям венозного оттока. Справа: Виллизиев круг не замкнут, полная гипоплазия левой задней коммуникантной артерии

лям: значительно увеличиваются диаметр и скорость потока по субарахноидальным венозным сплетениям на уровне краниоцеребрального перехода и шейного отрезка позвоночного канала (рис. 6). Другой вариант компенсации – усиление кровотока по венозным выпускникам (vv. emissarii) в сторону внечерепных венозных коллекторов, чаще в параконвекситальной области (vv. emissaria parietalis) и в проекции поперечного (vv. emissaria mastoidea, vv. emissaria occipitalis) и сигмовидных (vv. emissaria condylaris) синусов: ток крови в них может быть направлен в противо-

положных направлениях, в зависимости от местных колебаний внутричерепного венозного давления [6].

Эти изменения могут быть конституциональными (врожденная редукция диаметра синусов или неполное формирование торкуляра Герофила, рис. 7) и «благоприобретенного» характера, за счет избыточного пристеночного тромбообразования (выявляется на совмещенных PHAS-MRA и на T2-HR-WI). Если асимметрия кровотока по сигмовидным синусам встречается в группе 6–17 лет в ~62 % случаев, то в остальных груп-

пах, в том числе в контроле – в ~31–46 %. При этом нарушение формирования торкуляра Герофила выявлялось лишь у ~7 % лиц контрольной группы, а в экспериментальных группах было выше (до 29–39 %) в возрастном промежутке 18–59 лет (см. табл. 7). Избыточное пристеночное тромбирование выявлялось в контрольной группе в ~7 % случаев и у пациентов возрастных групп 40–59 лет до ~11–22 % (различия с контролем в обоих случаях недостоверны). Тем не менее в индивидуальном плане это может быть причиной повышенного венозного давления.

Расширение внеюгулярных путей венозного оттока манифестирует снижение процесса реабсорбции ЦСЖ в венозную кровь с повышением ВЧД по арезорбтивному типу. Эта ситуация выявлялась до ~74 % случаев в детско-подростковой группе, до ~29 % в группе 18–29 лет, а в остальных группах выявляемость была сравнимой с контрольной (~7 %) или даже ниже (без статистически значимых различий).

ОБСУЖДЕНИЕ

Пациенты шести исследованных возрастных групп имели предварительные синдромальные «диагнозы»: «преходящие мнестические или сенсорные нарушения», «головные боли», «головокружения», «вегетососудистая дистония», «преходящие нарушения кровообращения в вертебробазилярном бассейне» в подостро-хронической или хронической стадиях. То есть эти симптомокомплексы укладывались в пограничные нервно-психические расстройства (ПНПР) и симптомокомплекс головной боли. При МРТ-исследовании у них не обнаруживалось острых очаговых изменений, но выявлялся набор признаков, уточняющий предварительный диагноз, и у всех – достаточно широкий набор признаков ВЧГ. Имелась группа разновозрастных (13–62 года) пациентов «Норма», которые не предъявляли жалоб и не имели неврологического анамнеза. При анализе возрастных особенностей проявлений ВЧГ были выявлены следующие типичные особенности.

В группе 6–17 лет боковые желудочки были «поджаты» у каждого второго и лишь у одного из десяти имели признаки расширения задних рогов или III желудочка (т.е. признаки гидроцефалии); но при этом у 9 из 10 присутствовали содержащая жидкость «шпоры» задних рогов боковых желудочков. Последний момент может указывать на последствия родовой травмы или перинатального внутрижелудочкового кровоизлияния, поскольку микрокисты и склерозирование сосудистых сплетений боковых желудочков выявлялись

почти в ~100 % случаев. Эти изменения формировались на фоне нарушений ликворооттока за счет асимметричной формы черепа (в ~44 %), субвклинивания миндалин мозжечка по типу синдрома «тесной ЗЧЯ» (в ~59 %) и ликворных кист в ЗЧЯ (в ~55 %), что также можно связать с родовой травмой и дисгенетическими изменениями черепа. Вторичные проявления ВЧГ (отечность в области ликворолимфатических контактов, формирование грыжи оптохиазмальной цистерны (ОХЦ)) в этой группе были в ~3–14 % случаев, а расщепление прозрачной перегородки – в ~33 %. Ангиоцеребральные проявления: незамкнутый Виллизиев круг и асимметричная редукция диаметров сигмовидных синусов (~62 % для обеих биомаркеров) на фоне диффузного ангиоспазма (в ~18 %). Признаки интенсификации кровотока по внеюгулярным путям венозного оттока наблюдались у ~74 % пациентов, в то время как признаки ускорения ликворотока – лишь у ~14 %.

В группе 18–29 лет практически сохраняется тот же набор биомаркеров, но в ~30 % случаев «появляется» расширение пространств Меккеля с отеком Гассерова узла (т.е. активация ликворолимфатических контактов в области муфт черепных нервов), и параллельно снижается до ~23 % усиленный кровоток по внеюгулярным путям венозного оттока.

В группе 30–39 лет боковые желудочки были «поджаты» у каждого второго и лишь у ~6–13 % имелось расширение задних рогов или III желудочка (т.е. признаки гидроцефалии); но при этом в ~70 % присутствовали содержащая жидкость «шпоры» задних рогов боковых желудочков. Микрокисты и склерозирование сосудистых сплетений боковых желудочков выявлялось в ~83–86 % случаев, в ~34 % – постгеморрагические изменения сосудистых сплетений боковых желудочков, что указывает либо на травматизацию, либо на ангиопатию (например, при кризовом повышении артериального давления с последующими микрогеморрагиями). Вторичные проявления ВЧГ (отечность в области ликворолимфатических контактов, формирование грыжи ОХЦ, расщепление прозрачной перегородки) в этой группе были в ~36–59 %. Из ангиоцеребральных проявлений «продолжали» выявляться незамкнутый Виллизиев круг (в ~50 % случаев), гипоплазия ПА (в ~29 %) и асимметричная редукция диаметров сигмовидных синусов (на уровне контрольной группы). Интенсификация кровотока по внеюгулярным путям венозного оттока и признаки ускорения ликворотока регистрировались только в ~11–18 %.

В группе 40–49 лет боковые желудочки были «поджаты» у каждого третьего, но появилась

тенденция формирования гидроцефалии (в ~15–20 % случаев, без статистических отличий от контрольной группы), при этом у ~55 % пациентов присутствовали содержащие жидкость «шпоры» задних рогов боковых желудочков. Сосудистые сплетения боковых желудочков имели микрокисты и склерозирование в ~66–86 % случаев, в ~35 % – постгеморрагические изменения, что указывает на сохранение травматизации или ангиопатических изменений. Синдром «тесной ЗЧЯ» в этой группе регистрируется в ~60 % случаев (указывает на «возрастной» процесс «опускания» мозжечка). Частота встречаемости вторичных проявления ВЧГ (отечность в области ликворолимфатических контактов, формирование грыжи ОХЦ, расщепление прозрачной перегородки) повышается до ~44–66 %. Из ангиоцеребральных проявлений «продолжают» выявляться незамкнутый Виллизиев круг (в ~84 % случаев) и гипоплазия позвоночных артерий (в ~28 %). Сохраняется асимметричная редукция диаметров сигмовидных синусов (на уровне контрольной группы). Признаки интенсификации кровотока по веноугулярным путям венозного оттока и признаки ускорения ликворотока встречаются в ~4–11 % случаев.

В группе 50–59 лет на фоне появления атеросклеротических изменений церебральных сосудов практически сохраняется тот же набор признаков, но с акцентированием гидроцефальных проявлений, с расширением ликворолимфатических контактов и со снижением кровотока по веноугулярным путям венозного оттока.

В группе 60–69 лет ситуация приобретает новые черты: III и боковые желудочки в ~31–35 % случаев демонстрируют признаки гидроцефалии с увеличением встречаемости кистозно-постгеморрагических и склеротических изменений сосудистых сплетений до ~51–88 %. Синдром тесной ЗЧЯ выявляется в ~80 %, а вторичные проявления ВЧГ (отечность в области ликворолимфатических контактов, формирование грыжи ОХЦ, расщепление прозрачной перегородки) – в ~44–77 % случаев. Встречаемость явных проявлений церебрального атеросклероза достигает ~37 %, незамкнутый Виллизиев круг обнаруживается в ~86 %, гипоплазия позвоночных артерий – в ~46 % случаев. Сохраняется асимметричная редукция диаметров сигмовидных синусов (на уровне контрольной группы), отмечается тенденция к нарастанию проявлений пристеночного тромбирования (до ~22 %). Признаки интенсификации кровотока по веноугулярным путям венозного оттока выявляются лишь в ~2 %, в то же время признаки ускорения ликворотока регистрируются в ~20 % случаев, что указывает

на формирование «альтернативного» механизма компенсации ВЧГ.

Можно отметить, что резидуальные явления в виде расширения VRS в базальных структурах и в белом веществе полушарий встречаются практически у всех пациентов, и диагностическая значимость этих изменений может быть реализована в будущем через попытку их количественного анализа. Компенсаторное усиление кровотока по экстрацеребральным венам и по субарахноидальным венозным сплетениям характерно для детей и подростков, а ускорение ликворооттока формируется с возрастом. Нарушения ликворооттока в области БЗО может провоцироваться различными причинами – дисгенетическими (у детей и подростков), посттравматическими ликворными кистами (во всех возрастных группах) и дислокацией полушарий мозжечка в сторону БЗО (у геронтов). Также с возрастом увеличивается количество расширенных ликворолимфатических контактов в зоне муфт твердой мозговой оболочки вокруг черепных и сегментарных нервов шейного отдела спинного мозга. Эти закономерности указывают, что венозная и артериальная системы, ликворные пространства и ликворолимфатические контакты в разных возрастных группах по-разному формируют обмен жидкостного контента центральной нервной системы.

Тем не менее даже редко встречающиеся биомаркеры дисгенетической, ангиоцеребральной и травматической природы могут вносить свой отрицательный вклад в формирование синдрома ВЧГ, поэтому у каждого пациента складывается индивидуальная патогенетическая схема развития ВЧГ, которая на протяжении жизни меняется как минимум 3 раза. Более того, наличие резидуальных проявлений у практически здоровых пациентов указывает на широкие адаптивные возможности в механизмах контроля ВЧД, хотя выявление этих биомаркеров в «бессимптомный» период можно рассматривать как раннюю диагностику синдрома ВЧГ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Индивидуализация диагностики механизмов патогенеза ВЧГ на основе свМРТ-биомаркеров может быть использована в клинической практике на базе морфометрических инструментов для линейных измерений и 3D-преобразований томограмм высокого разрешения в формате DICOM.

2. Неврологические расстройства с клинической картиной ВЧГ первичными объединяющими моментами имеют нарушения механизмов массопереноса в системах «кровь – ткань – ликвор –

кровь» (через ГЭБ) и «кровь – ткань – ликвор – лимфа» (через ЛЛБ) с нарушением параметров внутричерепного, артериального и венозного давления и объема жидкости в этих системах, а также травматический стресс с последующим формированием микроочагов ишемической и микрогеморрагической природы и очагов микродеформации нервной ткани с микродеформациями мозгового черепа.

3. Патогенез и диагностические МРТ-биомаркеры гидроцефально-гипертензионно-отечного синдрома многообразны. Цепочки этих изменений имеют полифакторность формирования, весьма вариабельны в каждом индивидуальном случае, но однозначно отягчают общее состояние пациента. Поэтому после свпМРТ целесообразно выполнить поиск симптоматики и анамнестических фактов закрытой черепно-мозговой травмы, микроОНМК, микрогеморрагий, кризовых повышений артериального давления, проявлений острой недостаточности кровообращения по вертебробазилярному бассейну и др. (по выявленным МРТ-биомаркерам).

4. Выявление комплекса свпМРТ-биомаркеров позволяет достигнуть адекватной формулировки диагноза гидроцефально-гипертензионно-отечного синдрома – с «фиксаций» всех прямых и косвенных проявлений повышения внутричерепного давления (размеры ликворных путей, признаки ускорения ликворотока, состояние ГЭБ, состояние ангионейрональных, ликворонейрональных и ликворолимфатических контактов, состояние венозного и ликворного дренажа).

5. Для визуализации комплекса МРТ-биомаркеров подразумевается расширение технологического «набора» МРТ-технологий (SPGR-3D (T1-WI), T2-WI-3D (с различными уровнями жироподавления), T2-FLAIR-3D, SWAN (T2*-WI, GRE), DWI-WI (с расчетом ADC-card), MP-ангиография в технологии PHAS-3D (Velocity)) для внедрения в клиническую практику диагностики вариантов развития синдрома повышенного ВЧД с дальнейшей целью адекватной терапии этого синдрома.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарят за финансовую поддержку ФАНО РФ и выражают признательность администрации и коллективу лаборатории научно-клинической МРТ НИИ физиологии и фундаментальной медицины.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бородин Ю.И. Об оттоке жидкости из подпаутинного пространства собаки // Проблемы морфологии. Труды Новосибирского государственного медицинского института. Новосибирск, 1958. XXXII. 136–142.
2. Бородин Ю.И., Песин М.Я. Мозг и жидкие среды организма. Бишкек; Новосибирск, 2005. 184 с.
3. Бородин Ю.И., Песин М.Я., Габитов В.Х. Пути оттока жидкости из полости черепа в лимфатическое русло организма // Бюл. СО АМН СССР. 1999. (2). 95–96
4. Каган И.И., Канюков В.Н. Клиническая анатомия органа зрения. СПб: Эскулап, 1999. 105–108.
5. Пальчик А.Б., Шабалов Н.П. Гипоксически-ишемическая энцефалопатия новорожденных. М.: МЕДпресс-информ, 2009. 256 с.
6. Пуцилло М.В., Винокуров А.Г., Белов А.И. Нейрохирургическая анатомия / ред. А.Н. Коновалов. М.: Антидор, 2002. 28–29.
7. Трофимова Т.Н., Медведев Ю.А., Ананьева Н.И., Сухацкая А.В., Забродская Ю.М., Казначеева А.О. Использование посмертной магнитно-резонансной томографии головного мозга при патолого-анатомическом исследовании // Арх. патологии. 2008. (3). 23–28.
8. Adams R.D., Fisher C.M., Hakim S., Ojemann R.G., Sweet W.H. Symptomatic occult hydrocephalus with «normal» cerebrospinal pressures: a treatable syndrome // N. Engl. J. Med. 1965. 273. 117–126.
9. Aspelund A., Antila S., Proulx S.T., Karlsen T.V., Karaman S., Detmar M., Wiig H., Alitalo K. A dural lymphatic vascular system that drains brain interstitial fluid and macromolecules // J. Exp. Med. 2015. 212. (7). 991–999.
10. Beggs C.B. Venous hemodynamics in neurological disorders: an analytical review with hydrodynamic analysis // BMC Med. 2013. 11. 142.
11. Plog B.A., Nedergaard M. The glymphatic system in CNS health and disease: past, present and future // Annu. Rev. Pathol. 2018. 13. 379–394.
12. Iliff J.J., Wang M., Liao Y., Plogg B.A., Peng W., Gundersen G.A., Benveniste H., Vates G.E., Deane R., Goldman S.A., Nagelhus E.A., Nedergaard M. A paravascular pathway facilitates CSF flow through the brain parenchyma and the clearance of interstitial solutes, including amyloid? // Sci. Transl. Med. 2012. 4. (147). 147–169.
13. Kwee R.M., Kwee T.C. Virchow-Robin spaces at MR imaging // RadioGraphics. 2007. 27. (4). 1071–1086.
14. Muldoon L.L., Varallyay P., Kraemer D.F., Kiwic G., Pinkston K., Walker-Rosenfeld S.L., Newwelt E.A. Trafficking of superparamagnetic iron oxide particles (Combix) from brain to lymph nodes in the rat // Neuropathol. Appl. Neurobiol. 2004. 30. (1). 70–79.

15. Pollock H., Hutchings M., Weller R.O., Zhang E.-T. Perivascular spaces in the basal ganglia of the human brain: their relationship to lacunes // J. Anat. 1997. 191. (Pt. 3). 337–346.

16. Simka M. Recent advances in understanding the lymphatic and glymphatic systems of the brain // Phlebol. Rev. 2015. 23. (3). 69–71.

EVALUATION OF INTRACRANIAL HYPERTENSION ON DATA OF ULTRA-HIGH-FIELD MRI

Andrey Yurievich LETYAGIN^{1,2}, Yuriy Ivanovich BORODIN¹

¹ Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Institute of Cytology and Genetics of SB RAS
630117, Novosibirsk, Timakov str., 2

² Scientific Research Institute of Physiology and Basic Medicine
630117, Novosibirsk, Timakov str., 4

The goal is to evaluate the contribution of age and individual features of the cerebral cranium, foci in the CNS structures, pathomorphological changes in the liquor-containing spaces and angio-cerebral structures visualized on ultra high field magnetic resonance imaging (uhfMRI) in the formation of the syndrome of intracranial hypertension (ICH). Intracranial pressure (ICP) is the fundamental biophysical parameter of the brain, the result of perfusion and diffusion at the level of hemato-tissue, hemato-liquor, liquor-tissue contacts forming the hematoencephalic barrier (BBB), and the liquor-lymphatic contacts that form the liquor-lymphatic barrier (LLB). Violations of venous cerebral hemodynamics and liquorodynamics reduce the possibility of draining the subarachnoid space of the brain and spinal cord, and the «excess» of cerebrospinal fluid (CSF) in the static volume of the cerebral cranium causes the ICH. This is manifested in the form of violation of perfusion and diffusion processes, in the form of micro-foci in the structures of the nervous tissue of the brain and spinal cord, in changes in cerebral vessels, liquor-containing spaces and liquor-lymphatic contacts. Clinically, on the background of ICH, a symptom-complex of headache is formed, and the functional abilities of the central nervous system decrease. Direct measurement of ICP is an invasive procedure with a violation of the integrity of the dura mater. Therefore, for individual diagnosis of the mechanism of increasing ICP in 249 patients with clinical manifestations of ICH, biomarkers (pathomorphological findings with uhfMRI) were analyzed: biomarkers of hydrocephalus-hypertension-edematous syndrome, biomarkers of residual cerebral changes, biomarkers of unfavorable anatomical variants of the structure of the brain skull and brain tissue, biomarkers of the consequences of the development of hydrocephalus-hypertension-edematous syndrome, biomarkers of unfavorable variants of cerebral vascular network structure and hemodynamics. Each patient develops an individual pathogenetic scheme of development of ICH, which during life changes at least 3 times.

Key words: ultrahigh-field MRI, intracranial pressure, blood-brain barrier, cerebrospinal fluid-lymph barrier, cerebrospinal fluid, intracranial hypertension syndrome.

Letyagin A.Yu. – doctor of medical sciences, professor, director, e-mail: letyagin-andrey@yandex.ru

Borodin Yu.I. – academician of the RAS, doctor of medical sciences, professor, principal researcher

ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА РЕМОДЕЛИРОВАНИЕ КОСТНОЙ ТКАНИ, У БОЛЬНЫХ ЛИМФОМОЙ ХОДЖКИНА (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)

Мария Сергеевна ВОЙТКО¹, Татьяна Ивановна ПОСПЕЛОВА¹,
Вадим Валерьевич КЛИМОНТОВ^{1,2}, Елена Викторовна МЕЗИТ¹

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

² НИИ клинической и экспериментальной лимфологии –
филиал ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН
630117, г. Новосибирск, ул. Арбузова, 6

В настоящее время лимфома Ходжкина признана потенциально излечимым заболеванием, при применении современных программ химиотерапии могут быть излечены до 90 % пациентов. Достижение стойкой безрецидивной выживаемости ставит перед врачами вопрос об улучшении качества жизни пациентов и профилактики отдаленных последствий противоопухолевой терапии, одним из которых может быть снижение минеральной плотности костной ткани. На сегодняшний день рядом исследователей установлено, что среди лимфопролиферативных заболеваний лимфома Ходжкина сопряжена с наибольшим риском развития у больного остеопороза и остеопении. Снижение минеральной плотности костей скелета у данной категории пациентов может быть обусловлено применением глюкокортикостероидов и цитостатических препаратов, входящих в протоколы полихимиотерапии, гипогонадизмом, вызванным токсическим эффектом химиотерапии, непосредственным лучевым воздействием на гонады, опухолевым процессом, снижением физической активности и другими факторами. Высокая значимость проблемы остеопороза определяется его социальными последствиями – переломами тел позвонков и костей периферического скелета, обуславливающими высокий уровень нетрудоспособности, включая инвалидность и смертность, и, таким образом, экономические риски в области здравоохранения. Целью настоящего обзора служит выявление основных закономерностей процессов ремоделирования костной ткани у больных лимфомой Ходжкина.

Ключевые слова: лимфома Ходжкина, минеральная плотность костной ткани, остеопороз, денситометрия, двухэнергетическая рентгеновская абсорбциометрия.

Лимфома Ходжкина (ЛХ) – злокачественное заболевание лимфоидной ткани с клональной пролиферацией В-клеток зародышевых центров лимфоузлов. К опухолевому субстрату ЛХ относят клетки Ходжкина, клетки Березовского – Рид – Штернберга, лакунарные, мумифицированные, LP-клетки. Выделяют две формы заболевания: классическую ЛХ и нодулярную ЛХ с лимфоидным преобладанием. Классическая ЛХ составляет приблизительно 95 % всех случаев ЛХ и подразделяется на четыре гистологических варианта: нодулярный склероз (NS I и II типа по Британской гистологической градации), смешанно-клеточный вариант, классический вариант с

большим количеством лимфоцитов и вариант с лимфоидным истощением, встречающийся крайне редко.

Заболеваемость ЛХ в России составляет 2,1 случая на 100 000 населения в год (3149 впервые выявленных больных), 2,2 – в странах Европы и 2,6 – в США. Смертность достигает 0,74 случая на 100 000 населения в год в России и 0,7 – в Европейском союзе [1]. Мужчины болеют несколько чаще, чем женщины, особенно в педиатрической популяции, где 85 % всех случаев приходится на мальчиков. Нодулярный склероз чаще встречается у молодых людей, тогда как смешанно-клеточный вариант преимущественно поражает

Войтко М.С. – клинический ординатор кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии (ФПК и ППВ), e-mail: voytko.marie@yandex.ru

Поспелова Т.И. – д.м.н., проф., проректор по научной работе, зав. кафедрой терапии, гематологии и трансфузиологии (ФПК и ППВ), e-mail: post_gem@mail.ru

Климентов В.В. – д.м.н., зам. директора по научной работе, профессор РАН, e-mail: klimontov@mail.ru

Мезит Е.В. – аспирант кафедры терапии, гематологии и трансфузиологии (ФПК и ППВ), e-mail: post_gem@mail.ru

пожилых. Для ЛХ характерно бимодальное распределение по возрасту: у большинства пациентов первый пик заболеваемости приходится на период от 20 до 40 лет, а второй пик наблюдается после 50 лет. Стоит отметить, что выраженность возрастных пиков заболеваемости несколько отличается в разных странах [29].

Общепринятым стандартом лечения ранних стадий с благоприятным прогнозом являются 2–4 цикла полихимиотерапии (ПХТ) по схеме ABVD (адриамицин, блеомицин, винбластин, дакарбазин) с последующей лучевой терапией в суммарной очаговой дозе 30 Гр на зоны исходного поражения. Методом выбора для больных до 50 лет с хорошим общим статусом и с рефрактерным течением ЛХ, а также для больных с первым ранним рецидивом является высокодозная химиотерапия с последующей трансплантацией аутологичных гемопоэтических стволовых клеток (ауто-ТГСК). С целью определения химиочувствительности опухолевых клеток, сокращения объема опухолевой массы и рекрутирования стволовых клеток перед этапом высокодозной химиотерапии обязательно проводится индукционная терапия II линии, преимущественно по схеме DHAP (дексаметазон, высокодозный цитарабин, цисплатин). Терапией выбора для всех больных старше 60 лет остается режим ABVD в комбинации с лучевой терапией на резидуальную опухоль размером более 2,5 см. Схема BEACOPP-14 (блеомицин, этопозид, доксорубин, циклофосфамид, винкристин, прокарбазин, преднизолон) является высокотоксичным режимом для абсолютного большинства этих больных [2].

Увеличение продолжительности жизни пациентов неразрывно связано с появлением патологических состояний и осложнений после терапии, нередко приводящих излеченных от ЛХ больных к инвалидизации и смертельному исходу. К серьезным отсроченным эффектам терапии при ЛХ относят легочные, сердечно-сосудистые осложнения, вторичные злокачественные опухоли, нарушения функции эндокринной и репродуктивной систем [7]. Одной из наиболее актуальных проблем в современной онкогематологии является остеопороз и связанные с ним низкоэнергетические переломы.

Остеопороз определяется как метаболическое заболевание скелета, характеризующееся потерей костной массы, изменением микроархитектоники кости и впоследствии переломами при минимальной травме. Рабочая группа ВОЗ оценивает степень остеопороза в соответствии с измерениями показателей минеральной плотности костной ткани (МПК) с использованием двухэнергетической рентгеновской абсорбциометрии. Остеопороз яв-

ляется многофакторным заболеванием, развитие которого связано с генетической предрасположенностью, образом жизни, физической активностью, эндокринологическим статусом, наличием отягощенного соматического фона, приемом ряда лекарственных препаратов, старением человека и индивидуальной продолжительностью жизни [4]. Известно, что ремоделирование костной ткани зависит от изменения фосфорно-кальциевого обмена, уровня тиреоидных и паратиреоидных гормонов, витамина D, гормона роста, кальцитонина, глюкокортикостероидов и т.д. Эффекты регуляторов, влияющих на метаболизм костной ткани, реализуются через основные сигнальные пути остеобластогенеза (канонический сигнальный путь Wnt) и остеокластогенеза (RANKL/RANK/OPG). Изменение экспрессии молекул-регуляторов остеобластогенеза и остеокластогенеза приводит к снижению прочности кости с возрастом и вследствие негативного влияния других факторов, что проявляется снижением МПК, нарушением микроархитектоники и, как следствие, переломами при минимальной травме [18].

Гемобластозы являются известным фактором риска развития вторичного остеопороза и низкоэнергетических переломов [27]. Среди лимфопролиферативных заболеваний остеопороз и остеопения, как осложнение терапии, чаще встречаются у больных ЛХ (до 88 % пациентов), нежели у пациентов с неходжкинскими лимфомами (67 %) и хроническим лимфоцитарным лейкозом (49 %) [36]. Снижение МПК поясничных позвонков выявляется у 50 % больных ЛХ. Вероятность уменьшения МПК зависит от числа циклов ПХТ [10]. В настоящее время отсутствуют эпидемиологические исследования, отражающие частоту встречаемости переломов различной локализации у пациентов с ЛХ.

Следует учитывать, что поражения костной ткани при лимфопролиферативных заболеваниях включают не только остеопороз, но и вторичные опухолевые поражения. Вторичное вовлечение костной ткани наблюдается у 5–15 % больных с ЛХ и у 30–53 % пациентов с неходжкинскими лимфомами. В структуре поражения костной системы при лимфомах кости таза составляют 54 %, длинные трубчатые кости – 21 %, позвоночник – 18 %, причем чаще вовлекается грудной отдел, реже – поясничный. Поражение шейного отдела позвоночника наблюдается редко. Средний возраст пациентов с неходжкинскими лимфомами с поражением позвоночника составляет 52,5 года, с ЛХ – 54 года [20]. Согласно литературным данным, у онкогематологических пациентов постепенное разрушение и деминерализация костной ткани вследствие развития опухолевого процесса

приводят к снижению прочности позвонка, что, в свою очередь, вызывает механическую нестабильность, приводящую к патологическому перелому. Разрушение и деформация тела позвонка, происходящие под действием силы тяжести либо при незначительной физической нагрузке, вызывают последующее равномерное или клиновидное снижение его высоты, сужение межverteбральных отверстий, сдавление спинномозговых корешков, развитие неврологического дефицита различной степени выраженности [5].

Помимо общепопуляционных факторов риска, снижение МПК у пациентов онкологического профиля может возникать под влиянием приема глюкокортикоидов (ГК) и цитостатических препаратов, входящих в программы ПХТ, дефицита половых гормонов, связанного с опухолью и ее лечением, и самого первичного заболевания [13].

Терапия ГК. ГК-индуцированный остеопороз является тяжелой формой вторичного остеопороза, для него характерны быстрая потеря костной массы и увеличение риска возникновения переломов вскоре после начала терапии ГК. В норме ГК необходимы для дифференцировки мезенхимальных стволовых клеток в остеобласты, но в фармакологических дозах данные гормоны отрицательно влияют на обе фазы костного ремоделирования: нарушают костеобразование, замедляют пролиферацию и дифференцировку остеобластов, ускоряют апоптоз и тормозят образование новых клеток, частично ингибируют продукцию интерлейкинов-1 и 6, изменяют костные эффекты цитокинов, уменьшают экспрессию ряда рецепторов на остеобластах. При ингибировании инсулиноподобного фактора роста усиливается костная резорбция, снижается продукция половых стероидов и остеопротегерина (эндогенного ингибитора резорбции). К опосредованным эффектам ГК относят ухудшение всасывания кальция в кишечнике; длительное применение ГК нарушает секреторную динамику паратгормона.

Взаимосвязь между глюкокортикоидной терапией и риском возникновения переломов является статистически значимой. Так, использование ГК в течение 3–6 месяцев служит серьезным фактором риска развития остеопороза и переломов, которые отмечаются у 30–50 % больных. При этом риск развития переломов возрастает уже в первые месяцы терапии и сохраняется выше популяционного уровня продолжительное время после отмены ГК [3]. Известно также о косвенном влиянии ГК на риск развития переломов в результате ГК-индуцированной миопатии. Мышечная слабость является одним из определяющих факторов риска падений и переломов у данных пациентов [17].

Риск возникновения переломов у больных, получающих ГК, преимущественно ассоциирован с пероральной терапией. Наибольшая опасность связана с использованием препаратов в суточных дозах, эквивалентных 7,5 мг преднизолона и выше [21]. Снижение МПК и повышение риска развития переломов наблюдаются и при альтернирующем приеме пероральных ГК [9]. Также известно, что некоторые пациенты, получающие терапию в низких дозах (< 2,5 мг преднизолона), демонстрируют более выраженную потерю костной массы, чем в случае использования высоких (> 7,5 мг) суточных доз. Из подобной градации дозировок следует, что пациенты, получающие терапию ГК продолжительностью более трех месяцев, вне зависимости от лекарственной формы находятся под угрозой развития остеопороза и переломов [3]. Больным ЛХ, получающим ПХТ по протоколу BEACOPP, преднизолон назначается в дозировке 40 мг/м² ежедневно в течение 14 дней. Полный курс лечения по схеме BEACOPP состоит из 4 циклов на ранних стадиях заболевания, из 6–8 циклов при распространенных стадиях или при наличии неблагоприятных факторов риска. Режим химиотерапии DНАР предусматривает назначение дексаметазона в дозировке 40 мг в течение четырех дней цикла. Высокие дозы ГК, используемые в указанных схемах, создают значительный риск развития остеопороза.

Отмечена связь между дозой ГК в схеме BEACOPP и развитием остеонекроза. Так, в недавнем исследовании D. Albano и соавт. [16] проанализированы результаты магнитно-резонансной томографии 42 пациентов с ЛХ, получавших три различных режима ПХТ (6 курсов ABVD, 2 курса ABVD + 4 курса BEACOPP, 2 курса ABVD + 8 курсов BEACOPP). Остеонекроз зафиксирован у шести из семи человек (86 %), получивших восемь курсов BEACOPP, и лишь у одного из пяти пациентов (20 %), получивших четыре курса ПХТ по данной схеме. У больных, которым проводилось лечение по схеме ABVD, остеонекроз не развивался. Из 48 выявленных остеонекротических поражений 48 % были обнаружены в области коленного сустава, у шести из семи пациентов наблюдался мультифокальный остеонекроз (86 %).

Цитостатические препараты. Клинические наблюдения показали, что цитостатические препараты могут вызывать остеопению главным образом в результате их прямого воздействия на остеобласты: химиотерапия нарушает метаболизм костной ткани в результате уменьшения количества остеобластов [19]. Повреждающее действие цитостатических препаратов на костный мозг оказывает негативное влияние на клетки,

участвующие в трансформации костной ткани, что в свою очередь вызывает нарушение процессов ее ремоделирования.

Реализация эффекта цитостатиков на костную ткань в значительной степени связана со способностью данных препаратов снижать продукцию половых гормонов. В ряде работ зафиксировано влияние алкилирующих препаратов, входящих в состав схем ПХТ, на репродуктивную систему; в зависимости от их суммарной дозы или комбинаций алкилирующих соединений с другими цитостатическими препаратами в схемах лечения выраженность гонадотоксичности может различаться [6].

Циклофосфамид в дозе 600 мг/м² способен блокировать сперматогенез у большинства пациентов. При последующем увеличении дозы препарат вызывает длительную, чаще необратимую, азоосперию у 68–95 % больных старшей возрастной группы и нарушения сперматогенеза более чем у 30 % подростков. Повреждение яичка характеризуется не только нарушением сперматогенеза, но и подавлением продукции половых гормонов, что документируется повышением уровня гонадотропинов. После окончания терапии ЛХ по протоколу МОРР или ChIVPP увеличение концентрации фолликулостимулирующего гормона выявлено у 89 % больных, еще у 24 % пациентов зафиксировано повышение содержания лютеинизирующего гормона [40]. После лечения по протоколу BEACOPP-base увеличение их уровня обнаружено у 93 и 21 % пациентов соответственно, а снижение концентрации тестостерона – у 57 % [38]. Известно, что дефицит тестостерона вызывает снижение МПК и мышечной массы [22, 31]. Наличие рецепторов к андрогенам обнаружено на остеобластах человека. Андрогены стимулируют пролиферацию остеобластов и выработку ими коллагена III типа. Дигидротестостерон способен увеличивать продукцию трансформирующего фактора роста β , количество рецепторов к инсулиноподобному фактору роста II в остеоцитах, активность щелочной фосфатазы и синтез проколлагена I типа, что говорит об усилении функции остеобластов [39].

Женщины с ЛХ, получающие алкилирующие препараты, также входят в группу риска по развитию гипогонадизма. Так, С.В. Шахтарина и соавт. [15] наблюдали развитие преждевременной недостаточности яичников у 40,5 % женщин с ЛХ и неходжкинскими лимфомами, получивших три или более цикла ПХТ, включавших алкилирующие препараты. Дефицит эстрогенов, являющийся общепризнанным фактором риска постменопаузального остеопороза [11], становится важным

предиктором вторичного остеопороза при ЛХ. На сегодняшний день установлено прямое влияние эстрогенов на функцию клеток костной ткани через присутствующие в остеобластах, остеоцитах и остеокластах эстрогеновые рецепторы [32]. Протективный эффект эстрогенов в отношении костной резорбции опосредован их способностью через лиганд-рецепторные механизмы повышать функциональную активность остеобластов и остеоцитов, а также ингибировать остеокластогенез и увеличивать апоптоз остеокластов [30, 33].

Ауто-ТГСК. Имеются данные, что к развитию остеопороза у пациентов с гемобластомами может приводить высокодозная химиотерапия с ауто-ТГСК [37]. Последняя является вариантом лечения для отдельных групп пациентов со злокачественной лимфомой в течение почти трех десятилетий. Ауто-ТГСК привела к улучшению выживаемости для групп пациентов с лимфомой, у которых ранее был плохой прогноз, и в настоящее время является стандартной терапией при рецидиве ЛХ и при многих видах неходжкинских лимфом. Снижение МПК наблюдается и после проведения аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (алло-ТГСК) [24]. Алло-ТГСК может быть осложнена болезнью «трансплантат против хозяина» (БТПХ), которая развивается у 6–80 % выживших пациентов [21]. Лечение БТПХ осуществляется ГК и иммуносупрессантами, которые влияют на МПК. Несмотря на то, что БТПХ не является осложнением после проведения ауто-ТГСК, этот вид терапии может также вызвать нарушения в метаболизме костной ткани, возможно, вторичные по отношению к проведенной ПХТ, лучевой терапии, гипогонадизму или пониженному питанию [34].

Лучевая терапия является эффективным методом лечения ранних и промежуточных стадий ЛХ и важным компонентом комбинированной терапии с благоприятными прогностическими признаками. Облучение области шеи, нередко применяемое в лечении ЛХ, может оказывать не прямое влияние на костную ткань через изменение функции щитовидной железы. В числе функциональных изменений у больных ЛХ преобладает субклинический гипотиреоз. Вероятность его развития зависит от дозы облучения: после лучевой терапии с суммарной очаговой дозой (СОД) облучения 40 Гр субклинический гипотиреоз наблюдали у 33,6 % больных ЛХ, тогда как после облучения с СОД 20–30 Гр – у 12,8 %. Манифестный гипотиреоз развивался значительно реже – в 2 и 1,2 % случаев соответственно. Частота повышения уровня антител к тиреоглобулину и тиреопероксидазе также зависит от дозы

облучения: увеличение титра антител после проведенной лучевой терапии на область шеи с СОД в 40 Гр зафиксировано у 41 % обследованных, с СОД 20–30 Гр – у 10,4 %. Гипертиреоз после лучевой терапии по поводу ЛХ развивается гораздо реже гипотиреоза и встречается с одинаковой частотой у мужчин и женщин [7].

Установлена связь гипертиреоза с лучевой терапией области шеи, в том числе в комбинации с ПХТ [23]. Гиперфункция щитовидной железы ведет к ускорению процессов образования и резорбции костной ткани, с преобладанием последней, развитию дисбаланса регуляции кальций-фосфорного обмена в виде гипокальциемии, гиперфосфатемии, гиперкальциурии. Для пациентов с гипотиреозом, напротив, характерно замедление костного метаболизма, процессов резорбции и костеобразования, уровень кальция и фосфора в крови и моче не изменяется [12].

Известно, что лучевая терапия с высокой СОД способствует атрофии трабекул костей, которая может быть осложнена переломами, и, кроме того, оказывает косвенное влияние на костную ткань через сосудистые изменения [26]. Роль сосудистых изменений в развитии остеопении у онкологических больных, получавших лучевую терапию, отражена и в работе J.W. Norpewell [25], в которой зафиксировано уменьшение МПК при СОД > 20 Гр и обсуждается связь между снижением кровотока в кости и СОД.

Опухолевый процесс. Снижение МПК у больных с ЛХ может быть связано не только с эффектами лечения, но и с самим опухолевым процессом. Изменение продукции цитокинов может являться одним из механизмов реализации эффекта опухоли на костную ткань. У пациентов с лимфомами наблюдается дисбаланс в системе цитокинов с преобладанием цитокинов провоспалительного ряда; данный дисбаланс не исчезает полностью после ПХТ [8]. Известно, что многие цитокины способны прямо или косвенно влиять на дифференцировку и апоптоз опухолевых клеток, стимулировать ангиогенез, тем самым обеспечивая рост и прогрессию опухоли [35]. Наиболее перспективными в качестве маркеров опухолевого роста и факторов прогноза у онкогематологических больных являются цитокины с системными эффектами: ИЛ-1 β , ФНО- α , ИЛ-2, интерферон- γ , ИЛ-6 и ИЛ-4 [14]. Известно, что провоспалительные цитокины ИЛ-1 β , ФНО- α и ИЛ-6 оказывают резорбтивное действие на костную ткань путем повышения активности RANK [28]. Роль цитокинов и других молекул, продуцируемых опухолью, в ремоделировании костной ткани при ЛХ заслуживает дальнейших исследований.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Накопленные к настоящему времени данные свидетельствуют о высокой частоте развития остеопороза у больных с лимфопролиферативными заболеваниями, особенно с ЛХ. Патогенез вторичного остеопороза при ЛХ носит многофакторный характер и включает в себя эффекты опухолевого процесса и его лечения с помощью ПХТ, включающей ГК и цитостатические препараты, лучевой терапии и ауто-ТГСК. Влияние цитостатических препаратов и лучевой терапии на МПК может быть опосредовано через эндокринные нарушения: гипогонадизм и дисфункцию щитовидной железы. Механизмы развития остеопороза при ЛХ заслуживают дальнейших исследований. В частности, требует уточнения вклад специфических факторов риска (опухолевой прогрессии, ПХТ, лучевой терапии), роль гормонов и других регуляторов, а также сигнальных путей, вовлеченных в костное ремоделирование. Актуальной задачей является разработка подходов к профилактике и лечению остеопороза при ЛХ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аль-Ради Л.С., Барях Е.А., Белоусова И.Э., Бесмельцев С.С., Воробьев В.И., Вотякова О.М., Губкин А.В., Демина Е.А., Доронин В.А., Желудкова О.Г., Загоскина Т.П., Зарицкий А.Ю., Коробкин А.В., Кравченко С.К., Кузьмин А.А., Лопаткина Т.Н., Лорие Ю.Ю., Луговская С.А., Менделеева Л.П., Михайлова Н.Б., Моисеева Т.Н., Мухортова О.В., Никитин Е.А., Османов Е.А., Пивник А.В., Поддубная И.В., Поспелова Т.И., Птушкин В.В., Самойлова О.С., Самочатова Е.В., Стадник Е.А., Стефанов Д.Н., Тумян Г.С., Шатохин Ю.В., Шмаков Р.Г. Клинические рекомендации по диагностике и лечению лимфопролиферативных заболеваний. М.: Буки Веди, 2014. 15–16.
2. Аль-Ради Л.С., Барях Е.А., Белоусова И.Э., Бесмельцев С.С., Воробьев В.И., Вотякова О.М., Губкин А.В., Демина Е.А., Доронин В.А., Желудкова О.Г., Загоскина Т.П., Зарицкий А.Ю., Коробкин А.В., Кравченко С.К., Кузьмин А.А., Лопаткина Т.Н., Лорие Ю.Ю., Луговская С.А., Менделеева Л.П., Михайлова Н.Б., Моисеева Т.Н., Мухортова О.В., Никитин Е.А., Османов Е.А., Пивник А.В., Поддубная И.В., Поспелова Т.И., Птушкин В.В., Самойлова О.С., Самочатова Е.В., Стадник Е.А., Стефанов Д.Н., Тумян Г.С., Шатохин Ю.В., Шмаков Р.Г. Клинические рекомендации по диагностике и лечению лимфопролиферативных заболеваний. М.: Буки Веди, 2014. 18–23.
3. Антонова К.В., Супонева Н.А., Щербак Н.И., Гришина Д.А., Белова Н.В., Кононова Л.В. Глюкокортикоидиндуцированный остеопороз у не-

врологических больных: мероприятия по профилактике и лечению // Нервно-мышеч. болезни. 2017. 7. (2). 10–20.

4. Белая Ж.Е., Гребенникова Т.А., Дзеранова Л.К., Ильин А.В., Пигарова Е.А., Рожинская Л.Я., Чернова Т.О., Никитинская О.А., Торопцова Н.В., Бирюкова Е.В., Загородний Н.В., Илюхина О.Б., Крюкова И.В., Лесняк О.М., Родионова С.С., Скрипникова И.А., Тарбаева Н.В., Фарба Л.Я., Юренева С.В. Клинические рекомендации по остеопорозу. М., 2016. 72 с.

5. Валиев А.К., Соколовский А.В., Неред А.С., Мусаев Э.Р. Малоинвазивные хирургические технологии при поражениях позвоночника в онкогематологии // Клин. онкогематология. 2013. 6. (2). 177–94.

6. Винокуров А.А. Лимфома Ходжкина и проблемы репродукции у мужчин // Клин. онкогематология. 2013. (3). 258–273.

7. Даниленко А.А. Отдаленные последствия лучевой и химиолучевой терапии первичных больных лимфомой Ходжкина: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Обнинск, 2017.

8. Коптев В.Д., Скворцова Н.В., Поспелова Т.И. Прогностическое значение цитокинового профиля у больных лимфомами // Вестн. НГУ. Сер. Биол., клин. мед. 2010. 8. (4). 143–149.

9. Макдермотт М.Т. Секреты эндокринологии. М.: Бином, 2015. 584 с.

10. Пархоменко Р.А., Щербенко О.И., Удельнова И.А., Пуртова Г.С., Зуева А.В., Халиль Е.Ф., Сычева Н.А., Зелинская Н.И. Состояние минеральной плотности костной ткани у лиц, перенесших лимфому Ходжкина в детском или подростковом возрасте // Вестн. Рос. науч. центра рентгенодиологии Минздрава России. 2011. 1. (11). http://vestnik.rncrr.ru/vestnik/v11/papers/parkhom_v11.htm

11. Поворознюк В.В., Григорьева Н.В. Менопауза и остеопороз // Репродуктив. эндокринология. 2012. (2). 40–47.

12. Пиксин И.Н., Давыдкин В.И., Московченко А.С., Вилков А.В., Кечайкин А.Н. Состояние костного метаболизма при заболеваниях щитовидной железы // Мед. альманах. 2016. 4. (44). 154–157.

13. Радулеску Г.Г., Матченкова Н.В., Белогурова М.Б. Эндокринологические осложнения у пациентов, получивших противоопухолевую терапию в детском возрасте // Педиатр. 2016. 7. (1). 120–128.

14. Скворцова Н.В., Поспелова Т.И., Ковынев И.Б., Обгольц Ю.Н., Нечунаева И.Н. Клиническое значение некоторых цитокинов и их прогностическая роль у пациентов с неходжкинскими злокачественными лимфомами // Бюл. сиб. мед. 2008. 7. (3). 63–69.

15. Шахтарина С.В., Даниленко А.А., Щелконогова Л.Н., Павлов В.В. Репродуктивная функция у женщин после лучевого и химиолучевого лечения лимфомы Ходжкина, состояние здоровья родившихся детей // Злокачеств. опухоли. 2013. (2). 95–106.

16. Albano D., Patti C., La Grutta L., Grassedonio E., Mulè A., Brancatelli G., Lagalla R., Midiri M., Galia M. Osteonecrosis detected by whole body magnetic resonance in patients with Hodgkin Lymphoma treated by BEACOPP // Eur. Radiol. 2017. 27. (5). 2129–2136.

17. Briot K., Roux C. Glucocorticoid-induced osteoporosis // RMD Open. 2015. 1. (1). e000014.

18. Camacho P.M., Petak S.M., Binkley N., Clarke B.L., Harris S.T., Hurley D.L., Kleerekoper M., Lewiecki E.M., Miller P.D., Narula H.S., Pessah-Pollack R., Tangpricha V., Wimalawansa S.J., Watts N.B. American association of clinical endocrinologists and American college of endocrinology clinical practice guidelines for the diagnosis and treatment of postmenopausal osteoporosis // Endocr. Pract. 2016. 22. (4). 1–42.

19. Davies J.H., Evans B.A., Jenney M.E., Gregory J.W. In vitro effects of combination chemotherapy on osteoblasts: implications for osteopenia in childhood malignancy // Bone. 2002. 31. 319–326.

20. Durr H.R., Muller P.E., Hiller E., Maier M., Baur A., Jansson V., Refior H.J. Malignant lymphoma of bone // Arch. Orthop. Trauma Surg. 2002. 122. (1). 10–16.

21. Filipovich A.H., Weisdorf D., Pavletic S., Socie G., Wingard J.R., Lee S.J., Martin P., Chien J., Przepiorka D., Couriel D., Cowen E.W., Dinndorf P., Farrell A., Hartzman R., Henslee-Downey J., Jacobsohn D., McDonald G., Mittleman B., Rizzo J.D., Robinson M., Schubert M., Schultz K., Shulman H., Turner M., Vogelsang G., Flowers M.E. National Institutes of Health consensus development project on criteria for clinical trials in chronic graft-versus-host disease // Biol. Blood Marrow Transplant. 2005. 11. 945–956.

22. Giwercman A. Localized irradiation of testes with carcinoma in situ: effects on Leydig cell function and eradication of malignant germ cells in 20 patients // J. Clin. Endocrinol. Metab. 1991. 73. (3). 596–603.

23. Hancock S.L., Cox R.S., McDougall I.R. Thyroid diseases after treatment of Hodgkin's disease // N. Engl. J. Med. 1991. 325. 559–605.

24. Hautmann A.H., Elad S., Lawitschka A., Greinix H., Bertz H., Halter J., Faraci M., Hofbauer L.C., Lee S., Wolff D., Holler E. Metabolic bone diseases in patients after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: report from the Consensus Conference on Clinical Practice in chronic graft-versus-host disease // Transpl. Int. 2011. 24. 867–879.

25. Hopewell J.W. Radiation-therapy effects on bone density // Med. Pediatr. Oncol. 2003. 41. (3). 208–211.

26. Howland W.J., Loeffler R.K., Starchman D.E., Johnson R.G. Postirradiation atrophic changes of bone and related complications // Radiology. 1975. 117. 677–685.

27. Inaba H., Cao X., Han A.Q., Panetta J.C., Ness K.K., Metzger M.L., Rubnitz J.E., Ribeiro R.C.,

- Sandlund J.T., Jeha S., Cheng C., Pui C.H., Relling M.V., Kaste S.C. Bone mineral density in children with acute lymphoblastic leukemia // *Cancer*. 2018. 124. (5). 1025–1035.
28. Jorgesen N.R. Cytokines and osteoporosis // *Ugeskr. Laeger*. 1997. 160. (1). 24–28.
29. Kaseb H., Babiker H.M. *Cancer, Lymphoma, Hodgkin*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2018. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK499969/>
30. Kondoh S., Imai Y. Estrogen actions on osteocytes // *Clin. Calcium*. 2012. 22. (5). 721–726.
31. Kotwal N., Upreti V., Nachankar A., Hari Kumar K.V.S. A prospective, observational study of osteoporosis in men // *Indian J. Endocrinol. Metab*. 2018. 22. (1). 62–66.
32. Krum S.A. Direct transcriptional targets of sex steroid hormones in bone // *J. Cell. Biochem*. 2011. 112. (2). 401–408.
33. Martin-Millan M., Almeida M., Ambrogini E., Han L., Zhao H., Weinstein R.S., Jilka R.L., O'Brien C.A., Manolagas S.C. The estrogen receptor-alpha in osteoclasts mediates the protective effects of estrogens on cancellous but not cortical bone // *Mol. Endocrinol*. 2010. 24. 323–334.
34. McClune B.L., Polgreen L.E., Burmeister L.A., Blaes A.H., Mulrooney D.A., Burns L.J., Majhail N.S. Screening, prevention and management of osteoporosis and bone loss in adult and pediatric hematopoietic cell transplant recipients // *Bone Marrow Transplant*. 2011. 46. 1–9.
35. Odenthal J., Takes R., Friedl P. Plasticity of tumor cell invasion: governance by growth factors and cytokines // *Carcinogenesis*. 2016. 37. (12). 1117–1128.
36. Ruchlemer R., Amit-Kohn M., Tivito A., Sindelovsky I., Zimran A., Raveh-Brawer D. Bone loss and hematological malignancies in adults: a pilot study // *Support. Care Cancer*. 2018. <https://doi.org/10.1007/s00520-018-4143-z>
37. Seland M., Smeland K.B., Bjoro T., Falk R.S., Fossa S.D., Gjesdal C.G., Godang K., Holte H., Svartberg J., Syversen U., Bollerslev J., Kiserud C.E. Bone mineral density is close to normal for age in long-term lymphoma survivors treated with high-dose therapy with autologous stem cell transplantation // *Acta Oncol*. 2017. 56. (4). 590–598.
38. Sieniawski M. Fertility in male patients with advanced Hodgkin lymphoma treated with BEACOPP: a report of the German Hodgkin Study Group (GHSG) // *Blood*. 2008. 111. (1). 71–76.
39. Soroko S.B., Barrett-Connor E., Edelstein S.L., Kritz-Silverstein D. Family history of osteoporosis and bone mineral density at the axial skeleton // *J. Bone Miner. Res*. 1997. 12. (1). 16–23.
40. Thomson A.B. Late reproductive sequelae following treatment of childhood cancer and options for fertility preservation // *Best. Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab*. 2002. 16. (2). 311–334.

FACTORS AFFECTING BONE REMODELING IN PATIENTS WITH HODGKIN'S LYMPHOMA (REVIEW)

**Mariya Sergeevna VOYTKO¹, Tatyana Ivanovna POSPELOVA¹,
Vadim Valerievich KLIMONTOV^{1,2}, Elena Viktorovna MEZIT¹**

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

² *Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Institute
of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences
630117, Novosibirsk, Russia, Arbuzov str., 6*

Hodgkin's lymphoma is considered a potentially curable disease. Chemotherapy-based salvage regimens can achieve responses in 90 % of patients with Hodgkin's lymphoma. The possibility of achieving persistent disease-free survival poses a problem of ensuring a satisfactory quality of life and preventing the long-term consequences of antitumor therapy. One of those consequences may be a change in bone mineral density. Currently, a number of researchers have established that the risk of osteoporosis and osteopenia is highest in patients with Hodgkin's lymphoma as compared to patients with other lymphoproliferative disorders. The decrease in bone mineral density can be associated with polychemotherapy including various combinations of cytostatic drugs and glucocorticoids, hypogonadism caused by toxic effects of radiotherapy and chemotherapy, tumor process, low physical activity and other factors. The high importance of the problem of osteoporosis is determined from social consequences - fractures of the vertebral bodies and fractures of the peripheral skeleton. That leads to economic risks in the health care area and causing a high level of disability. The aim of the study was to reveal the main regularities of bone remodeling in patients with Hodgkin's lymphoma.

Key words: Hodgkin's lymphoma, bone mineral density, BMD, osteoporosis, dual-energy X-ray absorptiometry, dual X-ray absorptiometry.

Voytko M.S. – postgraduate student of the department of therapy, hematology and blood transfusion,
e-mail: voytko.marie@yandex.ru

Pospelova T.I. – doctor of medical sciences, professor, head of the department of therapy, hematology
and blood transfusion, prorector for science, e-mail: post_gem@mail.ru

Klimontov V.V. – doctor of medical sciences, professor of the RAS, deputy director for science,
e-mail: klimontov@mail.ru

Mezit E.V. – postgraduate student of the department of therapy, hematology and blood transfusion,
e-mail: post_gem@mail.ru

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ОТВЕТА СОСУДИСТОЙ СТЕНКИ ПОСЛЕ ИМПЛАНТАЦИИ БИОРЕЗОРБИРУЕМЫХ СКАФФОЛДОВ И ПОКРЫТЫХ ЭВЕРОЛИМУСОМ СТЕНТОВ У БОЛЬНЫХ СТАБИЛЬНОЙ ИШЕМИЧЕСКОЙ БОЛЕЗНЬЮ СЕРДЦА

Наталья Алексеевна МУСИХИНА, Татьяна Ивановна ПЕТЕЛИНА,
Иван Сергеевич БЕССОНОВ, Наталья Алимгираевна ГАЛЕЕВА,
Елена Александровна ГОРБАТЕНКО, Алина Игоревна КОСТОУСОВА

Тюменский кардиологический научный центр,
Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН
624026, г. Тюмень, ул. Мельникайте, 111

Цель исследования – провести сравнительный анализ маркеров воспалительной реакции сосудистой стенки у больных стабильной ИБС после имплантации биорезорбируемых скаффолдов (БСК) и покрытых эверолимусом стентов в краткосрочном периоде наблюдения. **Материал и методы.** Обследовано 20 пациентов со стабильной ИБС и однососудистым поражением коронарного русла с показанием к чрескожному коронарному вмешательству (ЧКВ). В 1-ю группу вошли 9 пациентов с имплантированным стентом, покрытым эверолимусом, во 2-ю – 11 человек с имплантированным БСК. Определялись биохимические маркеры воспаления при поступлении в стационар, через 1 день, 4 дня и 1 месяц после ЧКВ. **Результаты.** В обеих группах через 1 день после ЧКВ закономерно зарегистрировано увеличение содержания в сыворотке крови цитокинов, в том числе ИЛ-6, в качестве ответной реакции на повреждение сосудистой стенки с последующим снижением через 4 дня до начального уровня. На следующий день после ЧКВ в 1-й и 2-й группах отмечено повышение концентрации матриксной металлопротеиназы 9 (ММП-9). В динамике снижение содержания ММП-9 без достижения исходного уровня через 1 месяц наблюдалось только во 2-й группе, в то время как в 1-й группе сохранялась высокая концентрация ММП-9. В сравниваемых группах зарегистрированы максимальные значения растворимого лиганда CD40 (sCD40L) на 4-й день с небольшим снижением через 1 месяц только у пациентов 2-й группы. Высокий уровень высокочувствительного С-реактивного белка (СРБ) сохранялся в течение всего периода наблюдения в обеих группах. **Заключение.** У пациентов со стабильной ИБС после имплантации БСК и стентов, покрытых эверолимусом, не выявлено различий в динамике содержания медиаторов острой фазы воспаления. Сохраняющийся высокий уровень ММП-9, sCD40L, а также повышенная концентрация СРБ предполагают пролонгированный характер воспалительного ответа сосудистой стенки, более выраженный после имплантации стентов, покрытых эверолимусом.

Ключевые слова: ишемическая болезнь сердца, ангиопластика, воспаление, биорезорбируемые скаффолды.

Чрескожные коронарные вмешательства (ЧКВ) являются эффективным методом лечения ИБС. Во многом это определяется широким внедрением в клиническую практику стентов с антипролиферативным покрытием, позволившим значительно сократить количество рестенозов. Недостатком имплантации любых типов стентов являются локальные воспалительные реакции в ответ на травму сосудистой стенки [14]. Стен-

тированные участки коронарных артерий более подвержены рестенозам в тех местах, где нормальная сосудодвигательная функция нарушена в большей степени [12]. Известно, что уменьшение подвижности сосудистой стенки ускоряет процесс атеросклероза путем активации проатерогенных генов и ингибирования антиатерогенных генов, вызывая эндотелиальную дисфункцию и воспаление [2].

Мусихина Н.А. – к.м.н., зав. отделением неотложной кардиологии научного отдела клинической кардиологии, e-mail: musihina@cardio.tmn.ru

Петелина Т.И. – д.м.н., ведущий научный сотрудник отделения артериальной гипертензии и коронарной недостаточности, e-mail: petelina@cardio.tmn.ru

Бессонов И.С. – к.м.н., врач отделения рентген-эндоваскулярных методов диагностики и лечения, e-mail: IvanBessnv@gmail.com

Галеева Н.А. – врач-кардиолог клинико-консультативного отделения, e-mail: galeeva@cardio.tmn.ru

Горбатенко Е.А. – лаборант-исследователь лаборатории инструментальной диагностики научного отдела инструментальных методов исследования (эксперт-статистик), e-mail: gorbatenko@cardio.tmn.ru

Костюсова А.И. – врач-кардиолог кардиологического отделения №1, e-mail: kostousova@cardio.tmn.ru

Сразу после стентирования происходит активация тромбоцитов и их агрегация с формированием рыхлого тромба на поверхности поврежденного эндотелия с миграцией макрофагов и лейкоцитов из циркулирующей крови. Инвазии моноцитов, активации тромбоцитов и их агрегации способствуют многочисленные молекулы адгезии и хемоаттрактанты, в частности CD40L и его растворимый фрагмент sCD40L, подавляющие реэндотелизацию внутреннего слоя коронарной артерии. Локальный выход воспалительных молекул, вызванный имплантацией стента, запускает системную воспалительную реакцию в течение нескольких часов после стентирования. ИЛ-6, ФНО- α рассматриваются как медиаторы острой фазы системного воспаления и ассоциируются с повышенным риском развития рестеноза и последующих сердечно-сосудистых осложнений [3]. Есть данные о том, что С-реактивный белок (СРБ) является предиктором неблагоприятных событий у пациентов, подвергшихся ангиопластике со стентированием коронарных артерий. Увеличенный исходный уровень высокочувствительного СРБ связан с более высоким риском последующего рестеноза [17]. Известно, что СРБ, адгезируясь на эндотелии, оказывает прямое ингибирующее влияние на стенку сосуда, приводя в конечном итоге к уменьшению биодоступности оксида азота, тем самым влияя на функцию эндотелия, повышая риск тромбообразования. Чем выше концентрация СРБ, тем больше он непосредственно участвует в развитии окислительного стресса, активации воспаления и тем глубже развивается дисфункция эндотелия [11].

При имплантации стента с антипролиферативным покрытием уменьшается выраженность воспалительной реакции в травмированной стенке сосуда, но продолжительность воспалительного ответа растягивается, что приводит к замедленной эндотелизации и возможному позднему развитию рестенозов и тромбозов [8]. Нарушения вазомоторной активности коронарных артерий, повреждение эндотелия сосудов в ходе ЧКВ, задержка эндотелизации стента и дисфункция образующегося вновь эндотелия оказывают значительное влияние на формирование рестеноза и тромбоза внутри стента.

Вышеописанных недостатков во многом могут быть лишены биорезорбируемые скаффолды (БСК), предложенные в начале XXI века. Пластичный материал биорезорбируемых внутрисосудистых каркасов создает меньше деформаций геометрии коронарных артерий, что теоретически должно способствовать уменьшению количества рестенозов [2, 13]. После резорбции каркаса восстанавливается нормальная геометрия сосуда

и улучшается функция эндотелия, что активизирует атеропротективную активность здоровой сосудистой стенки [2, 7]. Вместе с тем крупные рандомизированные исследования, проведенные в последние годы, показали, что результаты через 1 и 2 года после имплантации биоразрешимых сосудистых каркасов первого поколения не так хороши, как предполагалось, БСК приводили к ухудшению отдаленных исходов [15]. Вопрос, почему это происходит, остается открытым. Особенности воспалительной реакции сосудистой стенки при имплантации БСК в настоящее время остаются не изученными.

Цель исследования – провести сравнительный анализ маркеров воспалительной реакции сосудистой стенки у больных стабильной ИБС после имплантации БСК и стентов, покрытых эверолимусом, в краткосрочном периоде наблюдения.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Обследовано 20 мужчин и женщин со стабильной ИБС и однососудистым поражением коронарного русла по данным коронароангиографии и показанием к ЧКВ. В исследование не включались пациенты, перенесшие ЧКВ или коронарное шунтирование в предшествующий год, а также с наличием рестеноза в стенте. В 1-ю группу вошли 9 больных с имплантированным стентом, покрытым эверолимусом (Xience Prime, Abbott, США), во 2-ю группу – 11 человек с имплантированным БСК (Absorb, Abbott). Рандомизация проводилась методом случайных номеров. Базовая медикаментозная терапия у пациентов с ИБС до и после ЧКВ включала назначение ацетилсалициловой кислоты, клопидогрела, бета-адреноблокаторов, ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента или антагонистов рецепторов ангиотензина II, статинов и нитратов по потребности.

На биохимическом автоматическом анализаторе «CobasIntegra 400 plus» (Roche, Швейцария) исследовали параметры липидного обмена в сыворотке крови. В качестве биохимических маркеров воспаления определяли концентрацию в сыворотке высокочувствительного СРБ (иммунотурбидиметрическим методом с использованием аналитических наборов «C-reactive protein hs» (BioSystem, Испания) на полуавтоматическом анализаторе открытого типа «Clima MC-15» (Испания)), фактора некроза опухоли α (ФНО- α), гомоцистеина, ИЛ-1 β , ИЛ-6 (методом твердофазного хемилюминесцентного иммуноферментного анализа на анализаторе «IMMULITE 1000», Siemens Diagnostics, США), растворимого лиганда CD40 (sCD40L) (с использованием наборов

«Human sCD40L Elisa» на анализаторе «Bender MedSystems» (Австрия)), рецептора CD40 и матричной металлопротеиназы-9 (MMP-9) (Bender MedSystems GmbH, Австрия), тканевого ингибитора металлопротеиназы-1 (ТИМП-1) (с использованием наборов «Human TIMP-1» на анализаторе «Stat Fax 4200», Awareness Technologies, Китай). Уровень эндотелина-1-21, показателя функциональной активности эндотелия, определяли в сыворотке крови на иммуоферментном полуавтоматическом анализаторе «Dynatech» (Германия).

Селективную коронарографию осуществляли трансфеморальным или трансрадиальным доступами по стандартной методике Джаджинса (1967 г.) с помощью ангиографических комплексов «Diagnost ARC A», «Poly diagnost C», «Integris Allura» (Phillips, Голландия). Стентирование с использованием стентов, покрытых эверолимусом, проводили в соответствии с принятыми локальными стандартами выполнения ЧКВ. Пре- и постдилатация проводилась по решению рентген-эндоваскулярного хирурга, выполняющего процедуру. Биорезорбируемые скаффолды имплантировали с использованием предложенного производителем алгоритма PSP (predilation, scaffold sizing, and post-dilation). При этом в обязательном порядке выполняли преддилатацию, определение необходимого размера скаффолда, постдилатацию. При анализе ангиографической характеристики статистически значимых меж-

групповых различий не выявлено. При анализе выполненных вмешательств было определено, что у пациентов, которым имплантировались биодеградируемые скаффолды, чаще выполнялась пре- и постдилатация. Это связано с выполнением протокола PSP, который предусматривает обязательную пре- и постдилатацию.

Количественные данные на нормальность распределения оценивали критерием Колмогорова – Смирнова. В зависимости от распределения данных сравнение количественных показателей между двумя независимыми группами проводилось с использованием U-критерия Манна – Уитни или t-критерия Стьюдента, а динамика показателей в группах анализировалась критерием Фридмана или дисперсионным анализом для связанных выборок с применением поправки на множественные сравнения Даннета. Данные представлены в виде $M \pm SD$, где M – среднее арифметическое, SD – стандартное отклонение.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Включенные в исследование пациенты 1-й и 2-й групп не имели значимых различий по возрасту, гендерному признаку, наличию дислипидемии, сахарного диабета 2 типа, факту курения, индексу массы тела. Исходно перед ЧКВ группы не различались по показателям липидного спектра и биохимических маркеров воспаления (таблица).

Таблица

Сравнительная характеристика липидного профиля и маркеров воспаления в исследуемых группах до проведения ЧКВ

Содержание	1-я группа, n = 9	2-я группа, n = 11	p
Общий холестерин, ммоль/л	3,84 ± 0,67	4,46 ± 1,01	0,134
Липопротеины высокой плотности, ммоль/л	0,97 ± 0,21	1,13 ± 0,51	0,381
Липопротеины низкой плотности, ммоль/л	2,06 ± 0,53	2,46 ± 0,86	0,241
Липопротеины очень низкой плотности, ммоль/л	0,63 ± 0,33	0,67 ± 0,34	0,774
Триглицериды, ммоль/л	1,38 ± 0,72	1,48 ± 0,77	0,243
Аполипопротеин А, мг/дл	144,47 ± 20,14	165,56 ± 33,01	0,111
Аполипопротеин В, мг/дл	88,63 ± 20,27	102,05 ± 26,51	0,229
ИЛ-1, пг/мл	2,58 ± 0,449	2,36 ± 0,338	0,239
ИЛ-6, пг/мл	2,20 ± 0,421	2,12 ± 0,389	0,696
ФНО-α, пг/мл	3,20 ± 1,186	3,29 ± 2,110	0,904
Гомоцистеин (мкмоль/л)	15,72 ± 4,662	18,06 ± 6,116	0,358
CD40, пг/мл	29,18 ± 14,904	38,10 ± 14,578	0,194
sCD40L, пг/мл	2,66 ± 1,640	1,68 ± 0,890	0,065
CD40/CD40L	16,07 ± 13,783	33,86 ± 29,689	0,116
ММП-9, нг/мл	153,80 ± 54,094	115,41 ± 36,343	0,091
ТИМП-1, нг/мл	170,55 ± 27,054	162,08 ± 24,577	0,473
Эндотелин-1, фмоль/мл	1,33 ± 2,476	1,05 ± 2,000	0,780
СРБ, мг/л	4,64 ± 4,080	5,11 ± 2,157	0,747

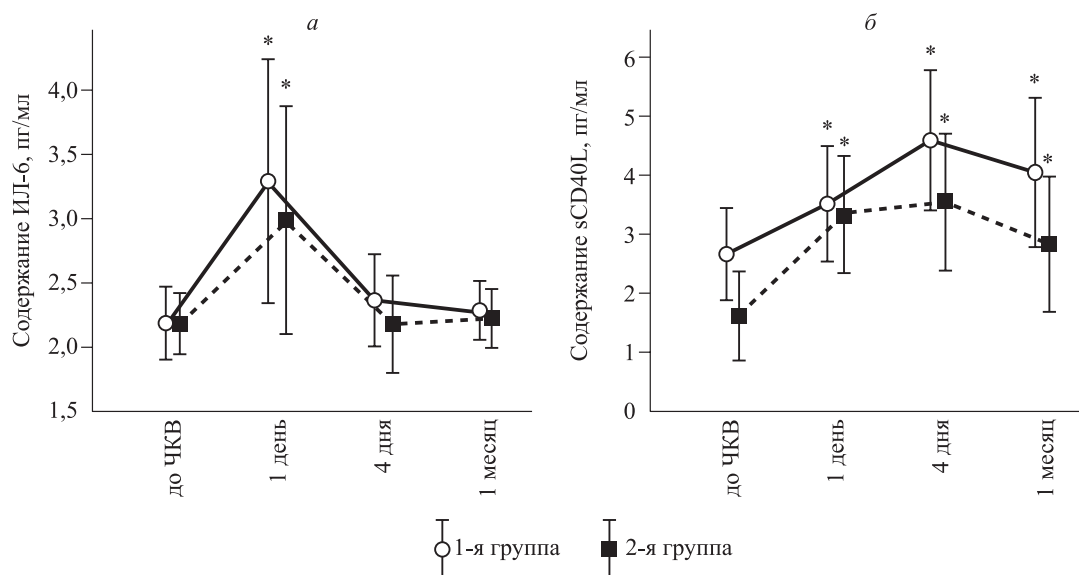


Рис. 1. Динамика ИЛ-6 (а) и sCD40L (б) после ЧКВ в сравниваемых группах; здесь и на рис. 2 * – отличие от величины соответствующего показателя до ЧКВ статистически значимо при $p < 0,05$

Через один день после ЧКВ в 1-й и 2-й группах закономерно зарегистрировано увеличение содержания в сыворотке крови цитокинов, в том числе ИЛ-6, в качестве ответной реакции на повреждение сосудистой стенки с последующим снижением через 4 дня и 1 месяц до исходного уровня (рис. 1, а). Интерлейкины считаются ключевыми медиаторами хронического воспалительного ответа сосудистой стенки при атеросклеротическом повреждении. Показано, что они являются активаторами провоспалительных процессов: так, ИЛ-6 стимулирует синтез и секрецию эндотелиального фактора роста и ММП-9 и проявляет себя как сильный митоген гладкомышечных клеток, активатор эндотелиальных клеток. Кроме того, ИЛ-6 увеличивает количество тромбоцитов в циркулирующей крови, активирует их и может играть роль в развитии неблагоприятных сердечно-сосудистых событий [16, 18]. Максимальная концентрация ИЛ-6 через сутки после ЧКВ была зарегистрирована и в других исследованиях. Есть мнение, что повышенные значения ИЛ-6, а не степень увеличения концентрации после ЧКВ может служить предиктором раннего рестеноза [4, 9].

В обеих группах повышение содержания в сыворотке крови sCD40L с максимальными значениями через 4 дня сохранялось и через 1 месяц (рис. 1, б). Провоспалительные свойства системы CD40/CD40L обусловлены ее способностью активировать синтез молекул клеточной адгезии, усиливать экспрессию матриксных металлопротеиназ, ведущих к нестабильности ате-

росклеротической бляшки. Известно, что основным источником экспрессии sCD40L являются Т-лимфоциты, макрофаги, клетки атеросклеротической бляшки и активированные тромбоциты, при этом сам маркер считают одним из показателей активации тромбоцитов. Показано, что высокие значения sCD40L могут быть предиктором рестеноза после ЧКВ, посредством влияния на развитие гиперплазии интимы и ремоделирование артерий [1].

В нашем исследовании выявлено повышение содержания в сыворотке крови MMP-9 на следующий день после ЧКВ в обеих группах, снижение без достижения исходного уровня через 1 месяц в дальнейшем зарегистрировано только во 2-й группе, у лиц с имплантированным БСК (рис. 2, а). Известно, что MMP-9 и TIMP-1 являются независимыми предикторами сердечно-сосудистых осложнений у пациентов с ИБС [6]. Установлено, что уровень MMP-9 тем выше, чем больше объем атеросклеротического поражения коронарного русла. Показано достоверное увеличение уровня MMP-9 и TIMP-1 при атеросклерозе по сравнению с больными стенокардией напряжения и здоровыми людьми. Это дает основание использовать эти два белка в качестве маркеров острой фазы (разрыв бляшки). Повышенный уровень MMP-9 имеет прогностическое значение и в отношении развития рестенозов [10].

В обеих группах сохранялся высокий уровень СРБ в течение всего периода наблюдения (рис. 2, в). Известно, что возрастание уровня СРБ является независимым сердечно-сосудистым

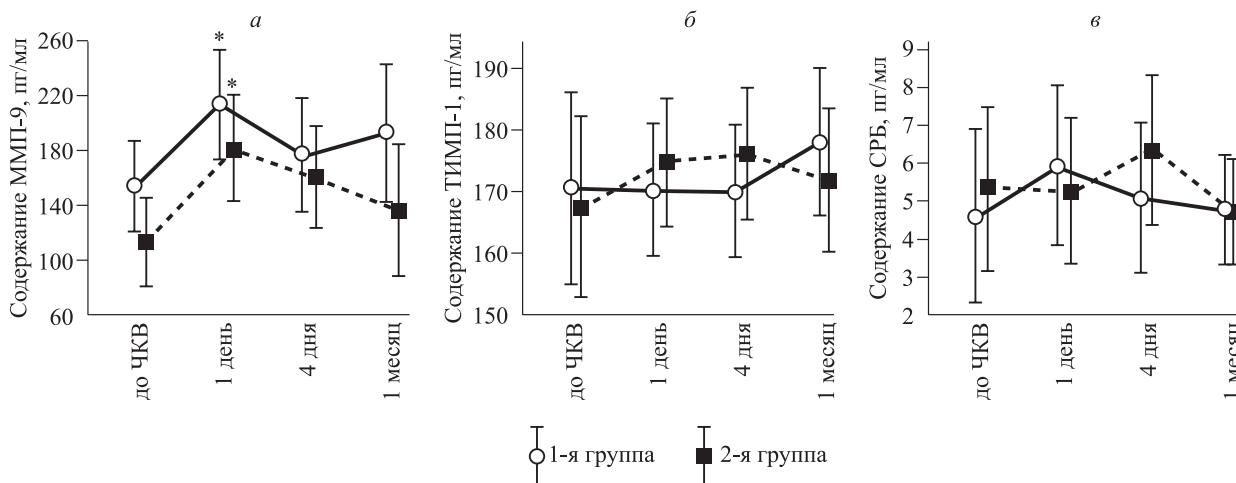


Рис. 2. Динамика ММП-9, ТИМП-1, СРБ после ЧКВ в сравниваемых группах

фактором риска, показателем скорости прогрессирования атеросклероза, который коррелирует с риском разрыва бляшки и неблагоприятных коронарных событий, а также риском рестеноза у больных, перенесших ЧКВ [5, 17].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В краткосрочном периоде наблюдения до 1 месяца у пациентов стабильной ИБС после имплантации БСК и стентов, покрытых эверолимусом, оценка параметров воспалительной реакции не выявила различий в динамике содержания медиаторов острой фазы воспаления. Сохраняющиеся высокие уровни маркера ремоделирования структур внеклеточного матрикса ММП-9, провоспалительного фактора нестабильности атеросклеротической бляшки sCD40L, а также увеличение концентрации СРБ предполагают пролонгированный характер воспалительного ответа сосудистой стенки, более выраженный после имплантации стентов, покрытых эверолимусом.

ОГРАНИЧЕНИЯ ИССЛЕДОВАНИЯ

Настоящее исследование является пилотным. Статистические различия, выявленные в результате анализа, пока не позволяют делать обобщений ввиду малого объема выборки. Результаты дают возможность получить представление о разнице в динамике изучаемых параметров и рассчитать в дальнейшем необходимый размер выборки и сроки проспективного наблюдения для более полной аргументации полученных данных.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Барбараш О.Л., Осокина А.В. Роль маркеров системы CD40/CD40L в прогнозировании сердечно-сосудистых событий при коронарном атеросклерозе // Патол. кровообращения и кардиохирургия. 2011. (3). 89–93.
2. Плечев В.В., Николаева И.Е., Бузаев И.В., Загитов И.Г., Ризберг Р.Ю., Яманаева И.Е. Биорезорбируемые внутрисосудистые каркасы. Обзорная статья // Креатив. хирургия и онкология. 2017. 7. (4). 53–62.
3. Проскуряков А.И., Мироненко С.П., Осиев А.Г. Клинико-иммунологические аспекты формирования рестеноза после коронарного стентирования при ИБС // Мед. и образование в Сибири. 2013. (3). <https://reader.ru/14299210>.
4. Семенухин А.А., Грачев Н.И., Маркелова Е.В., Турмова Е.П. Анализ иммунобиохимических маркеров в развитии рестеноза после стентирования коронарных артерий у пациентов со стабильной стенокардией // Здоровье и образование в XXI в. 2016. 18. (2). 626–635.
5. Bibek S.B., Xie Y., Gao J.J., Wang Z., Wang J.F., Geng D.F. Role of pre-procedural C-reactive protein level in the prediction of major adverse cardiac events in patients undergoing percutaneous coronary intervention: a meta-analysis of longitudinal studies // Inflammation. 2015. 38. (1). 159–169.
6. Blankenberg S., Rupprecht H.J., Poirier O., Bickel C., Smieja M., Hafner G., Meyer J., Cambien F., Tiret L. Plasma concentrations and genetic variation of matrix metalloproteinase 9 and prognosis of patients with cardiovascular disease // Circulation. 2003. 107. 1579–1585.
7. Bourantas C.V., Papafaklis M.I., Garcia-Garcia H.M., Farooq V., Diletti R., Muramatsu T., Zhang Y., Kalatzis F.G., Naka K.K., Fotiadis D.I., Onuma Y., Michalis L.K., Serruys P.W. Short- and long-term implications of a bioresorbable vascular

scaffold implantation on the local endothelial shear stress patterns // JACC Cardiovasc. Interv. 2014. 7. (1). 100–101.

8. Finn A.V., Kolofgie F.D., Harnek J. Differential response of delayed healing and persistent inflammation at sites of overlapping sirolimus- or paclitaxel-eluting stents // Circulation. 2005. 112. (2). 270–78.

9. Gao J., Liu Y., Cui R.Z., Mao Y.M., Zhou J., Chen Q., Zhao F.M., Yang G.M. Relationship of interleukin-6-572C/G promoter polymorphism and serum levels to post-percutaneous coronary intervention restenosis // Chin. Med. J. 2013. 126. (6). 1019–1025.

10. Katsaros K.M., Kastl S.P., Zorn G., Maurer G., Wojta J., Huber K., Christ G., Speidl W.S. Increased restenosis rate after implantation of drug-eluting stents in patients with elevated serum activity of matrix metalloproteinase-2 and -9 // JACC Cardiovasc. Interv. 2010. 3. (1). 90–97.

11. Pasceri V., Willerson J.T., Yeh E.T. Direct proinflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cells // Circulation. 2000. 102. (6). 2165–2168.

12. Samady H., Eshtehardi P., McDaniel M.C., Suo J., Dhawan S.S., Maynard C., Timmons L.H., Quyyumi A.A., Giddens D.P. Coronary artery wall shear stress is associated with progression and transformation of atherosclerotic plaque and arterial remodeling in patients with coronary artery disease // Circulation. 2011. 124. (7). 779–788.

13. Serruys P.W., Garcia-Garcia H.M., Onuma Y. From metallic cages to transient bioresorbable scaffolds: Change in paradigm of coronary revascularization in the upcoming decade? // Eur. Heart J. 2012. 33. (1). 16–25.

14. Simon D.I. Inflammation and vascular injury: basic discovery to drug development // Circ. J. 2012. 76. 1811–1818.

15. Sorrentino S., Giustino G., Mehran R., Kini A.S., Sharma S.K., Faggioni M., Farhan S., Vogel B., Indolfi C., Dangas G.D. Everolimus-eluting bioresorbable scaffolds versus everolimus-eluting metallic stents // J. Am. Coll. Cardiol. 2017. 69. (25). 3055–3066.

16. Tuomisto K., Jousilahti P., Sundvall J., Pajunen P., Salomaa V. C-reactive protein, interleukin-6 and tumor necrosis factor alpha as predictors of incident coronary and cardiovascular events and total mortality. A population-based, prospective study // Thromb. Haemost. 2006. 95. (3). 511–518.

17. Walter D.H., Fichtlschere S., Sellwig M., Auch-Schwellk W., Schachinger V., Zeiher A.M. Preprocedural C-reactive protein levels and cardiovascular events after coronary stent implantation // J. Am. Coll. Cardiol. 2001. 37. 839–846.

18. Williams N., Bertoncello I., Jackson H., Arnold J., Kavnoudias H. The role of interleukin 6 in megakaryocyte formation, megakaryocyte development and platelet production // Ciba Found Symp. 1992. 167. 160–170.

COMPARATIVE ANALYSIS OF THE INFLAMMATORY RESPOND OF THE VASCULAR WALL AFTER IMPLANTATION OF BIORESORBABLE SCAFFOLDS AND EVEROLIMUS COVERED STENTS IN PATIENTS WITH STABLE CORONARY ARTERY DISEASE

Natal'ya Alekseevna MUSIKHINA, Tat'yana Ivanovna PETELINA,
Ivan Sergeevich BESSONOV, Natal'ya Alimgiraevna GALEEVA,
Elena Aleksandrovna GORBATENKO, Alina Igorevna KOSTOUSOVA

*Tyumen Cardiology Research Center, Tomsk National Research Medical Center of RAS
625026, Tyumen, Melnikayte str., 111*

Aim – to conduct a comparative analysis of markers of inflammatory reaction of the vascular wall in patients with stable coronary artery disease (CAD) after implantation of bioresorbable scaffolds (BS) and everolimus-eluting stents during short observation period. **Material and methods.** 20 patients with stable CAD and mono-vessel coronary bed lesion with indication to percutaneous coronary intervention (PCI) were studied. Group 1 consisted of 9 patients with implanted stent covered with everolimus; group 2 consisted of 11 patients with implanted BS. Biochemical inflammatory markers were defined at the admission time, in 1 day, 4 days and 1 month after PCI. **Results.** In 1 day after PCI both groups expectedly showed cytokine level growth, including interleukin 6 (IL-6), as a respond to the vascular wall lesion with the following decrease in 4 days to the initial level. On the second day after PCI serum content of matrix metalloproteinases 9 (MMPs-9) was increased in groups 1 and 2 of patients. Lowering of MMPs-9 with no reaching the initial level in 1 month was noticed only in group 2, whereas group 1 kept high concentration of MMPs-9. The comparable groups had the maximum content of soluble CD40-ligand (sCD40L) on the 4th day with a little lowering after 1 month only in group 2. High level of high-sensitive C-reactive protein (CRP) remained during the entire follow-up period in both groups. **Conclusion:** Patients with stable CAD after implantation of BS and everolimus covered stents did not have any differences in dynamics of mediators of acute inflammation phase. Persistent high levels of MMPs-9, sCD40L and also elevated concentration of CRP assume prolonged character of the vascular wall inflammatory respond, being more expressed after implantation of everolimus covered stents.

Key words: coronary artery disease, angioplasty, inflammation, bioresorbable scaffolds.

*Musikhina N.A. – candidate of medical sciences, head of the emergency cardiology department,
e-mail: musikhina@cardio.tmn.ru*

Petelina T.I. – doctor of medical sciences, leading researcher, e-mail: petelina@cardio.tmn.ru

Bessonov I.S. – candidate of medical sciences, interventional cardiologist, e-mail: IvanBessnv@gmail.com

Galeeva N.A. – cardiologist, e-mail: galeeva@cardio.tmn.ru

Gorbatenko E.A. – assistant-researcher, e-mail: gorbatenko@cardio.tmn.ru

Koustousova A.I. – cardiologist, e-mail: koustousova@cardio.tmn.ru

КОСТНО-ПЛАСТИЧЕСКАЯ ОРБИТОТОМИЯ ПО КРЕНЛЕЙНУ В ХИРУРГИЧЕСКОМ ЛЕЧЕНИИ КАВЕРНОЗНЫХ ГЕМАНГИОМ ОРБИТЫ

Иван Викторович ПЕНДЮРИН¹, Вячеслав Владимирович СТУПАК¹,
Игорь Анатольевич ВАСИЛЬЕВ¹, Мария Сергеевна СЕЛЯКОВА²

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

Целью исследования явилась оценка результатов хирургического лечения объемных образований орбиты на примере кавернозных ангиом методом костно-пластической орбитотомии по Кренлейну в условиях нейрохирургической клиники. **Материал и методы.** В отделении нейрохирургии Новосибирского НИИ травматологии и ортопедии с 2007 по 2016 г. оперировано 20 человек с первичными и вторичными (прорастающими в полость орбиты) опухолями орбиты. Среди этих 20 новообразований (0,65 % от всех опухолей головного мозга, удаленных в клинике за этот период) менингиом было 13 (65 %), глиом зрительного нерва – 4 (20 %), кавернозных ангиом – 3 (15 %). Трое больных имели объемные образования, локализующиеся непосредственно в полости орбиты, без распространения в канал зрительного нерва и интракраниально; во всех трех случаях опухоли являлись кавернозными гемангиомами, что подтверждалось патоморфологическими исследованиями. **Результаты.** У всех оперированных кавернозные гемангиомы удалены тотально. Послеоперационное течение пациентов гладкое, заживление раны первичным натяжением. Ухудшения остроты зрения не отмечено. По результатам мультиспиральной компьютерной томографии в раннем послеоперационном периоде (на следующие сутки после операции) признаков наличия опухоли нет. Все пациенты выписаны из клиники в удовлетворительном состоянии на 7-е сутки. Контрольное обследование, в том числе магнитно-резонансная томография спустя 5 лет с момента проведения операции, показало, что оперированные особых жалоб не предъявляли. Экзофтальм регрессировал полностью. Острота зрения у всех больных восстановилась до 1,0. Косметический дефект отсутствовал. У всех пациентов имелся хороший функциональный результат – полное восстановление движения глазного яблока. **Заключение.** Пациенты с первичными объемными образованиями полости орбиты в виде кавернозных гемангиом латеральной локализации могут быть успешно оперированы в условиях нейрохирургического отделения с применением малоинвазивного доступа – костно-пластической орбитотомии методом Кренлейна при правильном техническом его исполнении. Доступ носит малотравматичный характер, позволяет осуществить широкий обзор полости орбиты, обеспечивает необходимое операционное пространство и визуализацию зоны манипуляции хирурга, что позволяет максимально атравматично осуществить радикальное удаление новообразования, не повредив здоровые ткани, крупные сосуды и зрительный нерв, хорошо переносится пациентами.

Ключевые слова: орбитотомия, опухоли орбиты, кавернозные гемангиомы орбиты, доступы в орбиту, Кренлейн.

Среди всех заболеваний орбиты опухоли составляют 50–70 % случаев [7], из них 43 % являются доброкачественными, а 57 % – злокачественными. Объемные образования орбиты могут быть различными по гистогенезу. До 80 % данных опухолей, как правило, являются первичными, растущими из тканей самой орбиты [3, 7].

Кавернозная гемангиома (КГ) – новообразование орбиты у взрослых, составляющее 4 % от всех опухолей орбиты [1, 3, 5–7, 17, 18]. Среди всех сосудистых опухолей этой локализации, по данным современной литературы, КГ встречаются в 70–80 % случаев [1, 5–7]. Имеются данные о том, что у женщин они диагностируются чаще,

Пендюрин И.В. – к.м.н., старший научный сотрудник научно-исследовательского отделения нейрохирургии, e-mail: ivan75nsk@yandex.ru

Ступак В.В. – д.м.н., проф., начальник научно-исследовательского отделения нейрохирургии, e-mail: VStupak@niito.ru

Васильев И.А. – к.м.н., младший научный сотрудник научно-исследовательского отделения нейрохирургии, e-mail: IVasilev@niito.ru

Селякова М.С. – аспирант кафедры патологической анатомии, e-mail: IVasilev@niito.ru

чем у мужчин [9]. КГ не является истинной опухолью, а считается пороком развития сосудов. Ее относят к гамартомам – опухолеподобным образованиям, возникающим в результате нарушения эмбрионального развития органов и тканей и состоящим из тех же компонентов, что и орган, где они находятся, но отличающимся неправильным расположением и степенью дифференцировки [3, 8, 9, 15]. Так как КГ гистологически гемангиомой не является (не пролиферирует, не подвергается инволюции, не сочетается с другими гемангиомами, не экспрессирует *glut-1* и *Lewis-Y*), название «одиночные инкапсулированные венозно-лимфатические мальформации» наиболее точно соответствует структуре и морфологическим особенностям этого образования [2, 3, 8, 9, 15]. Как правило, КГ представляют собой округлые сосудистые мальформации, которые характеризуются наличием тонкостенных синусоидальных полостей, содержащих сладжированную кровь [9].

К основным клиническим проявлениям КГ относятся постепенно прогрессирующий непугливающий экзофтальм, вызывающий косметические дефекты, ограничение объема движения глазного яблока и снижение остроты зрения, а также наличие ощущения дискомфорта и болевого синдрома. В некоторых случаях клинические симптомы могут длительно протекать без явной прогрессии и выявляются как случайные находки при проведении магнитно-резонансной томографии (МРТ) или мультиспиральной компьютерной томографии (МСКТ) [1, 2, 4, 6, 10, 13, 16, 18]. Острое начало заболевания и быстрое нарастание симптоматики при интраорбитальных гемангиомах встречается крайне редко.

Механизм увеличения размеров КГ орбиты до конца не ясен. По данным некоторых исследователей, оно происходит в результате капиллярной пролиферации с образованием кавернозных полостей [2, 9]. Другая гипотеза предполагает рост образований за счет эндотелиальной гиперплазии [9]. Принимая во внимание то, что КГ являются все же сосудистыми мальформациями, их рост связан, вероятнее всего, с повторными кровоизлияниями как внутрь своей стромы, так и в окружающие ткани [2, 8, 9, 16]. При этом склонность к кровоизлиянию КГ орбиты, связанная с их структурной особенностью в виде большого содержания фиброзной ткани, невысока, что отличает их от КГ головного мозга [9, 12].

КГ орбиты, как правило, диагностируются при проведении МРТ или МСКТ-визуализации по поводу возникшей симптоматики, но часто при бессимптомном течении они являются случайной находкой при обследовании пациентов с подозрением на другую церебральную патологию.

Хирургическое удаление является методом выбора лечения больших КГ, имеющих клиническую симптоматику, в том числе при наличии и прогрессировании сдавления зрительного нерва и диплопию. Бессимптомные КГ орбиты нередко нуждаются в динамическом наблюдении [2, 9, 18]. Хирургия КГ имеет наибольшие сложности при ретробульбарном расположении КГ и ее больших размерах, когда удаление может привести к травме зрительного нерва, мышц глазного яблока и черепно-мозговых нервов. Этим объясняется небольшое число хирургических доступов и интерес к проблеме их оптимального выбора для удаления опухолей орбиты [2, 4–6, 11, 13, 19]. Удаление опухолей с распространением в полость орбиты происходит в основном из общепринятых нейрохирургических доступов, заключающихся в краниотомии и открытии, как правило, верхней или латеральной стенки орбиты. При наличии объемных образований, локализующихся собственно в орбите, возможно применение другого доступа – костно-пластической орбитотомии с открытием ее наружной стенки, которая достаточно широко открывает полость орбиты и позволяет свободно манипулировать в ней [2, 5, 6, 14, 15].

Термин «орбитотомия» введен в специальную отечественную литературу в 1904 г. С.С. Головиным. Транскраниальная орбитотомия отличается многообразием подходов к глазнице. При классической транскраниальной орбитотомии по Денди (1942 г.) после трепанации черепа резецируют верхнюю стенку глазницы в виде четырехугольника. Впервые костная орбитотомия с резекцией наружной стенки орбиты была предложена и выполнена Кренлейном в 1888 г. Костный лоскут по окончании операции репонируют на место и фиксируют с помощью швов. Для восстановления нормальной топографии перед репонированием костного лоскута ушивается надкостница. Как и при любой орбитотомии, удаление КГ всегда сопряжено с риском осложнений. Наиболее тяжелым является ухудшение зрения вплоть до его утраты. По данным G.E. Rose [17], более высокая частота потери зрения отмечается после удаления больших новообразований орбиты. Поэтому рациональное использование разработанных доступов к опухолям орбиты с наименьшей травмой для ее анатомических образований чрезвычайно важно, оно, в первую очередь, определяется локализацией и размером новообразования [2, 4, 8, 10, 17–19].

Отделение нейрохирургии Новосибирского НИИ травматологии и ортопедии (ННИИТО) более 30 лет специализируется на хирургическом лечении опухолей головного и спинного мозга. Среди пациентов отделения имеются больные с

опухолями, распространяющимися в канал зрительного нерва и орбиту, в том числе и новообразования, расположенные непосредственно в полости орбиты. Однако в данном сообщении пойдет речь о трех редких клинических наблюдениях больных, оперированных за последние 10 лет в отделении нейрохирургии, – пациентов с КГ орбиты, удаленной малотравматичным доступом – методом костно-пластической орбитотомии по Кренлейну.

Цель исследования – оценить результаты хирургического лечения объемных образований орбиты на примере КГ методом костно-пластической орбитотомии по Кренлейну в условиях нейрохирургической клиники.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В отделении нейрохирургии ННИИТО с 2007 по 2016 г. оперировано 20 человек с первичными и вторичными (прорастающими в полость орбиты) опухолями орбиты. Среди этих 20 новообразований (0,65 % от всех опухолей головного мозга, удаленных в клинике за этот период) менингиом было 13 (65 %), глиом зрительного нерва – 4 (20 %), кавернозных ангиом – 3 (15 %). Трое больных имели объемные образования, локализующиеся непосредственно в полости орбиты, без распространения в канал зрительного нерва и интракраниально; во всех трех случаях опухоли являлись КГ, что подтверждалось патоморфологическими исследованиями. Все пациенты предъявляли жалобы на дискомфорт и умеренные боли в области орбиты, глазного яблока, наличие экзофтальма и периодическую диплопию.

Согласно данным осмотра офтальмолога в дооперационном периоде, нарушения полей зрения отмечено не было ни в одном случае. Глазодвигательные нарушения в дооперационном

периоде отмечены у двух человек и представлены ограничением отведения глазного яблока на стороне поражения наружу, в связи с чем у этих пациентов отмечалась диплопия. Нарушение остроты зрения на стороне патологии отмечалось у всех трех больных и имели разную степень выраженности. В одном случае острота зрения на стороне поражения составляла 0,2, в другом – 0,6, в третьем – 0,9. Диск зрительного нерва на стороне поражения в одном случае розовый, границы его ступенчаты; во втором – монотонный, границы четкие; в третьем – бледно-розовый, с четкими границами.

Методом диагностики у всех трех больных явилась рутинная МРТ головного мозга, дополненная контрастным усилением. На МРТ-изображениях у всех оперированных выявлено наличие ретробульбарно расположенного объемного образования с четкими контурами без отчетливых признаков инвазии в окружающие ткани, с дислокацией зрительного нерва. У одного пациента опухоль была в правой, у двух – в левой орбите. В полости орбиты они локализовались в ее латеральных отделах (рис. 1). Размеры КГ составляли 1,5 × 1,5 × 1,9 см, 2,4 × 2,7 × 2,3 см и 2,0 × 1,4 × 2,0 см.

Больные оперированы с использованием микрохирургической техники. Учитывая локализацию новообразования, его объем, доступ к нему осуществлялся в виде наружной костно-пластической орбитотомии по методу Кренлейна. Для этого производился разрез мягких тканей по ходу брови (ее латеральной половины) с дальнейшим полукруглым продолжением разреза латерально и книзу еще приблизительно на 1,5–2 см, по ходу мимических складок.

Отслойка надкостницы начиналась в среднем отделе разреза у орбитального края, распространяясь вверх за лобно-скуловой шов, книзу до

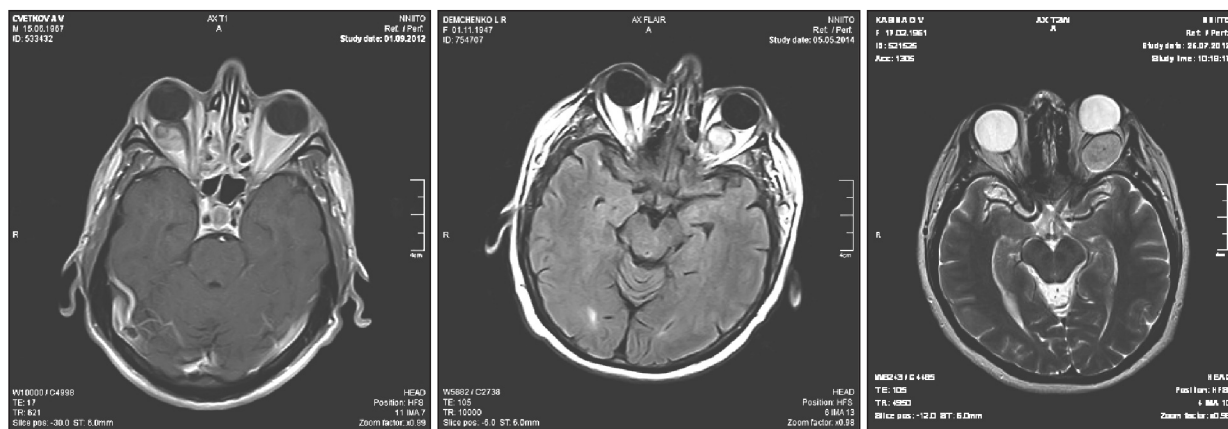


Рис. 1. МРТ-изображения головного мозга и орбит (аксиальные срезы) трех пациентов до оперативного вмешательства

нижней глазничной щели и кзади от сфеноидально-скулового шва. Отведя кпереди содержимое орбиты вместе с надкостницей, резецировали из наружной стенки ее костный клин, основанием которого является наружный орбитальный край, а вершиной – середина нижней глазничной щели. Образование клина формировалось при помощи тонкого и острого долота, путем отделения скулового отростка от лобной кости, с последующим надсечением кости по прямой линии, идущей косо книзу, начиная от скулового отростка (уже отделенного) и до нижней глазничной щели. После этого пересекали лобный отросток скуловой кости и кость от указанного участка до глазничной щели. Резецированный костный клин с мягкими тканями (т.е. кожно-фасциально-мышечно-поднадкостнично-костный лоскут) отворачивался кнаружи. После резекции наружной стенки и рассечения апоневротического листка формировался максимальный доступ в орбиту.

В межмышечном пространстве орбиты под увеличением (хирургический микроскоп) до $\times 15$, с применением микрохирургической техники и инструментария, производилось выделение объемного образования от мышц, зрительного нерва, сосудов и поэтапное его тотальное удаление. С целью исключения лишнего объема в полости орбиты при остановке кровотечения гемостатический материал не использовался. Последним этапом операции явилась репозиция резецированной наружной стенки орбиты и фиксация ее при помощи титановых пластин и малых винтов, что позволяло надежно и анатомически правильно фиксировать этот костный фрагмент (рис. 2.) с предварительным ушиванием надкостницы. Подкожно-жировая клетчатка ушивалась. На кожу накладывался косметический шов. Операция заканчивалась наложением асептической давящей повязки.

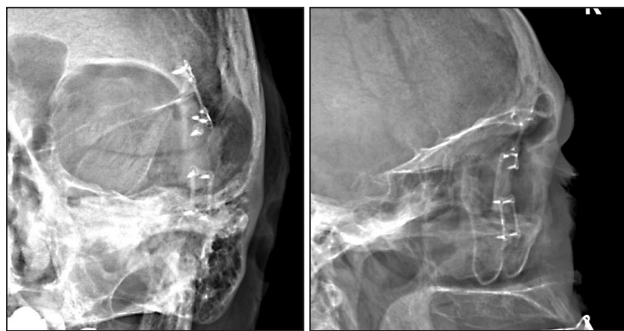


Рис. 2. Рентгенограммы черепа в двух проекциях больного, оперированного методом наружной костно-пластической орбитотомии по Кренлейну по поводу КГ левой орбиты, после репозиции и остеосинтеза латеральной стенки орбиты титановыми пластинами

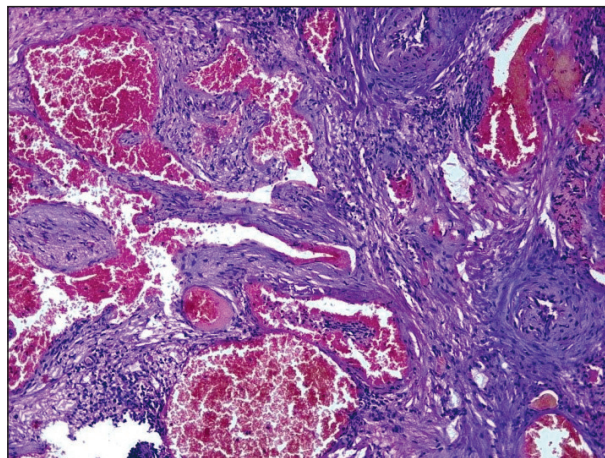


Рис. 3. Микрореципент материала, полученного в результате хирургического лечения. Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 200$

По гистологическим данным материал, полученный в результате хирургического лечения, во всех трех случаях соответствовал КГ, Grade 1. Образование состоит из разновеликих полнокровных полигональных сосудистых полостей венозно-синусоидного типа, выстланных одним слоем зрелых эндотелиальных клеток и разделенных соединительнотканной перегородками, типа трабекул разной толщины, расположенных в склерозированной строме с лимфоидными инфильтратами (рис. 3).

РЕЗУЛЬТАТЫ

У всех оперированных КГ удалены тотально. Послеоперационное течение гладкое, заживление раны первичным натяжением в условиях интрадермального шва. Отмечались умеренно выраженные явления параорбитального отека в раннем послеоперационном периоде, регрессирующего к 6–10 суткам. Ухудшения остроты зрения не отмечено. Движение глазного яблока в первые 4–5 суток умеренно ограничено из-за послеоперационного отека, с последующим восстановлением.

По результатам МСКТ-контроля, в раннем послеоперационном периоде (на следующие сутки после операции) признаков наличия опухоли нет. Все больные в удовлетворительном состоянии выписаны из клиники на 7-е сутки. Контрольное исследование спустя 5 лет с момента проведения операции показало, что оперированные особых жалоб не предъявляли, косметический дефект отсутствовал, экзофтальм регрессировал полностью (рис. 4), у всех больных полностью восстановились острота зрения (до 1,0) и движение глазного яблока, МРТ головного мозга подтвердило отсутствие рецидива гемангиомы (рис. 5).



Рис. 4. Послеоперационные фотографии пациентов спустя 5 лет с момента проведения операции

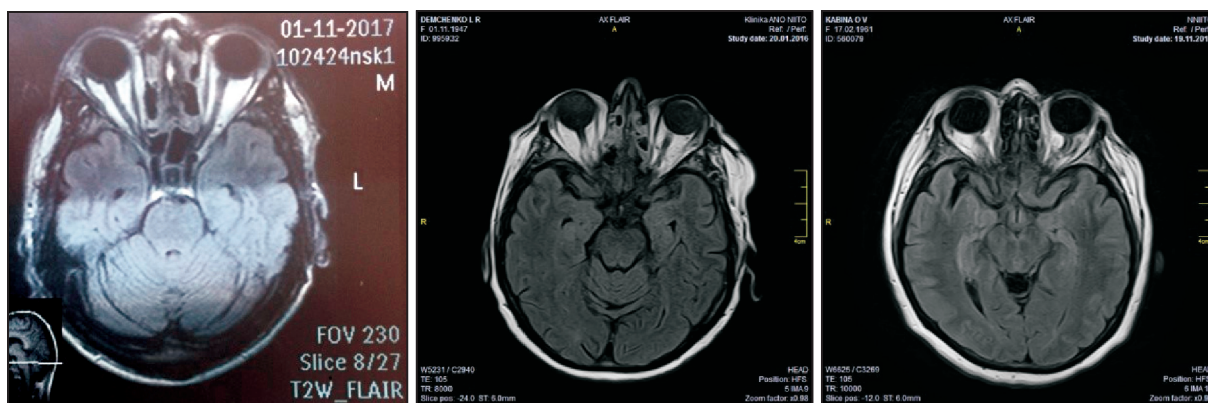


Рис. 5. МРТ-изображения оперированных пациентов спустя 5 лет с момента проведения операции

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, пациенты с первичными объемными образованиями полости орбиты в виде КГ латеральной локализации могут быть успешно оперированы в условиях нейрохирургического отделения с применением малоинвазивного доступа – костно-пластической орбитотомии методом Кренлейна – при правильном техническом его исполнении. Доступ малотравматичен, позволяет осуществить достаточно широкий обзор полости орбиты, обеспечивает необходимое операционное пространство и визуализацию зоны манипуляции хирурга, что позволяет максимально атравматично выполнить радикальное удаление новообразования, не повредив здоровые ткани, крупные сосуды и зрительный нерв. Осложнений как в интра-, так и в послеоперационном периоде не отмечается, доступ хорошо переносится пациентами. Ближайшие и отдаленные клинические результаты демонстрируют не только положительную послеоперационную динамику функции зрительного нерва, но и хороший косметический результат.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии возможных конфликтов интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алтынбаева Л.Р., Серезин И.Н., Акчурина Р.А. Дифференциальная диагностика гемангиом и других объемных образований орбиты // Казан. мед. журн. 2015. 96. (3). 361–364.
2. Бровкина А.Ф. Болезни орбиты: руководство для врачей. 2-е изд. М.: Медицинское информационное агентство, 2008. 256 с.
3. Готко А.В., Кивелев J.V., Сон А.С. Кавернозные мальформации головного и спинного мозга // Укр. нейрохирург. журн. 2013. (3). 10–15.
4. Григорьева Н.Н., Серова Н.К., Черкаев В.А., Белов А.И., Шишкина Л.В., Щурова И.Н. Характеристика глазодвигательных нарушений у больных с кавернозными гемангиомами орбитокраниальной локализации: клиническая картина и результаты хирургического лечения // Актуальные вопросы нейроофтальмологии: мат. XII науч.-практ. конф., Москва, 28 января 2011 г. М., 2011. 9–11.
5. Линник Л.Ф., Яровой А.А., Булгакова Е.С. Удаление опухолей орбиты методом костно-пластической орбитотомии по методу Кренлейна–Берке // Вестн. ОГУ. 2007. (78). 139–140.
6. Олюшин В.Е., Рябуха Н.П., Закодырин Д.Е. Хирургическое лечение сосудистых новообразований краниоорбитальной области и глазницы // Рос. нейрохирург. журн. 2010. 2. (2). 36–40.
7. Светицкий П.В., Карнаухов Н.С. Киста орбиты // Междунар. журн. прикл. и фундам. исслед. 2017. (4). 522–525.

8. Стешенко О.Н. Осложнения при проведении орбитотомий: обзор литературы // Все новости офтальмологии. 2012. <http://www.eyenews.ru/news/item107880>.
9. Черкаев В.А., Серова Н.К., Белов А.И., Кудрявцева П.А., Бочаров А.А. Кавернозная гемангиома зрительного канала и верхней глазничной щели // Вопр. нейрохирургии. 2006. (3). 40–42.
10. Ansari S.A., Mafee M.F. Orbital cavernous hemangioma: role of imaging // Neuroimaging Clin. N. Am. 2005. 15. (1). 137–158.
11. Brusati R., Goisis M., Biglioli F., Guareschi M., Nucci P., Gianni A.B. Surgical approaches to cavernous haemangiomas of the orbit // Brit. J. Oral. Maxillofac. Surg. 2007. 45. 457–462.
12. Fay A., Rodgers I.R. Vascular anomalies of the eyelid and orbit // Albert & Jakobiec's Principles and Practice of Ophthalmology. 3rd ed. Philadelphia, 2008. 3005–3019.
13. Hassler W., Schaller C., Farghaly F., Rohde V. Transconjunctival approach to a large cavernoma of the orbit // Neurosurgery. 1994. 34. 859–861.
14. Kersten R.C., Kulwin D.R. Vertical lid split orbitotomy revisited // Ophthalmic Plast. Reconstr. Surg. 1999. 15. 425–428.
15. Kuratti H., Bulur B., Bilgic S. Transconjunctival approach for retrobulbar intraconal orbital cavernous hemangiomas. Orbital surgeon's perspective // Surg. Neurol. 2005. 64. (6). 71–74.
16. Muller-Forell W., Pitz S. Orbital pathology // Eur. J. Radiol. 2004. 49. (2). 105–142.
17. Rose G.E. The «Devil's touch»; visual loss and orbital surgery. A synopsis of the Mustardé Lecture, 2006 // Orbit. 2007. 26. (3). 147–158.
18. Rosca T.I., Pop M.I., Curca M., Vladescu T.G., Tihoan C.S., Serban A.T., Bontas E.A., Gherghescu G. Vascular tumors in the orbit – capillary and cavernous hemangiomas // Ann. Diagn. Pathol. 2006. 10. (1). 13–19.
19. Scheuerle A.F., Steiner H.H., Kolling G., Kunze S., Aschoff A. Treatment and long-term outcome of patients with orbital cavernomas // Am. J. Ophthalmol. 2004. 138 (2). 237–244.

BONE-PLASTIC ORBITOTOMY BY METHOD OF KRENLANE IN THE SURGICAL TREATMENT OF CAVERNOUS HEMANGIOMAS OF THE ORBIT

Ivan Viktorovich PENDYURIN¹, Vyacheslav Vladimirovich STUPAK¹,
Igor' Anatol'evich VASIL'EV¹, Mariya Sergeevna SELYAKOVA²

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

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

The article is devoted to the description of three clinical cases of patients with rare pathology – cavernous hemangioma of the orbit cavity operated in the neurosurgery clinic of Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopedics. The aim of the study was to evaluate the results of surgical treatment of orbital masses through the example the Krenlane method of cavernous angioma orbitotomy in the neurosurgical clinic. **Material and methods.** 20 people with primary and secondary (growing into the orbit cavity) orbit tumors were operated in the neurosurgery clinic from 2007 to 2016. Among these 20 tumor cases (0.65 % of all brain tumors have been removed in the clinic during this period) there were 13 meningiomas (65 %); 4 gliomas of the optic nerve (20 %); 3 cavernous angiomas (15 %). 3 patients had volumetric formations localized directly into the orbital cavity without spreading into the optic nerve canal and intracranial. In all 3 cases, tumors were cavernous hemangiomas confirmed by pathomorphological studies. **Results.** All operated cavernous hemangiomas were removed totally. The patients' postoperative course was smooth, wound healing went by primary tension. Visual acuity deterioration was not observed. According to the results of MSCT control, there were no tumor signs in the early postoperative period (the next day after the operation). All patients were dismissed in satisfactory condition on the seventh day. Control tests, including an MRI after 5 years from the time of the operation showed that the operated patients did not complain. Exophthalmos regressed completely. Visual acuity in all patients recovered to 1.0. Cosmetic defect was absent. All patients had a good functional result – a complete restoration of eyeball movement. **Conclusions.** Patients with primary volume formations of the orbit cavity in the form of cavernous hemangiomas of lateral localization can be successfully operated with the use of minimally invasive access – bone-plastic orbitotomy, by the method of Krenlane with its proper technical execution. The access is of low-traumatic nature, allows for a wide view of the orbit cavity, provides the necessary operational space and visualization of the surgeon's manipulation zone, which allows to perform radical removal of the tumor as much as possible without damaging healthy tissues, large vessels and the optic nerve, is well tolerated by patients.

Key words: orbitotomy, tumors of the orbit, orbital cavernous hemangioma, accesses to the orbit, Krenlane.

Pendyurin I.V. – candidate of medical sciences, senior researcher of neurosurgical department,
e-mail: ivan75nsk@yandex.ru

Stupak V.V. – doctor of medical sciences, professor, head of the neurosurgical department, leading researcher,
e-mail: VStupak@niito.ru

Vasil'ev I.A. – candidate of medical sciences, junior researcher of neurosurgical department,
e-mail: IVasilev@niito.ru

Selyakova M.S. – post-graduate student of the chair for pathological anatomy, e-mail: IVasilev@niito.ru

ПРИМЕНЕНИЕ ФИЗИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ С ЦЕЛЬЮ СНИЖЕНИЯ БАРЬЕРНОЙ ФУНКЦИИ ЭПИДЕРМИСА ДЛЯ ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Алексей Станиславович МУХИН¹, Евгений Анатольевич ЛЕОНТЬЕВ²

¹ Приволжский исследовательский медицинский университет Минздрава России
603005, г. Нижний Новгород, пл. Минина и Пожарского, 10/1

² Городская клиническая больница № 1 Минздрава Чувашии
428028, г. Чебоксары, просп. Тракторостроителей, 46

Цель исследования – определить оптимальную методику снижения барьерной функции эпидермиса кожи для увеличения глубины проникновения лазерного излучения в ткани. **Материал и методы.** Эксперименты проводили с полнослойными образцами кожи человека, полученными после хирургического вмешательства. Для определения глубины проникновения лазерного излучения в биологические ткани с одной стороны облучаемой ткани размещали источник лазерного излучения, с другой стороны, соосно с ним, вводили стеклянный световод. Приемником излучения был фотоэлектронный умножитель. Вместе с изменением положения световода в массиве тканей изменялась плотность светового потока. После построения кривой интенсивности излучения определяли глубину его проникновения в облучаемый образец. Нативные препараты кожи человека исследовали до и после воздействия физических факторов. Для проведения исследования применяли методы микродермабразии, лазерной абляции поверхностных слоев кожи, ионофореза и ультразвука с целью снижения барьерной функции эпидермиса кожи. После воздействия данных методов была измерена глубина проникновения лазерного излучения в ткани при прохождении излучения лазеров с длинами волн 532 и 1064 нм. **Результаты и их обсуждение.** Установлено, что микродермабразия и лазерная абляция рогового слоя эпидермиса снижают поглощение лазерного излучения на глубине до 2,5 мм, что позволяет значительно уменьшать мощность лазерного излучения.

Ключевые слова: тату, татуировочный пигмент, удаление тату, дермабразия, лазеротерапия.

Проблема удаления татуировок столь же стара, как и само явление художественных рисунков на теле. На сегодняшний день во многих косметических клиниках по-прежнему широко используются деструктивные методы удаления татуировок, такие как снятие верхнего слоя кожи методами дермабразии, аргона или углекислотного лазера [1–3]. Все эти методы потенциально несут высокий риск образования рубцов. Лазерный селективный термолиз намного эффективнее и безопаснее [2, 3, 7], однако значительно сложнее технически. Если для удаления любой татуировки с помощью CO₂-лазера достаточно выполнить одну процедуру с применением одного источника излучения с универсальными характеристиками, то метод лазерного селективного термолиза потребует из-за огромного разнообразия цветов целый ряд источников лазерного излучения с различными длинами волн, которые к тому же будут отличаться мощностью и длительностью импульса, и определенное количество сеансов. Подбор

типа источника лазерного излучения зависит от вида и глубины расположения пигмента [2, 3]. Пигментные частицы нередко обнаруживаются в дермальных фибробластах и тучных клетках, преимущественно в периваскулярном положении [9]. Излучение неодимового лазера проникает глубоко в кожу и сильно поглощается синими, зелеными и черными пигментами татуировки, включенными в состав большинства татуировок [10].

При облучении кожи короткими лазерными импульсами нагрев и термическая деструкция пигментных частиц происходят значительно быстрее, чем нагрев окружающей дермальной ткани [2, 3]. Уничтожение соединительнотканной капсулы вокруг части пигмента и фрагментация самих частиц позволяют лимфатической системе организма удалять частицы пигмента [10]. Сложность заключается в том, что глубина расположения частиц пигмента может намного превышать возможность проникновения лазерного излу-

чения, а также вероятным наличием над ними структур, отражающих лазерное излучение [10]. Кроме того, некоторые многоцветные татуировки содержат пигменты, которые не поглощают или незначительно поглощают лазерное излучение [12]. Потери энергии, вызванные рассеянием света и поглощением тканями, могут быть компенсированы увеличением интенсивности лазерного излучения, но это может привести к повышению температуры в локализованных зонах взаимодействия и повреждению тканей. В последнее время предложены способы для снижения барьерной функции эпидермиса кожи с использованием различных источников энергии и оптики. Применяют различные физические методы, такие как микродермабразия [6], лазерная абляция поверхности кожи [11], ионофорез [5], ультразвук [8]. Поскольку роговой слой эпидермиса не является жизнеспособной тканью, нарушение барьерной функции кожи при его повреждении носит временный характер и приводит к локальному увеличению проникновения лазерного излучения в ткани [4]. В результате в тканях поглощается достаточное количество оптической энергии для разрушения пигментных частиц [4, 13]. Поэтому существует потребность в оценке эффективности методов, обеспечивающих проницаемость барьера для лазерного излучения.

Целью данной работы является исследование снижения барьерной функции эпидермиса кожи под воздействием микродермабразии, лазерной абляции поверхности кожи, ионофореза, ультразвука и фотомеханических волн для увеличения глубины проникновения лазерного излучения в ткани.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Эксперименты проводили с полнослойными образцами кожи человека, полученными после хирургического вмешательства у людей среднего возраста. Пациенты проходили обследование и лечение на базе Городской клинической больницы № 1 г. Чебоксары. От всех получено информированное согласие на участие в исследовании, которое проведено в соответствии со стандартами Хельсинкской декларации Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека» с поправками 2008 г. и «Правилами клинической практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 № 266. Образцы кожи хранили в физиологическом растворе через 20–24 ч после удаления, изучали после удаления жировой ткани. Перед экспериментом толщину образцов

измеряли микрометром с точностью измерений ± 100 мкм, в среднем она составила $2,0 \pm 0,25$ мм. Источником излучения был инфракрасный излучатель с набором светофильтров 532 нм, 1064 нм. Приемником излучения был фотоэлектронный умножитель – электровакуумный прибор, в котором минимальное количество оптического излучения при попадании на фотокатод приводит к потоку электронов, усиливаемому в умножительной системе в результате вторичной электронной эмиссии, при этом ток в коллекторе вторичных электронов превышает первоначальный не менее чем в 100 раз. Препараты кожи исследовали до и после воздействия физических факторов.

Для определения глубины проникновения лазерного излучения в биологические ткани с одной стороны облучаемой ткани размещали источник лазерного излучения, с другой соосно с ним вводили стеклянный световод. Вместе с изменением положения световода в массиве тканей изменялась плотность светового потока. После построения кривой интенсивности излучения определяли глубину его проникновения в облучаемый образец. Для снижения барьерной функции эпидермиса исследуемые образцы предварительно подвергали воздействию аппаратом для алмазной микродермабразии «IONTO-SKIN Abrasion Comfort» (Ionto Comed, ФРГ), который снимает поверхностный слой клеток острыми гранями микрокристаллов оксида алюминия. На данном аппарате также проводилась ультразвуковая терапия. Лазерная абляция поверхности кожи выполнялась CO₂-лазером, ионофорез – аппаратом Элфор-К.

Статистическую обработку результатов исследования проводили, вычисляя среднее арифметическое значение (M), ошибку среднего арифметического значения (m), и представляли в виде $M \pm m$. Различия между группами оценивали с помощью критерия Стьюдента, достоверными считались результаты при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные данные представлены в табл. 1–4, где группа «Контроль» – нативные образцы кожи, группа «Опыт» – образцы, предварительно подвергнутые воздействию физических факторов. Из таблиц видно, что воздействие ультразвуковых волн и ионофореза не оказывает сколько-нибудь значимого воздействия на глубину проникновения лазерного излучения в ткань, в то время как микродермабразия и лазерная абляция значительно увеличивают ее, при этом наиболее существенно – при увеличении частоты излучения.

Таблица 1

Глубина проникновения лазерного излучения в образцы кожи, предварительно обработанные методом ионофореза

Глубина, мм	Интенсивность излучения, усл. ед.			
	$\lambda = 532$ нм		$\lambda = 1064$ нм	
	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
0,1	91 ± 3,2	93 ± 2,2	91 ± 2,9	93 ± 3,0
0,2	41 ± 2,7	40 ± 2,0	57 ± 2,3	58 ± 2,0
0,7	27 ± 2,1	28 ± 2,3	41 ± 3,9	42 ± 2,0
1,0	14 ± 1,7	13 ± 1,1	34 ± 1,2	35 ± 1,1
1,3	5 ± 1,3	5 ± 2,1	22 ± 1,3	23 ± 1,2
1,5	1 ± 0,1	1 ± 1,0	10 ± 1,3	11 ± 2,0
1,7	0	0	3 ± 0,2	3 ± 0,1
2,5	0	0	0	0

Таблица 2

Глубина проникновения лазерного излучения в образцы кожи, предварительно обработанные методом ультразвуковой терапии

Глубина, мм	Интенсивность излучения, усл. ед.			
	$\lambda = 532$ нм		$\lambda = 1064$ нм	
	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
0,1	89 ± 3,1	90 ± 2,9	94 ± 2,7	95 ± 2,9
0,2	39 ± 1,7	42 ± 1,9	58 ± 2,1	59 ± 2,7
0,7	25 ± 2,2	28 ± 1,7	43 ± 2,9	45 ± 3,1
1,0	13 ± 2,3	13 ± 1,5	35 ± 1,3	36 ± 1,5
1,3	4 ± 2,0	4 ± 1,2	23 ± 1,2	24 ± 1,9
1,5	1 ± 0,2	1 ± 0,1	11 ± 1,4	13 ± 1,8
1,7	0	0	3 ± 0,7	3 ± 0,8
2,5	0	0	0	0

Таблица 3

Глубина проникновения лазерного излучения в образцы кожи, предварительно обработанные методом микродермабразии

Глубина, мм	Интенсивность излучения, усл. ед.			
	$\lambda = 532$ нм		$\lambda = 1064$ нм	
	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
0,1	91 ± 2,9	97 ± 3,3*	92 ± 3,0	97 ± 3,0*
0,2	41 ± 2,0	57 ± 3,1*	56 ± 2,0	67 ± 2,0*
0,7	26 ± 2,1	42 ± 2,2*	42 ± 1,7	55 ± 2,0*
1,0	14 ± 1,5	32 ± 2,1*	33 ± 1,7	41 ± 2,1*
1,3	5 ± 1,0	21 ± 1,7*	24 ± 1,1	35 ± 1,2*
1,5	1 ± 0,1	7 ± 1,0*	12 ± 1,2	24 ± 2,0*
1,7	0	3 ± 1,8*	3 ± 0,3	7 ± 0,1*
2,5	0	2,0 ± 0,8*	0	3 ± 0,2*

Примечание. Здесь и в табл. 4 * – отличие от величины соответствующего показателя группы «Контроль» статистически значимо при $p < 0,05$.

Таблица 4

Глубина проникновения лазерного излучения в образцы кожи, предварительно обработанные методом лазерной абляции

Глубина, мм	Интенсивность излучения, усл. ед.			
	$\lambda = 532$ нм		$\lambda = 1064$ нм	
	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
0,1	$87 \pm 3,1$	$98 \pm 3,7^*$	$90 \pm 2,3$	$98 \pm 2,0^*$
0,2	$40 \pm 2,7$	$59 \pm 3,1^*$	$53 \pm 1,9$	$70 \pm 3,0^*$
0,7	$25 \pm 1,9$	$41 \pm 3,2^*$	$43 \pm 2,9$	$57 \pm 2,3^*$
1,0	$13 \pm 2,7$	$35 \pm 1,7^*$	$32 \pm 1,5$	$47 \pm 2,0^*$
1,3	$5 \pm 0,9$	$19 \pm 1,5^*$	$23 \pm 1,3$	$40 \pm 2,7^*$
1,5	$1 \pm 0,1$	$7 \pm 1,1^*$	$11 \pm 1,3$	$27 \pm 2,3^*$
1,7	0	$3 \pm 2,0^*$	$3 \pm 0,2$	$7 \pm 0,3^*$
2,5	0	$2,1 \pm 0,9^*$	0	$3 \pm 0,1^*$

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данной работе приведены результаты исследования возможности снижения барьерной функции эпидермиса кожи для проникновения лазерного излучения с длинами волн 532 и 1064 нм путем применения методов микродермабразии, лазерной абляции поверхностных слоев кожи, ионофореза и ультразвука. Установлено, что микродермабразия и лазерная абляция рогового слоя эпидермиса снижают поглощение лазерного излучения на глубине до 2,5 мм, что позволяет значительно уменьшать его мощность.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Авраменко С.В., Ступин И.В. Устройство коагуляции тканей. Пат. 95104929/14 РФ; Опубл. 27.12.1997.
2. Мухин А.С., Леонтьев Е.А. Деструкция поверхностного слоя эпидермиса увеличивает глубину проникновения лазерного излучения в биологические ткани // Врач-аспирант. 2017. 81. (2). 75–81.
3. Мухин А.С., Леонтьев Е.А. Оптимизация оптико-физических характеристик селективного фототермолиза // Врач-аспирант. 2017. 83. (4). 84–90.
4. Altshuler G., Smirnov M., Yaroslavsky I. Lattice of optical islets: a novel treatment modality in photomedicine // J. Phys. D: Appl. Phys. 2005. 38. 2732–2747.
5. Bodde H.E., Roemele P.E., Star W.M. Quantification of topically delivered 5-aminolevulinic acid by

Iontophoresis across ex vivo human stratum corneum // Photochem. Photobiol. 2002. 75. (4). 418–423.

6. Fang J.Y., Lee W.R., Shen S.C., Fang Y.P., Hu C.H. Enhancement of topical 5-aminolevulinic acid delivery by erbium:YAG laser and microdermabrasion: a comparison with iontophoresis and electroporation // Br. J. Dermatol. 2004. 151. (1). 132–140.

7. Huzaira M., Anderson R.R. Magnetite tattoos // Lasers Surg Med. 2002. 31. (2). 121–128.

8. Larina I.V., Evers B.M., Ashitkov T.V., Bartels C., Larin K.V., Esenaliev R.O. Enhancement of drug delivery in tumors by using interaction of nanoparticles with ultrasound radiation // Technol. Cancer Res. Treat. 2005. 4. (2). 217–226.

9. Mann R., Klingmuller G. Electron-microscopic investigation of tattoos in rabbit skin // Arch. Dermatol. Res. 1981. 271. (4). 367–372.

10. McNichols R.J., Fox M.A., Gowda A., Tuya S., Bell B., Motamedi M. Temporary dermal scatter reduction: quantitative assessment and implications for improved laser tattoo removal // Lasers Surg. Med. 2005. 36. (4). 289–296.

11. Stumpp O.F., Welch A.J., Milner T.E., Neev J. Enhancement of transepidermal skin clearing agent delivery using a 980 nm diode laser // Lasers Surg. Med. 2005. 37. (4). 278–285.

12. Timko A.L., Miller C.H., Johnson F.B., Ross E. In vitro quantitative chemical analysis of tattoo pigments // Arch. Dermatol. 2001. 137. (2). 143–147.

13. Tuchin V.V., Altshuler G.B., Gavrilova A.A., Praydin A.B., Tabatadze D., Childs J., Yaroslavsky I.V. Optical clearing of skin using flash lamp-induced enhancement of epidermal permeability // Lasers Surg. Med. 2006. 38. (9). 824–836.

APPLICATION OF PHYSICAL FACTORS TO REDUCE THE BARRIER FUNCTION OF EPIDERMIS FOR LASER RADIATION

Alexey Stanislavovich MUKHIN¹, Evgeniy Anatolyevich LEONTYEV²

¹ *Privolzhsky Research Medical University of Minzdrav of Russia
603005, Nizhny Novgorod, Minina i Pozharskogo av., 10/1*

² *City Clinical Hospital No. 1 of Minzdrav of Chuvashia
428028, Cheboksary, Traktoroostroitelei av., 46*

The purpose of the study is to determine the optimal technique for reducing the barrier function of skin epidermis to increase the laser radiation penetrating depth into tissues. **Material and methods.** The experiments were carried out with full-layer human skin samples obtained after surgical intervention. The source of laser radiation was placed on one side of the irradiated tissue and glass fiber was introduced coaxially with it on the other side to determine the depth of penetration of laser radiation into biological tissues. The radiation receiver was a photoelectric multiplier. The density of the light flux changed together with the change in the position of the fiber in the array of tissues. The depth of radiation penetration into the irradiated sample was determined after constructing the radiation intensity curve. The study of native preparations of human skin was carried out before and after exposure to physical factors. Methods of microdermabrasion, laser ablation of skin surface layers, ionophoresis and ultrasound were used to conduct the study in order to reduce the barrier function of skin epidermis. After these methods exposure, the depth of penetration of laser radiation into the tissue was measured during laser radiation with wavelengths of 532 and 1064 nm. **Results and discussion.** It has been established that microdermabrasion and laser ablation of epidermis stratum corneum reduced the absorption of laser radiation at the depth of up to 2.5 mm resulting in significant reducing the laser radiation power.

Key words: tattoo, tattoo pigment, tattoo removal, dermabrasion, laser therapy.

Mukhin A.S. – doctor of medical sciences, professor, head of the surgery department

Leontyev E.A. – candidate of medical sciences, e-mail: lea737@yandex.ru

ПЕРВИЧНОЕ ЭНДОПРОТЕЗИРОВАНИЕ ТАЗОБЕДРЕННОГО СУСТАВА У ПАЦИЕНТКИ С ПЕРЕЛОМ ШЕЙКИ ПРАВОГО БЕДРА НА ФОНЕ ХРОНИЧЕСКОГО ПРОГРАММНОГО ГЕМОДИАЛИЗА И МНОГОКРАТНОГО ОПЕРАТИВНОГО ЛЕЧЕНИЯ ПО ПОВОДУ НЕЙРОЭНДОКРИННОГО РАКА

Светлана Ивановна КИРИЛИНА¹, Владислав Васильевич БОРИН¹,
Александр Александрович ЕЛИСТРАТОВ², Вадим Сергеевич СИРОТА¹,
Константин Николаевич ХАРИТОНОВ¹, Виталий Викторович ПАВЛОВ¹,
Валентин Юрьевич ЖИЛЕНКО²

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

² АНО «Клиника НИИТО»
630091, г. Новосибирск, ул. Фрунзе, 19а

Рассмотрен клинический случай достаточно редкого сочетания тяжелой соматической патологии (нейроэндокринный рак, терминальная хроническая болезнь почек, программный гемодиализ и т.д.) и травматолого-ортопедической патологии (ложный сустав шейки правой бедренной кости), требующей хирургического вмешательства, с высокими рисками для жизни пациента. Представлена хронология перенесенных многократных оперативных вмешательств по поводу полинейроэндокринного рака, которым пациентка страдает с 2001 г. Нейроэндокринный рак считается наиболее редко встречающимся онкологическим заболеванием. Этот вид рака очень опасен, так как нейроэндокринные клетки разбросаны по всему организму и может произойти поражение практически любого органа. Прогноз лечения заболевания неизвестен. На современном этапе этот рак плохо исследован, что не позволяет внедрить новые варианты лечения и заняться профилактическими мероприятиями. На фоне коморбидной патологии, возникшей в результате лечения нейроэндокринного рака (индекс коморбидности 12, по ASA IV) у пациентки произошел перелом шейки правого бедра. Оперативное лечение по поводу переломов шейки бедра у пациентов, обремененных коморбидной патологией, является трудной задачей для хирургов, анестезиологов-реаниматологов, терапевтов, нутрициологов и врачей других специальностей. Отказ от оперативного вмешательства ухудшает качество жизни, усугубляет инвалидизацию, приводит к развитию трофических, тромбозомболических и инфекционных осложнений и увеличивает вероятность неблагоприятного исхода. Хирургическое лечение в условиях специализированного стационара является наиболее целесообразным. Поэтому необходим адресный подход к лечению в отношении коморбидности подобных пациентов на всех этапах терапии с четкими алгоритмами действия, логистикой и согласованностью тактики лечебных мероприятий.

Ключевые слова: нейроэндокринный рак, перелом шейки бедра, эндопротезирование тазобедренного сустава, хроническая почечная недостаточность, программный гемодиализ.

Кирилина С.И. – д.м.н., главный научный сотрудник научно-исследовательского отделения анестезиологии и реаниматологии, врач-анестезиолог-реаниматолог, e-mail: ksi-kl@ngs.ru

Борин В.В. – к.м.н., врач-анестезиолог-реаниматолог отделения анестезиологии, e-mail: borinvladislav@yandex.ru

Елистратов А.А. – врач-анестезиолог-реаниматолог отделения анестезиологии и реанимации, e-mail: niito@niito.ru

Сирота В.С. – к.м.н., научный сотрудник отделения анестезиологии и реаниматологии, врач-анестезиолог-реаниматолог, e-mail: VSsirota@gmail.com

Харитонов К.Н. – врач-ортопед-травматолог травматолого-ортопедического отделения № 2, e-mail: niito@niito.ru

Павлов В.В. – д.м.н., врач-травматолог-ортопед, начальник научно-исследовательского отделения эндопротезирования и эндоскопической хирургии, e-mail: pavlovdoc@mail.ru

Жилenko В.Ю. – врач-травматолог-ортопед, заведующий травматологическим отделением, e-mail: niito@niito.ru

Оперативное лечение по поводу переломов шейки бедра у пациентов, обремененных коморбидной патологией, является трудной задачей для хирургов, анестезиологов-реаниматологов, терапевтов, нутрициологов и врачей других специальностей [2, 4]. Перелом шейки бедра у данной категории пациентов – это пусковой механизм развития грозных осложнений со стороны внутренних органов и систем организма [4]. Системный остеопороз затрудняет выполнение остеосинтеза, а течение регенеративных процессов в зоне перелома замедленно. Перспективным лечением в данном случае может быть первичное эндопротезирование тазобедренного сустава, однако при его выполнении у больных с коморбидной патологией имеют место значительные проблемы [1, 3, 5, 6].

Особенностью представленного редкого клинического наблюдения является то, что больная с 2001 г. страдает полинейроэндокринным раком. Нейроэндокринный рак считается наиболее редко встречающимся онкологическим заболеванием. Опасность кроется в скрытом течении заболевания и присоединении системных заболеваний, которые и принимаются медиками как основные. Этот вид рака очень опасен, так как нейроэндокринные клетки разбросаны по всему организму и может произойти поражение практически любого органа. Прогноз лечения заболевания неизвестен. На современном этапе этот рак плохо исследован, что не позволяет внедрить новые варианты лечения и заняться профилактическими мероприятиями [3, 5]. Поэтому особое значение при эндопротезировании тазобедренного сустава имеет предоперационная подготовка, выбор вида протеза, периоперационное ведение, а также четкая организация и взаимодействие всех служб, принимающих участие в лечении пациента [2, 4].

Цель настоящего исследования – демонстрация возможности оперативного лечения пациентов с переломами шейки бедра на фоне тяжелого системного остеопороза смешанного генеза, развившегося в результате хронических заболеваний.

ОПИСАНИЕ СЛУЧАЯ

Больная Н., 57 лет, переведена в клинику Новосибирского НИИ травматологии и ортопедии из многопрофильного стационара для оперативного лечения. Жалобы при поступлении на боли в области правого тазобедренного сустава (по визуально-аналоговой шкале 9–10 баллов), не купирующиеся введением наркотических анальгетиков, невозможность самостоятельного передвижения.

Диагноз. Ложный сустав шейки правой бедренной кости, неопорное правое бедро. Синдром правосторонней коксалгии. Ренопривное состояние. Нephрогенная артериальная гипертензия. Двусторонняя нефрэктомия, хроническая почечная недостаточность 4. Программный гемодиализ. Тяжелый системный остеопороз (Т-критерий 2,7 SD). Дисметаболическая миокардиодистрофия, хроническая сердечная недостаточность 2А. Хронический катаральный бронхит, неполная ремиссия. Дыхательная недостаточность 1-й степени. Хроническая анемия сложного генеза средней степени тяжести. Сахарный диабет 2 типа, панкреатогенный, целевой уровень HbA1 7,5 %. Послеоперационный гипотиреоз средней степени тяжести. Полинейроэндокринный рак с поражением поджелудочной железы, 7-го сегмента печени, щитовидной, околоушных желез, подчелюстных лимфоузлов. Болезнь оперированного желудка, гастрит культи желудка, эритоматозная гастропатия, дуоденогастральный рефлюкс. Состояние после микрохирургического удаления солитарного метастаза в области 4-го желудочка головного мозга. Гемангиомы левой лобной доли, второго ребра слева, тела L1 позвонка.

Имеется следующая хронология перенесенных пациенткой оперативных вмешательств по поводу полинейроэндокринного рака:

15.08.2001 – нефрэктомия слева;

15.05.2004 – ампутация матки и правосторонняя аднексэктомия;

09.07.2009 – резекция 7-го сегмента печени, резекция-энуклеация опухоли единственной правой почки, гастропанкреатодуоденальная резекция, холецистэктомия, овариоцистэктомия слева;

18.11.2009 – тиреоидэктомия, биопсия подчелюстного лимфоузла слева;

14.04.2010 – иссечение правой подчелюстной слюнной железы;

04.05.2010 – удаление метастазов в подчелюстные лимфоузлы и подчелюстную слюнную железу, верхнешейное фасциофулярное иссечение клетчатки шеи;

02.10.2010 – экстирпация культи поджелудочной железы со спленэктомией, резекция двух петель тонкой кишки по 20 см, паротидэктомия справа;

02.10.2011 – микрохирургическое удаление солитарного метастаза в области 4-го желудочка головного мозга;

01.01.2014 – удаление метастаза из 9-го сегмента левого легкого;

25.03.2014 – радиочастотная термоабляция опухоли единственной правой почки;

12.11.2014 – повторная перкутанная радиочастотная термоабляция опухоли единственной правой почки;

07.10.2015 – иссечение позадицелюстного лимфоузла справа;

11.02.2016 – энуклеация множественных (5) опухолей единственной правой почки;

17.10.2016 – энуклеация множественных (5) опухолей единственной правой почки и радиочастотная термоабляция интрапаренхиматозной опухоли диаметром 2 см;

19.10.2016 – дренирование правой плевральной полости по поводу гидроторакса;

12.04.2017 – имплантация временного венозного катетера для гемодиализа;

13.04.2017 – нефрэктомия справа;

24.04.2017 – ревизия сосудов нижней трети левого предплечья, формирование артериовенозной фистулы левого предплечья;

16.05.2017 – имплантация перманентного манжеточного венозного катетера для гемодиализа.

Предоперационное планирование. С учетом характера травмы (субкапитальный перелом шейки правой бедренной кости, который был зарегистрирован 10.01.2018 г.), выраженного болевого синдрома, сопутствующей соматической патологии, отсутствия признаков консолидации через месяц после травмы на фоне проводимого консервативного лечения выставлен ортопедический диагноз «ложный сустав шейки правой бедренной кости» и рекомендовано проведение эндопротезирования тазобедренного сустава.

Для оценки толерантности к планируемому оперативному лечению, решения вопросов о сроках и характере транспортировки между стационарами, проведения дополнительных инструментальных и лабораторных методов диагностики пациентка неоднократно консультирована оперирующим хирургом и анестезиологом-реаниматологом. В ходе проводимого предоперационного планирования определен цементный тип эндопротеза. Выбор данной технологии обусловлен системным остеопорозом тяжелой степени, развившимся на фоне проводимого программного гемодиализа (с апреля 2017 г.). Во время врачебных консилиумов было четко обозначено время проведения гемодиализа в до- и послеоперационном периодах, уточнено время начала операции. В результате спланированной и достигнутой договоренности между заинтересованными лечебными учреждениями в день проведения очередного сеанса гемодиализа через 120 минут пациентка была доставлена реанимационной бригадой санитарной авиации в Новосибирский НИИ травматологии и ортопедии.

Показатели лабораторных анализов пациентки при поступлении в клинику были следующими. Общий анализ крови: содержание лейкоци-

тов – $15,34 \times 10^9/\text{л}$, эритроцитов – $3,36 \times 10^{12}/\text{л}$, гемоглобина – 106 г/л, тромбоцитов – $468 \times 10^9/\text{л}$, СОЭ – 25 мм/ч. Биохимический анализ крови: содержание глюкозы – 6,92 ммоль/л, С-реактивного белка – 6,8 мг/л, общего белка – 71 г/л, альбумина – 34 г/л, мочевины – 19,4 ммоль/л, креатинина – 172 мкмоль/л, калия – 3,65 ммоль/л, натрия – 129 ммоль/л, активность АлАТ – 9,6 ед/л, АсАТ – 18 ед/л. Система гемостаза: протромбиновое время – 12,70 с, международное нормализованное отношение – 1,04, активированное парциальное тромбопластиновое время – 31,8 с, содержание фибриногена – 5,8 г/л. По данным кислотно-щелочного состояния: индекс оксигенации – 400, данные о метаболических и респираторных нарушениях нет. По результатам УЗИ вен нижних конечностей: глубокие и поверхностные вены верхних и нижних конечностей проходимы, тромботических изменений не выявлено. Артериовенозная фистула в левом предплечье функционирует.

После осмотра терапевта и врача-анестезиолога-реаниматолога больная направлена в предоперационную палату для подготовки к плановой операции. Состояние физического здоровья пациентки по ASA – IV. Требования к анестезии заключались в низкой токсичности применяемых препаратов, минимальном угнетающем их влиянии на компрометированные органы и системы. Ввиду выраженных дегенеративно-дистрофических изменений в поясничном отделе позвоночника, наличия выраженного болевого синдрома от регионарных методов анестезии решено было отказаться. Анестезия должна была быть абсолютно управляемой, быстро обратимой. Предпочтение отдано общей анестезии на основе севофлюрана и болюсного введения фентанила. Выбор оптимального миорелаксанта был ориентирован на клиническую ситуацию, т.е. особенности пациента, вид планируемого вмешательства, продолжительность операции, а также максимальное управление нейромышечным блоком (обязательное наличие антидота). Препаратом выбора в данном случае являлся рокурония бромид.

Большое внимание было уделено тактике проведения инфузионной терапии. Предпочтение отдано 0,9%-му раствору натрия хлорида (физиологическому раствору) ввиду отсутствия в нем ионов калия. Объем инфузионной терапии, с учетом высокого риска развития в первую очередь респираторных осложнений в интра- и ближайшем послеоперационном периодах, было решено минимизировать. В предоперационной пациентке был установлен периферический венозный катетер в правое предплечье, подключен мониторинг – неинвазивное измерение артериального

давления (130/85 мм рт. ст.), частоты сердечных сокращений (78 ударов в мин), содержания оксигемоглобина (98 %), ЭКГ-синусовый ритм, метаболические изменения миокарда электролитного генеза, мониторинг глубины анестезии (BIS).

Индукция анестезии проведена пропофолом в дозе 120 мг в сочетании с фентанилом в дозе 100 мкг. Через 50 с после введения 50 мг рокурония бромида осуществлена интубация трахеи с первой попытки, без технических трудностей, термопластичной трубкой № 6,5 с манжетой низкого давления большого объема типа Мерфи. Раздувание манжеты эндотрахеальной трубки до 20 мм рт. ст. под контролем манометра для измерения внутриманжеточного давления (Portex, Германия). Положение пациентки на операционном столе на левом боку. Поддержание анестезии проводили севофлюраном (1,4–1,6 об. %, «Varog», Drager, Германия) на низком потоке (воздух : кислород – 0,5 л : 0,5 л), болюсными введениями фентанила по 100 мкг каждые 20–30 мин. Искусственную вентиляцию легких осуществляли вентиляцией по объему наркозно-дыхательным аппаратом «Fabius» (Drager, Германия) с EtCO₂ 34–38 мм рт. ст.

Интраоперационно нарушений гемодинамики и газообмена не отмечалось. По окончании операции внутривенно введен селективный антитет рокурония бромида сугаммадекс 100 мг (Брайдан, Шеринг-Плау, США). Экстубация через 4 минуты. Эндопротезирование правого тазобедренного сустава проведено без особенностей и технических трудностей. Длительность операции составила 80 мин, кровопотеря – 200 мл. Инфузионная терапия в объеме 400 мл физиологического раствора. Контрольная рентгенография таза в прямой проекции выполнена на операционном столе (рисунок).

Пациентка переведена в отделение реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) для динамического наблюдения, где проводилась оксигенотерапия увлажненным кислородом через лицевую маску 4 л/мин, обезболивание наркотическими анальгетиками (промедол 2 % 1,0 мл в/в), инфузионная терапия в объеме 200 мл 0,9%-го раствора натрия хлорида, мониторинг витальных функций, параклинических данных. Проводили контроль уровня боли по визуально-рейтинговой шкале с использованием шкалы численного рейтинга от 0 до 10 (при этом за 0 принимали отсутствие боли, 10 обозначало худшую возможную боль). Время отсчета было начато с момента окончания операции, использовались наркотические анальгетики. Оценка боли регистрировалась через каждый час после времени отсчета, вне зависимости от введения обезболивающих препаратов, а также

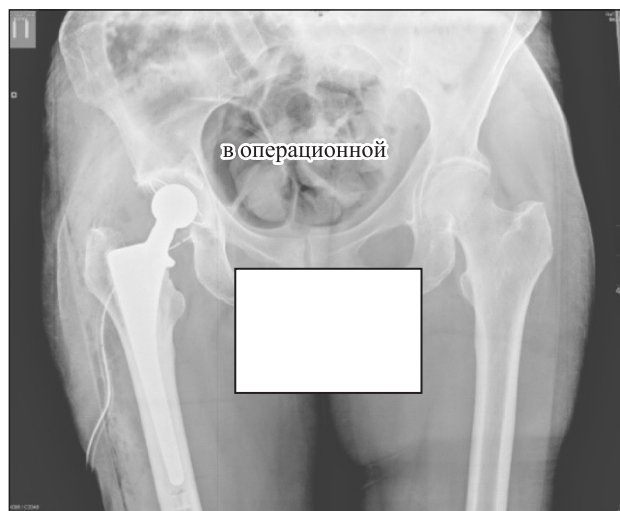


Рис. Контрольная рентгенограмма после операции

к моменту перевода из ОРИТ в отделение гемодиализа.

Спустя 5 ч с момента окончания хирургического вмешательства, после контроля показателей общего анализа крови, уровня гликемии, оценки темпов дренажных потерь, пациентка была транспортирована реанимационной бригадой санитарной авиации из ОРИТ в многопрофильный стационар для дальнейшего наблюдения, лечения и продолжения программного гемодиализа.

Показатели лабораторных исследований пациентки после операции эндопротезирования тазобедренного сустава были следующими: содержание лейкоцитов – $32,5 \times 10^9/\text{л}$, эритроцитов – $3,25 \times 10^{12}/\text{л}$, гемоглобина – 101 г/л, тромбоцитов – $476 \times 10^9/\text{л}$, СОЭ – 26 мм/ч, содержание глюкозы – 15,92 ммоль/л, С-реактивного белка – 6,8 мкмоль/л, общего белка – 68 г/л, альбумина – 31 г/л, мочевины – 19,4 ммоль/л, креатинина – 272 мкмоль/л, калия – 7,05 ммоль/л, натрия – 129 ммоль/л, активность АлАТ – 14,6 ед/л, АсАТ – 20 ед/л; показатели гемостаза: протромбиновое время – 12,70 с, международное нормализованное отношение – 1,04, активированное парциальное тромбопластиновое время – 31,8 с, содержание фибриногена – 5,92 г/л.

В послеоперационном периоде у больной изменилось качество жизни: полностью купированы боли в области правого тазобедренного сустава. Вертикализирована на третьи сутки. В течение последующих 45 дней ходила при помощи костылей с незначительной опорой на оперированную ногу, затем с помощью трости. Пациентка активно обслуживает себя без посторонней помощи. Амбулаторно продолжены сеансы программного гемодиализа.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Описанный клинический случай является достаточно редким сочетанием тяжелой соматической патологии (нейроэндокринный рак, терминальная хроническая болезнь почек, программный гемодиализ и т.д.) и травматолого-ортопедической патологии (ложный сустав шейки правой бедренной кости), требующей хирургического вмешательства, с высокими рисками для жизни пациента. Отказ от оперативного вмешательства на раннем этапе значительно ухудшает качество жизни человека в последующем с точки зрения мобильности, социальной адаптации, усугубляет инвалидизацию. Снижение мобильности пациента с высокой степенью вероятности приводит к развитию трофических, тромбоэмболических и инфекционных осложнений и увеличивает вероятность неблагоприятного исхода. Возрастают экономические затраты на лечение. С другой стороны, проведение эндопротезирования тазобедренного сустава у пациентки с таким анамнезом представляет большой риск для здоровья и жизни как интраоперационно, так и в послеоперационном периоде. По нашему мнению, проведение данного хирургического вмешательства и анестезиологической защиты в условиях специализированного стационара является наиболее целесообразным, так как позволяет максимально оптимизировать периоперационный период. Однако стоит отметить необходимость четкой логистики, слаженной и согласованной на всех уровнях работы специалистов нескольких клиник, а также адресного подхода к лечению в отношении коморбидности подобных пациентов на всех этапах лечения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бикбов Б.Т., Томилина Н.А. Заместительная терапия больных с хронической почечной недостаточностью в Российской Федерации в 1998–2011 гг. (Отчет по данным Российского регистра заместительной почечной терапии. Часть первая) // Нефрология и диализ. 2014. 16. (1). 11–127.
2. Карякин Н.Н., Донченко Е.В., Мухин П.В. Количественная оценка зависимости некоторых показателей смертности и заболеваемости от ресурсов здравоохранения // Мед. альманах. 2014. 3. (33). 16–20.
3. Помазков А.А., Черкасов М.Ф., Хиндикайнен А.Ю., Кушнарева О.Э., Федорова К.Ю. Ретроспективный анализ частоты встречаемости опухолей желудочно-кишечного тракта с нейроэндокринным компонентом за 10 лет в городе Ростове-на-Дону // Современные проблемы науки и образования. 2016. (6). URL: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=25490> (дата обращения: 18.05.2018).
4. Руководство по хирургии тазобедренного сустава / ред. Р.М. Тихилов, И.И. Шубняков. СПб.: РНИИТО им. Р.Р. Вредена, 2014. 1. 368 с.
5. Симоненко В.Б., Дулин П.А., Мананин М.А. Руководство: Нейроэндокринные опухоли. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. 240 с.
6. McCullough P.A., Kellum J.A., Haase M., Muller C., Damman K., Murray P.T., Cruz D., House A.A., Schmidt-Ott K.M., Vescovo G., Bagshaw S.M., Hoste E.A., Briguori C., Braam B., Chawla L.S., Costanzo M.R., Tumlin J.A., Herzog C.A., Mehta R.L., Rabb H., Shaw A.D., Singbartl K., Ronco C. Pathophysiology of the cardiorenal syndromes: executive summary from the eleventh consensus conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) // Contrib. Nephrol. 2013. 182. 82–98.

PRIMARY HIP REPLACEMENT FOR THE RIGHT FEMORAL NECK FRACTURE IN A PATIENT ON CHRONIC HEMODIALYSIS PROGRAM AND REPEATED SURGICAL TREATMENT FOR NEUROENDOCRINE TUMOR

Svetlana Ivanovna KIRILINA¹, Vladislav Vasilyevich BORIN¹,
Aleksandr Aleksandrovich ELISTRATOV², Vadim Sergeevich SIROTA¹,
Konstantin Nikolaevich KHARITONOV¹, Vitaliy Viktorovich PAVLOV¹,
Valentin Yuryevich ZHILENKO²

¹ Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopaedics n.a. Ya.L. Tsivyan
of Minzdrav of Russia
630091, Novosibirsk, Frunze str., 17

² Autonomous non-profit organization «Clinic of Traumatology,
Orthopedics and Neurosurgery of NRITO» (ANO «Clinic NRITO»)
630091, Novosibirsk, Frunze str., 19a

The clinical case is fairly rare combination of severe somatic pathology (neuroendocrine cancer, terminal chronic kidney disease, program hemodialysis, etc.) and orthopedic and traumatologic pathology (right femoral neck pseudarthrosis) requiring surgical intervention with high risks for patient's life. The patient has been suffering from polyneuroendocrine cancer since 2001. The history of multiple surgical interventions for polyneuroendocrine cancer is presented. Neuroendocrine cancer is considered as the least often oncologic disease. It is very dangerous, because neuroendocrine cells are spread throughout the body and can affect almost any organ. The treatment prognosis is unknown. At present, this type of cancer is poorly researched, which precludes the introduction of new treatment options and preventive activities. In the setting of comorbid pathology that arose from neuroendocrine cancer treatment (comorbidity index 12, according to ASA IV), the patient received the right femoral neck fracture. Surgical treatment for femoral neck fracture in patients burdened with comorbid pathology is a challenge for surgeons, anesthesiologists-resuscitators, therapists, nutritiologists, and doctors of other specialties. An abandonment of surgical intervention worsens the quality of life, aggravates disability, leads to the development of trophic, thrombo-embolic and infectious complications, and increases the likelihood of adverse outcome. Surgical treatment in the setting of specialized hospital is the most expedient. Therefore, due to comorbidity of such patients, a niche-targeted approach to treatment by specialists is needed at all stages of treatment with a seamless transfer of care and consistency of treatment activities.

Key words: neuroendocrine tumor, femoral neck fracture, hip replacement, chronic kidney disease, program hemodialysis.

Kirilina S.I. – doctor of medical sciences, chief researcher, anesthesiologist-resuscitator, e-mail: ksi-klm@ngs.ru
Borin V.V. – candidate of medical sciences, anesthesiologist-resuscitator, e-mail: borinvladislav@yandex.ru
Elistratov A.A. – anesthesiologist-resuscitator, e-mail: niito@niito.ru
Sirota V.S. – candidate of medical sciences, researcher, anesthesiologist-resuscitator, e-mail: VSsirota@gmail.com
Kharitonov K.N. – trauma orthopedist, e-mail: niito@niito.ru
Pavlov V.V. – doctor of medical sciences, chief researcher, trauma orthopedist, e-mail: pavlovdoc@mail.ru
Zhilenko V.Yu. – trauma orthopedist, e-mail: niito@niito.ru

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ ИММУНОГЛОБУЛИНА ЧЕЛОВЕКА НОРМАЛЬНОГО (ПРИВИДЖЕН, CSL BEHRING) У БОЛЬНЫХ С СИНДРОМОМ ГИЙЕНА – БАРРЕ В УСЛОВИЯХ НЕСПЕЦИАЛИЗИРОВАННОГО НЕВРОЛОГИЧЕСКОГО ОТДЕЛЕНИЯ

Любовь Порфирьевна СМЕРТИНА^{1,2}, Вели Зеллабдун-оглы МОВСУМОВ^{1,2}

¹ Сургутская окружная клиническая больница
628400, г. Сургут, ул. Энергетиков, 20, корп. 2

² Сургутский государственный университет
628400, г. Сургут, ул. Энергетиков, 22

Цель – оценка собственного опыта применения внутривенного иммуноглобулина человека нормального (привиджен, CSL Behring AG, Швейцария) у пациентов с синдромом Гийена – Барре. **Материал и методы.** Описаны клинические случаи пациентов с тяжелыми формами синдрома Гийена – Барре, пролеченных иммуноглобулином человека нормального (привидженом) за период с 2016 по 2017 г. Диагноз «синдром Гийена – Барре» у данных пациентов соответствовал как клиническим, так и диагностическим критериям данной патологии. Оценка эффективности препарата проводилась по степени восстановления активности пациента в двигательной сфере и в некоторых случаях по степени восстановления функций тазовых органов. Кроме этого оценивались наличие или отсутствие побочных явлений и переносимость препарата. **Результаты.** Всего лечение получили три пациента. У двоих достигнуто улучшение разной степени, которое проявилось снижением степени двигательных нарушений и значительным улучшением процесса мочеиспускания; один случай летального исхода от сердечно-легочной недостаточности, развившейся на фоне пневмонии. В одном случае отмечен несущественный предположенный побочный эффект, который проявился в виде назофарингита, быстро купированного в течение нескольких дней. **Заключение.** Результаты применения внутривенного иммуноглобулина человека нормального (привиджен, CSL Behring AG, Швейцария) были неоднозначными.

Ключевые слова: синдром Гийена – Барре, привиджен, внутривенные иммуноглобулины.

Известно, что синдром Гийена – Барре является самой частой причиной острых вялых параличей. Заболевание известно с XVIII столетия, когда появились первые описания его симптомов, но только в середине XX в. стала складываться аутоиммунная теория патогенеза этого заболевания. В настоящее время гуморальные механизмы иммунитета считаются ведущими в патогенезе синдрома Гийена – Барре. Доказательством его аутоиммунной природы является, наравне с ультраструктурными исследованиями, высокая эффективность плазмафереза и иммунотерапии [1–4]. Первое контролируемое мультицентровое исследование по применению препаратов иммуноглобулина класса G при синдроме Гийена – Барре, показавшее, что данный вид терапии так же эффективен, как курс операций плазмафереза, было завершено в 1992 г. [3]. С этого времени и плазмаферез, и иммуноглобулины класса G успешно применяются в лечении заболевания. Однако не все внутривенные иммуноглобулины

в перечне показаний к применению содержат аутоиммунные заболевания центральной нервной системы (ЦНС).

В России зарегистрированы и используются в лечении синдрома Гийена – Барре несколько препаратов иммуноглобулина G [4]. В 2014 г. в России зарегистрирован препарат привиджен – иммуноглобулин человека нормального в виде готового 10%-го раствора для внутривенного введения. Производится на заводе в Берне (Швейцария) из плазмы, которая поставляется собственными центрами забора и переработки, расположенными в Германии и США. Действующим веществом препарата являются белки плазмы человека, из которых иммуноглобулин G составляет не менее 98 %. Максимальное содержание иммуноглобулина G свидетельствует о высокой степени очистки, что обеспечивает минимальный риск возникновения побочных эффектов (развития явлений непереносимости) на другие компоненты препарата. Содержание иммуноглобулина A

Смертина Л.П. – к.м.н., доцент кафедры кардиологии, e-mail: Smertina@yandex.ru

Мовсумов В.З.-о. – ординатор 1 года направления «Неврология», e-mail: Veli.mov94@gmail.com

минимальное среди всех остальных препаратов внутривенных иммуноглобулинов – не более 0,025 мг/мл, что снижает до минимума риск возможного развития аллергических реакций на IgA. Иммуноглобулин G в растворе стабилизирован максимально физиологическим способом: аминокислотой L-пролином в сочетании с умеренно низким pH (4,8), не содержит добавленных консервантов, например, сахаров (сахарозы, глюкозы и мальтозы) – основной причины развития почечной недостаточности и ложнопозитивных реакций повышения концентрации глюкозы в крови при использовании иммуноглобулинов, в которые добавлены сахара [10]. Низкое содержание солей натрия исключает дополнительную нагрузку на почки. Сравнительно невысокая (физиологическая) осмолярность раствора позволяет вводить привиджен в больших дозировках и в течение короткого промежутка времени. Препарат производится с применением инновационной 4-ступенчатой системы очистки плазмы от патогенов, и за все время его использования (с 1997 г.) не зафиксировано ни одного случая трансмиссивного переноса инфекции. С 2014 г. в производство внедрена технология IsoLo: выявление и отбраковывание плазмы от доноров с высокими титрами изогемагглютининов, вследствие чего на фоне лечения препаратом существует лишь минимальный риск развития гемолитических осложнений даже при быстром введении [8, 9]. Привиджен имеет максимальное число официальных показаний, он разрешен к использованию как для заместительной терапии при иммунодефицитных состояниях, так и в качестве иммуномодулятора при синдроме Гийена – Барре, Кавасаки, идиопатической тромбоцитопенической пурпуре и хронической воспалительной демиелинизирующей полинейропатии. Эффективность и безопасность привиджена изучались в ходе многочисленных клинических исследований по всему миру с участием большого контингента пациентов с различной патологией.

Цель исследования – оценка собственного опыта применения привиджена у пациентов с синдромом Гийена – Барре в условиях реанимационного и неврологического отделений Сургутской окружной клинической больницы.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Всего за 2016 и 2017 гг. привидженом пролечено три пациента с синдромом Гийена – Барре – один мужчина и две женщины в возрасте от 45 до 86 лет. У больных были все признаки, необходимые для постановки диагноза, выставленного на основании диагностических критериев син-

дрома Гийена – Барре [7]. Все пациенты страдали тяжелой формой синдрома Гийена – Барре с невозможностью самостоятельного передвижения и ограничением самообслуживания в пределах постели. По Североамериканской шкале тяжести двигательного дефицита двое больных соответствовали 4-й стадии и одна пациентка – 5-й стадии [2].

Эффект применения привиджена оценивался по восстановлению двигательных функций клиническими методами исследования, также оценивалось наличие (отсутствие) побочных явлений. Особенностью лечения было применение препарата в трех случаях в условиях неврологического отделения с инфузией в кубитальную вену, без использования инфузомата, но с соблюдением рекомендованной скорости введения лекарства согласно руководству применения препарата.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Клинический пример 1: больная С., 54 лет, инженер. Поступила в неврологическое отделение Сургутской окружной клинической больницы (СОКБ) экстренно 27.02.2017 переводом из районного медицинского учреждения, где был заподозрен синдром Гийена – Барре. При поступлении предъявляла жалобы на слабость в руках – в кистях, предплечьях и плечах, в ногах – бедрах и стопах, при этом отмечала слабость больше в левых конечностях, чем в правых, а также ощущала онемение всего тела, кроме лица. Из-за слабости в руках не могла удерживать предметы, из-за слабости в ногах не могла ходить. Расстройств жизненно важных функций у пациентки не было.

Анамнез. Начало заболевания пациентка ни с чем не связывает, острой респираторной вирусной инфекции и диареи до развития симптомов заболевания не отмечала. Дней за 10 до поступления в СОКБ перенесла стрессовую ситуацию на работе. Заболела остро – сначала отметила онемение кистей, затем оно стало распространяться на проксимальные отделы рук, быстро появилось онемение ног, также быстро присоединилась мышечная слабость. Была госпитализирована в терапевтический стационар районного медицинского учреждения, заподозрен синдром Гийена – Барре, переведена в СОКБ. Давность дебюта заболевания на день перевода в СОКБ – около 10 дней. Стабилизация симптомов отсутствовала.

Результаты обследования. При поступлении состояние расценивалось как удовлетворительное. Кожные покровы физиологической окраски, без цианоза. В легких дыхание везикулярное, хрипов нет. Частота дыхательных движений 18 в минуту. Тоны сердца ясные, ритм сердечной

деятельности правильный. По ЭКГ ритм синусовый, частота сердечных сокращений 56 в минуту, положение электрической оси сердца горизонтальное. Живот мягкий, пальпаторно безболезненный. Стул ежедневный, оформленный, мочеиспускание свободное, безболезненное. Общий анализ крови, мочи, результаты биохимического исследования крови (активность АлАТ, АсАТ, щелочной фосфатазы, содержание мочевины, креатинина, калия, натрия, хлоридов, прямого и общего билирубина, холестерина, общего белка, альбумина, кальция) в пределах нормы. Результаты исследования на ВИЧ, вирусный гепатит В, вирусный гепатит С, микрореакция (ИФА) – отрицательные.

Неврологический статус. Сознание ясное. Менингеальных и общемозговых симптомов нет. Зрачки равные. Фотореакция прямая, содружественная – живая. Движения глазных яблок в полном объеме. Нистагма нет. Лицо симметричное в покое и при мимике. Глотание, фонация, артикуляция не нарушена. Глоточный рефлекс живой. Язык по центру. Сила в конечностях снижена (по 5-балльной шкале MRC), в кистях – справа 4 балла, слева 3 балла, в проксимальных отделах – в сгибателях плеча – справа 3 балла, слева 2 балла. В ногах – в стопах сила слева 2 балла, справа 3 балла, проксимально в сгибателях бедра справа 3 балла, слева 2 балла [3]. В пробе Барре не может удерживать правые конечности, левые конечности в пробу Барре не поднимаются. Мышечный тонус снижен. Сухожильные рефлексы с рук не вызываются, с ног коленные существенно снижены, ахилловы не вызываются. Тазовых нарушений нет. Патологических рефлексов нет. Гипестезия болевой чувствительности в правых конечностях и левой руке, гиперестезия болевой чувствительности на всей правой ноге, с усилением в дистальных отделах – с нижней трети голени. Чувство вибрации утрачено в верхних и нижних конечностях. Мышечно-суставное чувство не страдает. Симптом Ласега слабopоложительный слева. Пациентка ограниченно активна в пределах кровати.

Лечение. С учетом острого развития заболевания, наличия прогрессирующей мышечной слабости в руках и ногах, снижения сухожильных рефлексов с конечностей, симметричности поражения (хотя не абсолютной), наличия чувствительных нарушений, отсутствия лихорадки в начале заболевания пациентке выставлен диагноз «Синдром Гийена – Барре». На время постановки диагноза пациентка воздержалась от проведения люмбальной пункции, так что изменений цереброспинальной жидкости, поддерживающих диагноз, не было.

Назначены стационарный режим, стол 15, препараты для улучшения микроциркуляции, обезболивающие препараты, препараты для профилактики тромбоза вен и тромбоэмболических осложнений, ингибиторы протонной помпы, лечебная физкультура. Начата терапия внутривенным человеческим иммуноглобулином привиджен 0,4 г на 1 кг массы тела в сутки ежедневно на протяжении 5 дней; масса тела пациентки 70 кг; суточная доза назначена 30 г. Инфузия проводилась в кубитальную вену, скорость введения была соблюдена соответственно инструкции. Терапия начата 28.02.2017, но 01.03.17 пациентка субъективно отметила ухудшение состояния – усиление слабости в левой руке, появление боли в поясничной области и подвздошной области слева. В неврологическом статусе объективно подтверждено ухудшение – мышечная сила в проксимальных отделах левой руки уменьшилась с 3 до 2 баллов. После пятой инфузии раствором привиджена больная отметила, и также объективно было зафиксировано, нарастание мышечной силы в левых конечностях, в проксимальных отделах сила увеличилась до 3 баллов, слабость в левой стопе сохранялась по-прежнему. В дальнейшем отмечена быстрая положительная динамика двигательных расстройств – 06.03.17 мышечная сила в правых конечностях в проксимальных и дистальных отделах составила 4 балла, в левых конечностях – до 3 баллов.

Подключена индивидуальная лечебная физкультура продолжительностью сеанса до 30 минут: общеразвивающие упражнения для всех мышечных групп с применением техник дыхательной гимнастики, специальные упражнения для конечностей мелкой моторики, на равновесие, координацию – темп средний, движения активные и пассивные, количество процедур 15, время процедур 25 мин, ежедневно. У пациентки 16.03.17 отмечено, что парез в правых конечностях полностью регрессировал – мышечная сила равномерная, 5 баллов, в левых конечностях мышечная сила в ноге 5 баллов, в руке равномерное легкое снижение мышечной силы до 4 баллов. Субъективно чувство онемения сохраняется в области передней брюшной стенки, на спине и в ногах. Нарушение поверхностной чувствительности остается прежним, равно как и отсутствие вибрационной чувствительности.

Следует отметить, что 03.03.17 пациентка стала предъявлять жалобы на заложенность носа и сухой кашель, осмотрена инфекционистом, уточнено, что симптомы пациентка ощутила три дня назад, 01.03.17, на фоне лечения привидженом. При осмотре ЛОР-органов гиперемии, налетов в зева нет. Инъекции сосудов склер нет. Темпе-

ратура тела 36,8 °С. Учитывая данные анамнеза, эпидемиологического анамнеза, объективного осмотра данных на наличие острой респираторной вирусной инфекции и гриппа нет. Выставлен диагноз «назофарингит». Рекомендованы ультразвуковые ингаляции с 0,9%-м раствором натрия хлорида 3 мл 3 раза в день 3 дня. В дальнейшем симптомы назофарингита были купированы. Назофарингит является одним из возможных предусмотренных инструкцией по применению препарата побочным эффектом привиджена со стороны ЛОР-органов. Его преодоление не представило какой-либо сложности и не повлияло на использование препарата.

03.03.17 проведена стимуляционная электромиография (ЭНМГ) моторных и сенсорных волокон срединного, локтевого, малоберцового, большеберцового и икроножного нерва, выявившая признаки карпального туннельного синдрома срединного нерва справа II степени, признаки проксимальной сегментарной демиелинизации двигательных порций всех исследованных нервных стволов нижних конечностей и локтевого нерва слева. Подтверждение демиелинизирующей формы синдрома Гийена – Барре.

Больная выписана на 18 день из стационара, двигательная активность восстановлена, сохраняется легкий парез в левой руке, рекомендовано амбулаторно продолжить ЛФК и получать массаж. Временно нетрудоспособна.

Таким образом, у пациентки с выраженным двигательным дефицитом назначенная не ранее чем на 10–11 день заболевания терапия привидженом позволила предотвратить дальнейшее прогрессирование болезни и способствовала восстановлению мышечной силы и способности к полноценному передвижению за достаточно короткий срок. Побочный эффект в виде назофарингита отмечался непродолжительное время и не имел последствий.

Клинический пример 2: больная Г., 86 лет, пенсионер. Поступила в приемное отделение СОКБ экстренно 21.09.16 с жалобами на остро развившуюся накануне в вечернее время слабость в правых конечностях; при осмотре обнаружен легкий гемипарез справа. Из сопутствующих заболеваний у пациентки имела место гипертоническая болезнь, женщина регулярно принимала антигипертензивные препараты. Была госпитализирована в отделение для лечения больных с острыми нарушениями мозгового кровообращения с диагнозом «ишемический инсульт в бассейне средней мозговой артерии» от 20.09.16, начата терапия. На фоне лечения отмечено усугубление симптоматики, 25.09.2016 появились вялый тетрапарез, бульбарные нарушения, дыхательная

недостаточность. Больная была переведена в реанимационное отделение, начата искусственная вентиляция легких. Состояние пациентки было тяжелым. Кожные покровы физиологической окраски, температура тела 36,4 °С. Ритм сердечной деятельности правильный, тоны приглушены, частота сердечных сокращений 104 в минуту. Артериальное давление 145/68 мм рт. ст. По ЭКГ монитору ритм синусовый.

Неврологический статус. Уровень сознания – сопор. Менингеальных и общемозговых симптомов нет. Зрачки равные. Фотореакция прямая, содружественная – живая. Косоглазия нет. Нистагма не отмечено. Лицо симметричное. Глоточный рефлекс не вызывается. Язык по центру. Вялая тетраплегия. Сухожильные рефлексы с рук, ног не вызываются. Патологических рефлексов нет. Мочеиспускание не страдает.

Результаты обследования. Проводился дифференциальный диагноз со стволовым инсультом, нарушением спинального кровообращения: выполнены магнитно-резонансная томография (МРТ) головного мозга (поражения ствола мозга не выявлено), МРТ шейного отдела спинного мозга (спинной мозг гомогенной структуры, обычной формы), дуплексное сканирование брахиоцефальных сосудов с цветным дуплексным картированием. Исследование ликвора методом ПЦР для исключения острой нейроинфекции не обнаружило антигены вирусных возбудителей энцефалитов. В спинно-мозговой жидкости (исследование выполнено на 5-й день заболевания) содержание белка и цитоз в норме. Тем не менее по признакам – прогрессирующая мышечная слабость в руках и ногах, отсутствие сухожильных рефлексов в первые дни заболевания – выставлен диагноз «синдром Гийена – Барре».

Лечение. Начата терапия привидженом 35 мг в сутки (из расчета 0,4 г на 1 кг массы тела) ежедневно в течение пяти дней, также проводилась неспецифическая терапия, направленная на профилактику венозных тромбозов и тромбэмболий, зондовое кормление, профилактика гипостатической пневмонии и пролежней, лечение присоединившейся инфекции мочевыводящих путей и гнойного эндобронхита. При проведении ЭНМГ 23.09.16 исследованы нервы верхних и нижних конечностей, двигательные и чувствительные порции срединных, локтевых, большеберцовых и малоберцовых нервов, а также икроножные нервы. Обнаружены признаки выраженной моторной, преимущественно аксональной, полинейропатии с аксональной дегенерацией всех исследованных нервных стволов верхних конечностей и малоберцового нерва слева до субтотальных блоков проведения; блока прове-

дения по малоберцовому нерву справа II степени (до 60 %) при относительной сохранности сенсорных порций.

На фоне терапии отмечена положительная динамика – больная находилась в ясном сознании, была доступна контакту посредством живой мимики и беззвучной артикуляции (за счет наложенной трахеостомы). Восстановилась функция глотания. Однако двигательные расстройства сохранялись прежние, за исключением появления минимальных движений в пальцах стоп. При восстановлении контакта с пациенткой уточнено отсутствие расстройств поверхностной чувствительности и мышечно-суставного чувства. Однако не удалось перевести пациентку на самостоятельное дыхание, и на 42-й день заболевания она умерла от легочно-сердечной недостаточности на фоне пневмонии.

Данный случай заслуживает внимания тем, что диагноз синдром Гийена – Барре был выставлен с запозданием из-за асимметричной легкой слабости только в правых конечностях при дебюте заболевания, что было расценено у пациентки 86 лет с гипертонической болезнью как мозговой инсульт полушарной локализации. Дальнейшее течение заболевания заставило пересмотреть диагноз в пользу синдрома Гийена – Барре, что было позже поддержано проведенным ЭНМГ-исследованием. Клиническая картина складывалась только из симптомов моторной полинейропатии, сенсорных нарушений выявлено не было. Исследование спинно-мозговой жидкости не имело диагностического значения, поскольку было проведено на 4-й день заболевания и более не повторялось. Трудно судить о возможном исходе заболевания, если бы терапия иммуноглобулином была начата раньше, а не в ситуации, когда у пациентки уже появились дыхательные расстройства с угнетением сознания до сопора, потребовавшие проведения искусственной вентиляции легких. Однако данный случай продемонстрировал, что у пациентки 86 лет на фоне введения привиджена появились легкие признаки улучшения, не отмечалось каких-либо побочных эффектов, переносимость препарата была хорошая.

Клинический пример 3: пациент Л., 56 лет, водитель. Анамнез. Болен в течение трех дней – сначала появились боли в ступнях, затем в икроножных мышцах. В день госпитализации утром уже не мог ходить из-за слабости в ногах, в середине дня появилась слабость в руке справа, к вечеру – слабость в руке слева. Бригадой «Скорой помощи» 08.02.17 доставлен в приемное отделение СОКБ. Жалобы при поступлении на слабость в руках и ногах, выраженные жгучие боли в руках и ногах, ощущение «ползания му-

рашек» в пальцах рук и ног. Из сопутствующих заболеваний – гипертоническая болезнь, ишемическая болезнь сердца, инфаркт миокарда в 2015 г., регулярно принимает антигипертензивные препараты, в 2015 г. перенес стентирование коронарных артерий. Соматический статус без особенностей.

Неврологический статус. Сознание ясное. Менингеальных и общемозговых симптомов нет. Зрачки равные. Фотореакция прямая, содружественная – живая. Движения глазных яблок в полном объеме. Нистагма нет. Лицо симметричное в покое и при мимике. Глотание, фонация, артикуляция не нарушены. Глоточный рефлекс живой. Язык по центру. Мышечный тонус снижен. Сухожильные рефлексы с рук равные, средней живости, с ног не вызываются. Брюшные рефлексы не вызываются. Сила в конечностях: в правой руке в проксимальных отделах 2–3 балла, в дистальных отделах 4 балла, в левой руке 4 балла в проксимальных отделах, 5 баллов в дистальных, в правой ноге 2 балла в проксимальных отделах, 3 балла в дистальных, в левой ноге 2 балла в проксимальных отделах, 3 балла в дистальных. Патологических кистевых и стопных рефлексов нет. Парестезии в пальцах рук и ног, снижение мышечно-суставного чувства в дистальных отделах всех конечностей, вибрационное чувство снижено с двух сторон, больше в правых конечностях. Симптомы натяжения Ласега положительные с 30 градусов.

Результаты обследования. В общем анализе крови, мочи, в биохимическом анализе крови (активность АлАТ, АсАТ, щелочной фосфатазы, содержание мочевины, креатинина, калия, натрия, хлоридов, прямого и общего билирубина, холестерина, общего белка, альбумина, кальция) особенностей не обнаружено. Результаты обследования на ВИЧ и вирусный гепатит В, вирусный гепатит С отрицательные. Проведена люмбальная пункция (на 4-й день заболевания) в ликворе тенденция к увеличению содержания белка, 0,34 г/л (норма 0,15–0,33 г/л) при нормальном клеточном составе. На основании клинической картины выставлен диагноз «синдром Гийена – Барре». В дальнейшем от повторного исследования ликвора пациент отказался.

Выполнена ЭНМГ моторных и сенсорных волокон срединного, локтевого, малоберцового, большеберцового и икроножного нерва. Выявлены признаки проксимальной сегментарной демиелинизации всех исследованных нервных стволов верхних и нижних конечностей, блока моторного проведения до 40 % по локтевому нерву на уровне кубитального туннеля, умеренно выраженной аксонопатии малоберцового нерва слева.

Пациенту в неврологическом отделении 09.02.17 назначена терапия привидженом, рассчитанная по массе тела суточная доза 0,4 г на 1 кг массы тела составила 35 г в сутки, терапия проводилась ежедневно на протяжении 5 дней. Также проводилось лечение сопутствующих заболеваний и профилактика осложнений. Тем не менее по окончании курса терапии привидженом у пациента сохранялся болевой синдром прежней степени выраженности, с целью его купирования больной получал эпизодически трамадол, нестероидные противовоспалительные препараты, затем добавлен амитриптилин. 18.02.17 пациент стал предъявлять жалобы на задержку мочеиспускания, по катетеру было выведено 400 мл мочи. На следующий день задержка мочи наблюдалась на протяжении 12 ч, при попытке вывести мочу катетером было встречено препятствие, по этой причине урологом во избежание травмирования уретры при катетеризации принято решение об установлении троакарной цистостомы. В дальнейшем постепенно появилась возможность самостоятельного мочеиспускания, сначала периодически, затем полностью, 01.03.17 цистостома была удалена. Болевой синдром уменьшился на фоне добавления к терапии 40 мг преднизолона [2] с одновременным назначением гастропротекторов. Двигательные расстройства постепенно регрессировали, и на 35 день госпитализации пациент был выписан с хорошим восстановлением движений: сила в конечностях – в правой руке в проксимальных и дистальных отделах 4 балла, в левой руке 4 балла в проксимальных отделах, 5 баллов в дистальных, в правой ноге 3 балла в проксимальных отделах, 4 балла в дистальных, в левой ноге 4 балла в проксимальных и дистальных отделах. Боли существенно уменьшились и оценивались как незначительные. Сохранялось снижение мышечно-суставного чувства в дистальных отделах конечностей.

Данный случай представляет интерес тем, что в дебюте заболевания у пациента отмечался выраженный болевой синдром, который сохранялся на протяжении длительного периода стационарного лечения, не уменьшился при проведении курса внутривенного иммуноглобулина и потребовал введения в терапию комплекса препаратов – опиоидного анальгетика, нестероидных противовоспалительных препаратов и трициклического антидепрессанта. Короткий курс преднизолона с быстрым снижением дозы был применен в качестве симптоматической, а не патогенетической терапии [2]. Также случай интересен нарушением мочеиспускания, возникшим на 11 сутки заболевания, в то время как в большинстве случаев

при синдроме Гийена – Барре расстройств мочеиспускания не отмечается [6]. Функция мочеиспускания восстановилась с прогрессирующим восстановлением двигательных функций в конечностях. На фоне комплексного лечения с патогенетической терапией привидженом получено хорошее восстановление двигательных функций, и пациент смог самостоятельно авиарейсом вернуться к месту постоянного проживания после 35 дней стационарного лечения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Привиджен был применен в трех случаях тяжелых форм синдрома Гийена – Барре. В двух случаях патогенетическое лечение привидженом сопровождалось хорошим и достаточно быстрым восстановлением тяжелых параличей, тем не менее на фоне лечения препаратом у одного пациента отмечалось непродолжительное умеренное нарастание двигательного дефицита с последующим обратным развитием, а во втором случае по завершении курса сохранялся болевой синдром, возникла острая задержка мочеиспускания, потребовавшая наложения цистостомы, с последующим регрессом как болевого синдрома, так и расстройства мочеиспускания. В одном случае эффект отсутствовал, что связано с очень тяжелой формой заболевания с преимущественно аксональным поражением периферических нервов по картине ЭНМГ у пациентки 86 лет, а также с отложенным по времени патогенетическим лечением. Во всех случаях применения привиджена у больных с синдромом Гийена – Барре не отмечалось значимых и непредусмотренных побочных эффектов, за исключением одного быстро купированного случая назофарингита, отмеченного в инструкции как возможный побочный эффект. Скорость введения препарата была соблюдена в соответствии с инструкцией по применению, причем это оказалось возможным без применения инфузома.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Попелянский Я.Ю. Болезни периферической нервной системы. Руководство для врачей. 3-е изд., перераб. и доп. М.: Медицина, 2015. 464 с.
2. Пирадов М.А. Синдром Гийена – Барре М.: Интермедика, 2003. 240 с.
3. Пирадов М.А., Супонева Н.А. Синдром Гийена – Барре: диагностика и лечение. Руководство для врачей. М.: МЕДпресс-информ, 2011. 200 с.
4. Супонева Н.А., Пирадов М.А. Внутривенная иммунотерапия в неврологии. М.: Горячая линия – Телеком, 2013. 312 с.

5. Шнайдер Н.А., Кантимирова Е.А. Паранеопластическая полинейропатия: дефиниция, этиопатогенез, диагностика // Сиб. мед. обозрение. 2010. 1. (1). 12–16.

6. Яхно Н.Н., Штульман Д.Р. Болезни нервной системы: в 2 т. Руководство для врачей. М.: Медицина, 2001. 1. 59.

7. Acute onset flaccid paralysis. Geneva: World Health Organization, 1993. <http://apps.who.int/iris/handle/10665/61626>.

8. Siani B., Willmann K., Wymann S., Marques A., Widmer E. Isoagglutinin reduction in human immuno-

globulin products by donor screening // Biol. Ther. 2014. 4. (1). 15–26.

9. Sridhar G., Ekezie B.F., Izurieta H.S., Selvam N., Ovanesov M.V., Divan H.A., Liang Y., Golding B., Forshee R.A., Anderson S.A., Menis M. Immune globulins and same-day thrombotic events as recorded in a large health care database during 2008 to 2012 // Transfusion. 2014. 54. (10). 53–65

10. Skoda-Smith S., Torgerson T.R., Ochs H.O. Subcutaneous immunoglobulin replacement therapy in the treatment of patients with primary immunodeficiency disease // Ther. Clin. Risk Manag. 2010. 6. 1–10.

EXPERIENCE OF HUMAN NORMAL IMMUNOGLOBULIN (PRIVIGEN, CSL BEHRING) ADMINISTRATION IN PATIENTS WITH GUILLAIN – BARRE SYNDROME IN NON-SPECIALIZED NEUROLOGICAL DEPARTMENT

Lyubov Porfirjevna SMERTINA^{1,2}, Veli Zellabdun-ogly MOVSUMOV^{1,2}

¹ Surgut District Clinical Hospital
628400, Surgut, Energetikov str., 20, block 2

² Surgut State University
628400, Surgut, Energetikov str., 22

Objective – to assess the own experience of human normal immunoglobulin (Privigen, CSL Behring) administration in patients with Guillain – Barre syndrome. **Material and methods.** Clinical cases of patients with Guillain – Barre syndrome treated with human normal immunoglobulin (Privigen) in 2016–2017. Guillain – Barre syndrome corresponded to the disease clinical and diagnostic criteria. Efficiency of this treatment was considered by improvement of motor and pelvic functions. Besides, side effects and tolerability were assessed clinically. **Results.** 3 GBS patients underwent treatment. There was improvement of varying degrees in 3 cases, which included improvement in motor sphere and improvement in urination. One case was fatal because of pulmonary and cardiac failure caused by pneumonia. Expected slight side effect was in 1 case, which includes nasopharyngitis, was treated in within days. **Conclusion.** Results of implementation of human normal immunoglobulin (Privigen, CSL Behring) were ambiguous.

Key words: Guillain – Barre syndrome, Privigen, immunoglobulins.

Smertina L.P. – candidate of medical sciences, associate professor of the department of cardiology,
e-mail: Smertina@yandex.ru

Movsumov V.Z.-o. – neurological resident of 1 year, e-mail: Veli.mov94@gmail.com

КЛИНИКО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ЭТАПНОСТИ КОМПЛЕКСНОГО ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С ВПРАВЛЯЕМЫМ СМЕЩЕНИЕМ СУСТАВНОГО ДИСКА ВИСОЧНО-НИЖНЕЧЕЛЮСТНОГО СУСТАВА ПРИ ПАТОЛОГИИ ПРИКУСА И ГИПЕРТОНУСЕ ЖЕВАТЕЛЬНОЙ МУСКУЛАТУРЫ

**Ирина Николаевна БРЕГА, Павел Александрович ЖЕЛЕЗНЫЙ,
Анжела Владимировна АДОНЬЕВА, Константин Сергеевич ЩЕЛКУНОВ,
Элина Денисовна ПИВЕНЬ**

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

Цель исследования – обоснование этапности комплексного лечения пациентов с вправляемым смещением суставного диска височно-нижнечелюстного сустава при патологии прикуса и гипертонусе жевательной мускулатуры. **Материал и методы.** Проведена клиническая оценка, лучевое, электромиографическое и гнатологическое исследование при планировании и реализации лечения у 74 пациентов с вправляемым смещением суставного диска височно-нижнечелюстного сустава (ВНЧС) при патологии прикуса и гипертонусе жевательной мускулатуры с 2016 по 2018 г. С целью нормализации функции жевательной мускулатуры на первом этапе лечения применены релаксирующая шина и медикаментозная терапия. Оценка эффективности коррекции гипертонуса жевательной мускулатуры выполнена под контролем электромиографии. При нормализации показателей электромиографии, уменьшении частоты, степени выраженности щелчков в ВНЧС, отсутствии субъективных жалоб на дискомфорт или боли приступали к установке брекетов для коррекции нарушений прикуса. **Результаты и их обсуждение.** После улучшения анатомо-функциональных взаимоотношений проведено плановое ортодонтическое лечение, в процессе которого нарушений функции височно-нижнечелюстных суставов не выявлено. Включение в комплекс лечебных мероприятий предварительной релаксационной сплент-терапии при патологии прикуса и гипертонусе жевательной мускулатуры, сочетающихся с вправляемым смещением суставного диска ВНЧС, направлено на предотвращение развития вторичного остеоартроза и блокирования суставного диска ВНЧС.

Ключевые слова: височно-нижнечелюстной сустав, смещение суставного диска с вправлением, гипертонус жевательной мускулатуры, релаксационная сплент-терапия.

Взаимосвязь аномалий прикуса с нарушением функции височно-нижнечелюстного сустава (ВНЧС) и жевательной мускулатуры подтверждены данными многочисленных исследований [2, 4]. Адаптационные возможности зубочелюстной системы во многом компенсируют окклюзионные нарушения [1, 2]. Распространенные в популяции симптомы со стороны ВНЧС в виде щелчков при движениях нижней челюсти могут возникать и при ортогнатическом прикусе. В таких случаях окклюзионный фактор не имеет решающего значения в их возникновении, а причины обусловле-

ны нарушением тонуса жевательной мускулатуры в виде бруксизма и/или нарушением формирования соединительной ткани [3, 11].

В клинических ситуациях, когда суставные шумы в виде щелчков встречаются у пациентов с аномалиями прикуса и планируется проведение ортодонтического лечения, требуется комплексная функциональная и лучевая диагностика с целью оценки анатомо-функциональных нарушений в ВНЧС и состояния жевательной мускулатуры [1, 2]. Эти данные необходимы для планирования этапности лечения с целью предотвращения

Брега И.Н. – к.м.н., доцент, декан стоматологического факультета, зав. кафедрой хирургической стоматологии, стоматологической имплантации и челюстно-лицевой хирургии, e-mail: irina_brega@mail.ru

Железный П.А. – д.м.н., проф., зав. кафедрой стоматологии детского возраста, e-mail: sdv.ngmu@mail.ru

Адоньева А.В. – к.м.н., доцент кафедры хирургической стоматологии, стоматологической имплантации и челюстно-лицевой хирургии, e-mail: ado-angel@yandex.ru

Щелкунов К.С. – к.м.н., доцент кафедры стоматологии детского возраста хирургии, e-mail: tescnia@gmail.com

Пивень Э.Д. – студентка 5-го курса стоматологического факультета, e-mail: elina_piven@mail.ru

перегрузки связочного аппарата ВНЧС у пациентов с вправляемым смещением суставного диска и предотвращения блокирования движений в ВНЧС [1].

Цель исследования – обоснование последовательности комплекса лечебных мероприятий у пациентов с вправляемым смещением суставного диска и гипертонусом жевательной мускулатуры при патологии прикуса.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

На клинических базах кафедры стоматологии детского возраста и кафедры хирургической стоматологии, стоматологической имплантации и челюстно-лицевой хирургии Новосибирского государственного медицинского университета за период с 2016 по 2018 г. проведено обследование и лечение 74 пациентов с патологией прикуса и вправляемым смещением суставного диска ВНЧС, сопровождающимся гипертонусом жевательной мускулатуры. Клиническое обследование включало оценку жалоб, анамнеза и соматического статуса пациента, состояния окклюзии, объема и характера движений нижней челюсти, суставных шумов, проводилась пальпация жевательной мускулатуры и ВНЧС [5, 10].

В ходе предварительного обследования учитывали критерии «Гамбургского протокола»: «1. Асимметрично ли открывание рта? 2. Открывание рта резко ограниченное или слишком большое? 3. Определяются ли суставные шумы? 4. Асинхронен ли окклюзионный звук? 5. Болезненна ли пальпация жевательных мышц? 5. Травматична ли центрическая окклюзия?» [15]. Для исключения бруксизма использовалась анкета D.A. Paesanietal: «1. Знаете ли Вы, что во время сна скрежете зубами? 2. Кто-нибудь говорил Вам, что во время сна Вы скрежете зубами? 3. Во время утреннего пробуждения Ваши челюсти сжимаются (находятся в напряжении)? 4. Сжимаете ли Вы челюсти в дневное время (в состоянии бодрствования)? 5. Скрежете ли Вы зубами в дневное время (в состоянии бодрствования)?» [20]. При получении положительных ответов на эти вопросы предполагалось наличие у пациента дневной, ночной или смешанной формы бруксизма, что было подтверждено объективными критериями со стороны зубочелюстной системы [3, 18]. Характер суставного шума в виде щелчка в ВНЧС при всех движениях нижней челюсти определяли пальпаторно и аускультативно.

На основании полученной клинической информации были определены критерии включения пациентов для дальнейшего обследования и лечения: суставной шум в виде щелчка при любых

движениях нижней челюсти и отсутствие признаков ограничения движений нижней челюсти; патология прикуса, требующая ортодонтического лечения; пальпаторно определяемый гипертонус жевательной мускулатуры. Критериями исключения являлись: клинические признаки невправляемого смещения суставного диска в виде ограничения движений нижней челюсти и наличие в анамнезе ранее щелчков; признаки ночной, дневной или смешанной форм бруксизма; клинические признаки миофасциального болевого синдрома лица; наличие соматической патологии, беременности или периода лактации, клинических признаков недифференцированной дисплазии соединительной ткани, отказ от участия в обследовании. Группе из 74 пациентов, соответствующих критериям включения, был выполнен комплекс диагностических мероприятий. Всем пациентам предоставлена информация о плане и методах обследования, получено добровольное информированное согласие на проведение лучевой и функциональной диагностики.

Клиническая оценка также включала измерение расстояния между режущими краями верхних и нижних резцов при открывании рта, измерение расстояния от центральной линии при боковых движениях нижней челюсти, а также при выдвижении нижней челюсти кпереди. Оценка характера суставных шумов в ВНЧС проводилась с учетом анамнестических и клинических данных на основании диагностических критериев, предложенных Международным консорциумом по изучению диагностических критериев дисфункции ВНЧС (International RDC/TMD Consortium) [22].

В соответствии с данными критериями смещение суставного диска ВНЧС с вправлением характеризуется тем, что при закрытом рте диск смещен кпереди относительно мыщелка и вправляется при открывании рта. Возможно также медиальное и латеральное смещение. При вправлении диска возможны щелчки и хлопки. В анамнезе наличие одного из следующих признаков: суставные шумы последние 30 дней при движении нижней челюсти или суставные шумы при клиническом обследовании. При клиническом осмотре наличие одного из следующих критериев: щелчки при закрывании и открывании, определяемые пальпаторно, не менее чем при трех повторях; щелчки, определяемые пальпаторно, при трех повторях открывания и закрывания; щелчки, определяемые пальпаторно, при трех повторях боковых движений и выдвижении нижней челюсти кпереди. Диагноз нуждается в подтверждении данными магнитно-резонансной томографии, при этом необходимо наличие двух

из следующих критериев: при максимальных бугорково-фиссурных контактах задний край диска локализуется в положении на 9.30, средняя часть диска находится кпереди от головки нижней челюсти; при полном открывании рта средняя часть диска располагается между головкой нижней челюсти и суставным бугорком височной кости.

Комплексная оценка окклюзии включила определение окклюзионной высоты, формы окклюзионной плоскости, высоты физиологического покоя и межокклюзионной высоты. Характер окклюзионных контактов зубных рядов в центральной, передней и боковых окклюзиях определяли клинически и на диагностических моделях с использованием пространственной ориентации моделей в артикуляторе SAM 3, что позволяло имитировать динамическую окклюзию. Пальпацию жевательной мускулатуры проводили в соответствии с протоколом, предложенным Международным консорциумом по изучению диагностических критериев дисфункции ВНЧС [22]. Пальпировали собственно жевательные, латеральные и медиальные крыловидные, височные, челюстно-подъязычные, двубрюшные мышцы, а также мышцы шеи для выявления участков гипертонуса и боли. Клиническую оценку напряжения и болезненности мышц проводили с использованием 3-балльной шкалы [5].

С целью объективизации функционального состояния жевательной мускулатуры выполнено обследование пациентов на аппарате «Синапсис» (НМФ «Нейротех», г. Таганрог). Процедуру начинали с изучения биоэлектрической активности (БЭА) собственно жевательных и височных мышц в состоянии относительного физиологического покоя. Далее проводили стандартизованную запись при максимальном волевом сжатии двух стандартных ватных валиков диаметром 10 мм, расположенных на границе между вторыми премолярами и первыми молярами симметрично с двух сторон. На следующем этапе регистрировали показатели БЭА мышц при произвольном волевом сжатии зубных рядов в привычной окклюзии. Электромиографические (ЭМГ) сигналы парных мышц сравнивали с использованием индекса симметрии жевательных мышц (ИСЖМ), индекса симметрии височных мышц (ИСВМ) и индекса бокового смещения нижней челюсти (ТОРС) [8], которые рассчитывали с помощью программного обеспечения электромиографа:

$ИСВМ = (A_{cp\ temporalis\ слева} / A_{cp\ temporalis\ справа}) \times 100 \%$, где A_{cp} – средняя амплитуда сигнала элетронеиомиографии; индекс дает информацию о симметричности распределения биоэлектрической активности между височными мышцами левой и правой сторон.

$ИСЖМ = (A_{cp\ masseter\ слева} / A_{cp\ masseter\ справа}) \times 100 \%$; индекс дает информацию о симметричности распределения биоэлектрической активности между собственно жевательными мышцами левой и правой сторон.

$ТОРС = ((A_{cp\ temporalis\ слева} + A_{cp\ masseter\ справа}) / (A_{cp\ temporalis\ справа} + A_{cp\ masseter\ слева})) \times 100 \%$; индекс дает информацию о том, с какой стороны в группе жевательных и височных мышц средняя амплитуда сигнала выше.

ЭМГ проводили при первичном обращении и перед установкой брекет-системы в сроки через 3 месяца, в течение которых применена релаксирующая шина. Конусно-лучевую компьютерную томографию (КЛКТ) в привычной окклюзии выполняли на аппарате «Galileos» (Sirona, Германия) при первичном обращении пациента и перед установкой брекетов. Контроль ВНЧС по данным КЛКТ включал в себя определение симметрии расположения и высоты расположения головок нижней челюсти относительно суставной поверхности, степени смещения головки нижней челюсти в суставной ямке, целостность кортикальной пластинки, наличие перестройки костной ткани [17]. Функциональная магнитно-резонансная томография (МРТ) проведена на аппарате «APERTO» открытого типа с постоянным магнитным полем 0,4 Т (Hitachi, Япония) при обращении пациентов и перед установкой брекетов [6].

Планирование комплекса лечебных мероприятий проводилось с учетом полученных результатов диагностики при первичном обращении пациентов и учитывало вид патологии прикуса, положение суставного диска, состояние функции жевательной мускулатуры [2]. С учетом рекомендаций лечение включало обучение и мотивацию пациентов, релаксирующую шину из светополимеризующейся пластмассы (система «Primosplint», Германия), применение по показаниям нестероидных противовоспалительных препаратов, мышечных релаксантов, лазерного излучения, ультразвуковой терапии. Режим ношения шины ночной и дневной 2–3 ч.

Оценку результатов лечения проводили на этапах применения релаксационной шины через три месяца, а также через год. При нормализации показателей ЭМГ, уменьшении частоты, степени выраженности щелчков в ВНЧС, отсутствии субъективных жалоб на дискомфорт или боли приступали к установке брекетов для коррекции нарушений прикуса. В клинических ситуациях, когда частота и характер щелчков сохранялись (пять пациентов, 6,7 %), выполняли модификацию релаксационной шины в репозиционную для нормализации положения суставного диска.

С этой целью определяли новое терапевтическое положение нижней челюсти в артикуляторе, при котором у пациента клинически исчезали щелчки, и в этом положении изготавливалась шина с режимом ношения 24 ч в течение не менее 3 мес. Эффективность применения модифицированной шины дополнительно оценивали по данным ЭМГ, КЛКТ и МРТ.

Статистическая обработка материала была проведена путем определения относительных величин распределения, характеризующих структуру пациентов по длительности течения заболевания, причинам развития, состоянию окклюзии и функции жевательной мускулатуры, положению суставного диска. Для оценки ЭМГ вычисляли средние значения полученных показателей и средние квадратичные отклонения.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

За период с 2016 по 2018 г. проведен анализ результатов лечения 74 пациентов с вправляемым смещением суставного диска ВНЧС при патологии прикуса и гипертонусе жевательной мускулатуры. Возрастные группы пациентов: от 18 до 25 лет (25,7 %), от 25 до 45 лет (50 %) и старше 45 лет (24,3 %). Мужчин было 18 (24,3 %), женщин – 56 (75,6 %). Средний возраст пациентов составил $30,0 \pm 0,8$ года, соотношение пациентов женского и мужского пола – 3,1:1.

Основной жалобой при обращении было наличие щелчков и нарушение эстетики улыбки. У 58 (78,4 %) пациентов щелчки носили двухсторонний характер, у 16 (21,6 %) – односторонний. Причины возникновения щелчков больные связывали с последствиями спортивной травмы (шесть человек, 8,1 %), проведением стоматологических манипуляций: лечение зубов (10 человек, 13,5 %), ранее проведенное ортодонтическое лечение (17 человек, 23 %), чрезмерными жеватель-

ной нагрузкой и открыванием рта (18 человек, 24,3 %); возможную причину появления щелчков не указали 23 пациента (31,1 %). Продолжительность периода с момента возникновения щелчков до обращения пациента с данным симптомом к стоматологу составила от 1 мес. до 3 лет, в среднем $6,0 \pm 0,3$ мес. При клиническом осмотре у всех больных определялся щелчок, что по МКБ-10 трактуется как «Щелкающая челюсть», K07.61. Дистальный прикус диагностирован у 53 пациентов (71,6 %), перекрестный – у 21 (28,4 %). Данные по окклюзионным взаимоотношениям и локализации щелчков до проведения лечения представлены в табл. 1. Локализация щелчков при движениях нижней челюсти коррелировала с нарушениями прикуса. При односторонних нарушениях, связанных с перекрестным прикусом, щелчки выявлены на противоположной от нарушений стороне у шести пациентов (7,1 %), при дистальном прикусе – на стороне нарушений у пяти (6,75 %).

Изучение данных КЛКТ в привычной окклюзии позволили визуализировать изменение положения суставных головок. При одностороннем дистальном прикусе смещение головки нижней челюсти кзади на стороне окклюзионного дисбаланса выявлено у пяти (6,75 %) пациентов; при одностороннем перекрестном прикусе дистализация головок определялась на контрлатеральной стороне у шести (7,1 %) человек. При двухстороннем дистальном прикусе большее смещение правой головки дистально в суставной ямке визуализировалось в 20 (27 %) случаев, левой – в 11 (14,7 %). При двухстороннем перекрестном прикусе значительного смещения головок не выявлено. По данным МРТ, чаще определялось переднее и переднемедиальное смещение суставного диска с вправлением у 65 (87,8 %) больных, латеральное смещение подтверждено у девяти (12,2 %) пациентов.

Таблица 1

Состояние прикуса и локализация щелчков в ВНЧС

Вид прикуса	Всего	Локализация щелчков		
		Справа	Слева	Справа и слева
Дистальный прикус односторонний справа	3 (4,0 %)	3 (4,0 %)	–	–
Дистальный прикус односторонний слева	2 (2,7 %)	–	2 (2,7 %)	–
Дистальный прикус двухсторонний	48 (64,8 %)	2 (2,7 %)	1 (1,4 %)	45 (60,8 %)
Перекрестный прикус односторонний справа	2 (2,7 %)	–	2 (2,7 %)	–
Перекрестный прикус односторонний слева	4 (5,4 %)	4 (5,4 %)	–	–
Перекрестный прикус двухсторонний	15 (20,3 %)	2 (2,7 %)	–	13 (17,6 %)
Всего	74 (100 %)	11 (14,8 %)	5 (6,8 %)	58 (78,4 %)

Примечание. Указано количество пациентов с данным признаком, n (%).

Анализ результатов функциональной оценки ЭМГ сигналов парных мышц позволил выявить, что до начала применения релаксирующей сплент-терапии у пациентов с дистальным односторонним прикусом преобладала тоническая активность в состоянии относительного функционального покоя собственно жевательной и височной мышцы на стороне нарушений окклюзии, которая составила в среднем 56 мкВ. При произвольном максимальном сжатии зубов данные показатели также демонстрировали различия в суммарной биоэлектрической активности в среднем на 147 мкВ, что коррелирует с индексом симметричности распределения биоэлектрической активности между височными мышцами левой и правой сторон. У пациентов с перекрестным прикусом до начала терапии тоническая активность в состоянии относительного функционального покоя собственно жевательной и височной мышцы составила в среднем 72 мкВ, различия при произвольном максимальном сжатии зубов – в среднем 189 мкВ, у пациентов с дистальным двухсторонним прикусом – соответственно 65 и 182 мкВ.

При оценке результатов применения релаксирующей шины через 3 мес. с начала лечения обнаружена отчетливая тенденция к нормализации функции жевательных мышц, которая была объективизирована путем контроля ЭМГ и изучения индексов симметричности распределения биоэлектрической активности между жевательными и височными мышцами левой и правой сторон (табл. 2).

Клиническое наблюдение демонстрирует эффективность применения репозиционной шины у пациента с вправляемым смещением суставного диска.

Пациентка М., 30 лет, обратилась с жалобами на щелчки в левом ВНЧС при открывании рта, сопровождающиеся ощущением дискомфорта. Щелчки появились около двух лет назад, возможные причины не определяет. Последние несколько месяцев ощущает усиление суставного шума.

В анамнезе: в детском возрасте ортодонтическое лечение, не завершено.

При обследовании: конфигурация лица не нарушена, боли при пальпации в области ВНЧС не выявлены. При открывании рта на уровне 1,5 см между режущими краями верхних и нижних резцов определяется отчетливый щелчок в области левого ВНЧС, сопровождающийся ощущением дискомфорта. Далее головка нижней челюсти перемещается в физиологических пределах. При анализе окклюзии выявлено следующее. Резцы верхней челюсти находятся в протрузии, глубина резцового перекрытия равна 1 мм. Медиальные-щечные бугорки первых моляров верхней челюсти в центральной окклюзии располагаются в межбугровой фиссуре первых моляров нижней челюсти. Вершины режущих бугорков клыков верхней челюсти совпадают с линией, проходящей по клыкам и премолярам нижней челюсти. Соотношение окклюзионных поверхностей: щечные бугорки зубов нижней челюсти своими режущими площадками касаются межбугровой срединной борозды жевательных зубов верхней челюсти, а небные бугорки зубов верхней челюсти располагаются в аналогичной борозде зубов нижней челюсти, в области 4,7 зуба небные бугорки своими режущими площадками касаются межбугровой срединной борозды зуба 1,7 верхней челюсти, а щечные бугорки зуба 1,7 располагаются в аналогичной борозде зуба 4,7, что соответствует правостороннему перекрестному прикусу (рисунок, а).

С целью определения положения головок нижней челюсти в суставных ямках в состоянии относительного физиологического покоя и привычной окклюзии и объективизации суставного шума выполнена КЛКТ и МРТ височно-нижнечелюстных суставов. На КЛКТ визуализируется незначительное дистальное смещение головок нижней челюсти в сагиттальной плоскости, а также незначительное уменьшение сагиттального размера в медиальных отделах в размерах око-

Таблица 2

Величины индексов электромиографических показателей до и после применения релаксирующей шины

Вид прикуса	До применения сплент-терапии			После применения сплент-терапии		
	ИСВМ	ИСЖМ	ТОРС	ИСВМ	ИСЖМ	ТОРС
Дистальный прикус односторонний справа	82 ± 1,32	83 ± 0,46	84 ± 0,31	94 ± 1,46	98 ± 0,46	96 ± 0,46
Дистальный прикус односторонний слева	86 ± 0,46	82 ± 0,46	88 ± 0,21	92 ± 2,60	93 ± 0,46	94 ± 0,21
Дистальный прикус двухсторонний	90 ± 0,46	78 ± 0,46	92 ± 0,46	98 ± 0,21	91 ± 0,68	98 ± 0,46
Перекрестный прикус односторонний справа	81 ± 0,66	82 ± 1,66	87 ± 1,12	91 ± 0,48	97 ± 2,01	92 ± 1,24
Перекрестный прикус односторонний слева	82 ± 0,21	81 ± 2,46	85 ± 0,46	96 ± 1,28	93 ± 0,46	94 ± 0,74
Перекрестный прикус двухсторонний	90 ± 2,16	91 ± 0,40	90 ± 0,46	96 ± 2,86	96 ± 0,42	97 ± 0,02

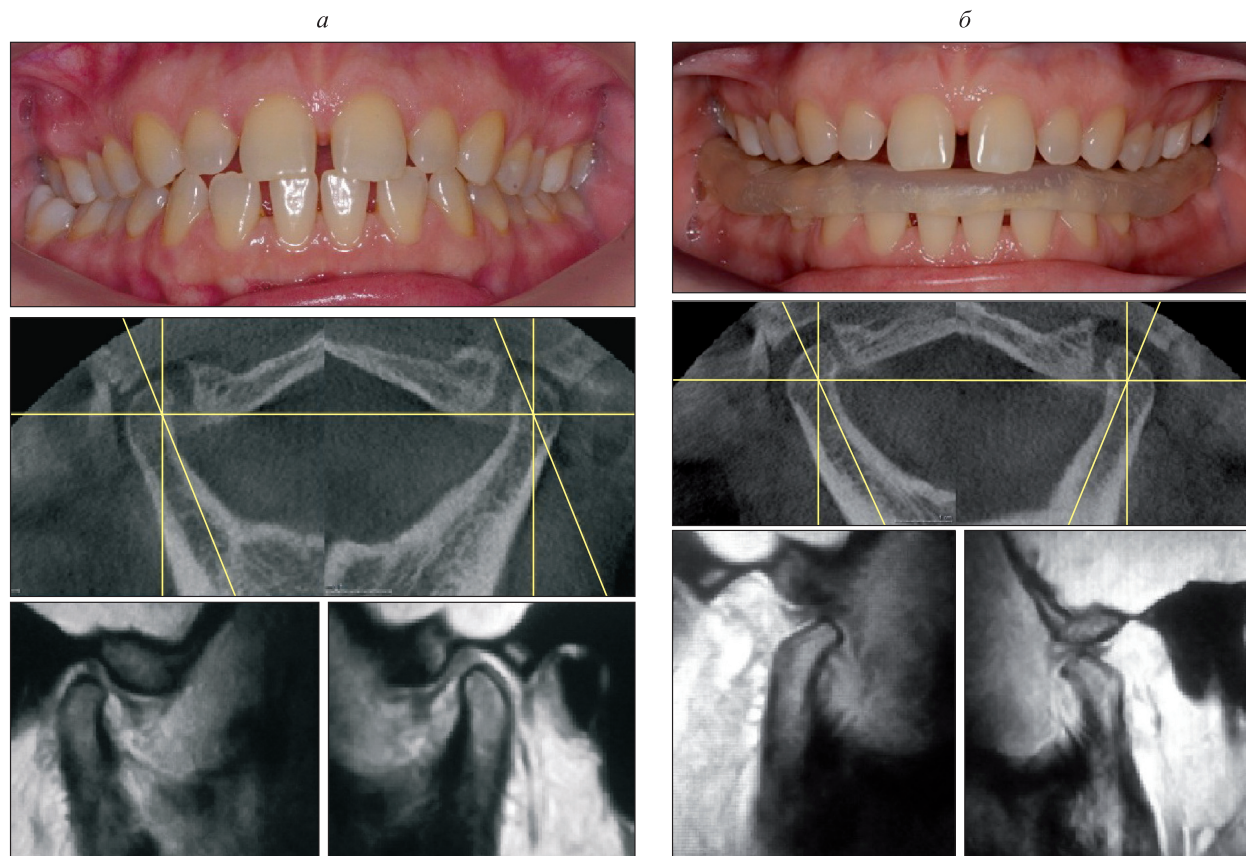


Рис. Состояние окклюзии, КЛКТ и МРТ ВНЧС пациентки М. до (а) и после (б) лечения

ло 1,5 мм (см. рисунок, а). На МР-томограммах левого и правого ВНЧС определяется, что задний край диска локализуется в положении на 12 часах условного циферблата, средняя часть диска находится кпереди от головки нижней челюсти и при полном открывании рта располагается между головкой нижней челюсти и суставным бугорком височной кости, слева диск в сагиттальной плоскости истончен.

После выполнения пациентке М. сплент-терапии через 3 мес. при клиническом осмотре: конфигурация лица не нарушена, все движения нижней челюсти свободные, в полном объеме, боли при пальпации жевательных мышц и ВНЧС не выявлено, суставные шумы клинически не выявлены. На МРТ правого и левого ВНЧС визуализировано, что задний край диска локализуется в положении на 12.30, средняя часть диска находится кпереди от головки нижней челюсти и при полном открывании рта располагается между головкой нижней челюсти и суставным бугорком височной кости (рисунок, б).

С целью оценки эффективности лечения выполнена ЭМГ жевательной мускулатуры. Получены результаты, которые свидетельствуют о положительной динамике в ходе применения сплент-терапии: значительное уменьше-

ние спонтанной БЭА жевательных и височных мышц и приближение их к нормальным показателям. Спонтанная БЭА височной мышцы снизилась в покое на $15,0 \pm 2,6$ мкВ на стороне жалоб и на $9,0 \pm 2,4$ мкВ на противоположной стороне, при нагрузке – соответственно на $93,0 \pm 2,3$ и $42,0 \pm 29,1$ мкВ. Спонтанная БЭА собственно жевательной мышцы уменьшилась в покое на $16,3 \pm 2,7$ мкВ на стороне жалоб и на $12,3 \pm 2,6$ мкВ с противоположной стороны, при нагрузке – соответственно на $149,0 \pm 22,1$ и $124,2 \pm 25,2$ мкВ. После лечения ИСВМ снизился на $12 \pm 1,32$ %, ИСЖМ – на $17 \pm 1,03$ %, ТОРС – на $10 \pm 0,07$ %, что также свидетельствовало о нормализации функциональной активности жевательной мускулатуры. Для нормализации окклюзионных нарушений после применения релаксирующей шины была установлена несъемная ортодонтическая аппаратура. На этапах коррекции аномалии прикуса клинических проявлений нарушений функции ВНЧС и жевательной мускулатуры не выявлено.

Анализ представленной клинической ситуации позволил выявить предрасполагающие факторы в возникновении смещения суставного диска – окклюзионные нарушения и нарушение функционального состояния жевательной муску-

латоры, в результате чего суставные диски заняли латеральное положение по отношению к головке нижней челюсти.

Проведенная релаксирующая сплент-терапия была успешна у 69 (93,2 %) пациентов: нормализовалась функциональная активность жевательной мускулатуры, щелчки исчезли. У пяти (6,7 %) пациентов щелчки не поменяли свой характер, что потребовало применения репонирующей шины.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Использование шиновой терапии при смещении суставного диска способствует повышению эффективности лечения анатомо-функциональных нарушений ВНЧС [12, 16, 21], что особенно важно для нормализации тонуса жевательной мускулатуры и пространственных взаимоотношений между головкой нижней челюсти и суставным диском при планировании ортодонтического лечения [7, 9, 19, 21]. Проведение ЭМГ для оценки результатов применения релаксирующей сплент-терапии объективизирует нормализацию функциональной активности жевательной мускулатуры [13, 14]. Данные клинической диагностики, лучевого исследования, включающие отсутствие щелчков при движении сустава, нормализацию положения головки нижней челюсти и суставного диска по МРТ, позволяют обосновать сроки установки несъемной ортодонтической аппаратуры. Включение в комплекс лечебных мероприятий предварительной релаксационной сплент-терапии при патологии прикуса и гипертонусе жевательной мускулатуры, сочетающихся с вправляемым смещением суставного диска ВНЧС, направлено на предотвращение развития вторичного остеоартроза и блокирования суставного диска ВНЧС [2, 12].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Арсенина О.И., Комарова А.В., Попова А.В., Попова Н.В. Клинико-функциональные результаты применения отечественного эластокорректора при лечении пациентов с мышечно-суставной дисфункцией // *Стоматология*. 2016. (6-2). 89–90.
2. Арсенина О.И., Попова А.В., Гус Л.А. Значение окклюзионных нарушений при дисфункции височно-нижнечелюстного сустава // *Стоматология*. 2014. (6). 64–67.
3. Гайдарова Т.А., Вязьмин А.Я., Малышев В.В. Бруксизм. Иркутск, 2004. 190 с.
4. Гус Л.А., Арсенина О.И., Комолов И.С. Особенности гормонального статуса пациентов с дисфункцией височно-нижнечелюстного сустава при

дистальной окклюзии зубных рядов // *Стоматология*. 2015. (6). 29–31.

5. Лебеденко И.Ю., Арутюнов С.Д., Антоник М.М., Ступников А.А. Клинические методы диагностики функциональных нарушений зубочелюстной системы. М.: МЕДпресс-информ, 2008. 112 с.

6. Манакова Я.Л., Дергилев А.П., Ежак А.В., Бельков Л.Н. Магнитно-резонансная томография височно-нижнечелюстных суставов в амбулаторной практике // *Сиб. мед. журн.* 2010. (2). 37–45.

7. Марков Н.М., Маркова М.В., Иванов В.В., Кречина Е.К. Взаимосвязь изменения активности жевательных мышц и моторных зон коры головного мозга при лечении пациентов с дистальной окклюзией // *Стоматология*. 2016. (6-2). 94–95.

8. Персин Л.С., Шаров М.Н. Стоматология. Нейростоматология. Дисфункции зубочелюстной системы: учеб. пособие. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. 360 с.

9. Самохлиб Я.В., Макеева И.М. Влияние стабильной окклюзии на активность жевательных мышц у здоровых молодых людей // *Стоматология*. 2016. (6-2). 96–97.

10. Тимачева Т.Б., Шемонаев В.И. Методы клинической диагностики функциональных нарушений зубочелюстной системы // *Междунар. журн. прикл. и фундамент. исслед.* 2012. (2). 114.

11. Уманская Ю.Н. Нарушение функций височно-нижнечелюстного сустава вследствие дисплазии соединительной ткани // *Казан. мед. журн.* 2013. 94. (6). 843–846.

12. Шемонаев В.И., Климова Т.Н., Тимачева Т.Б. Применение окклюзионных шин с усиленными протективными свойствами // *Сарат. науч.-мед. журн.* 2013. (3). 490–491.

13. Шемонаев В.И., Поройский С.В., Климова Т.Н., Тимачева Т.Б., Степанов В.А., Осокин А.В., Любименко А.С. Обоснование необходимости дифференцированного подхода к комплексной стоматологической реабилитации пациентов с гипертонией жевательных мышц // *Лекарств. вестн.* 2016. (4). 16–23.

14. Якунов Б.Р., Герасимова Л.П. Диагностика и лечение мышечно-суставной дисфункции височно-нижнечелюстного сустава с болевым синдромом, связанной с окклюзионными нарушениями, с применением сплент-терапии // *Мед. вестн. Башкортостана*. 2013. 8. (4). 46–49.

15. Ahlers M.O., Jakstat H.A. Durchführung der klinischen Funktionsanalyse // *Klinische Funktionsanalyse. Interdisziplinäres Vorgehen mit optimierten Befundbögen*. Hamburg: dentaConcept, 2000. 2. 119–224.

16. Al-Ani M.Z., Davies S.J., Gray R.J., Sloan P., Glenny A.M. Stabilisation splint therapy for temporomandibular pain dysfunction syndrome // *Cochrane Database Syst. Rev.* 2004. (1). CD002778.

17. Barghan S., Merrill R., Tetradis S. Cone beam computed tomography imaging in the evaluation of the temporomandibular joint // J. Calif. Dent. Assoc. 2010. 38. (1). 33–39.
18. Berger M., Szalewski L., Szkutnik J., Ginszt M., Ginszt A. Different association between specific manifestations of bruxism and temporomandibular disorder pain // Neurol. Neurochir. Pol. 2017. 51. (1). 7–11.
19. Jimenez-Silva A., Tobar-Reyes J., Vivanco-Coke S., Pasten-Castro E., Palomino-Montenegro H. Centric relation-intercuspal position discrepancy and its relationship with temporomandibular disorders. A systematic review // Acta Odontol. Scand. 2017. 75. (7). 463–474.
20. Paesani D.A., Lobbezoo F., Gelos C., Guarda-Nardini L., Ahlberg J., Manfredini D. Correlation between self-reported and clinically based diagnoses of bruxism in temporomandibular disorders patients // J. Oral. Rehabil. 2013. 40. (11). 803–809.
21. Rajendra G., Swapnali M. TMJ disorders and occlusal splint therapy – a review // Int. J. Dent. Clin. 2010. 2. (2). 22–29.
22. Schiffman E., Ohrbach R., Truelove E., Look J., Anderson G., Goulet J.P., List T., Svensson P., Gonzalez Y., Lobbezoo F., Michelotti A., Brooks S.L., Ceusters W., Drangsholt M., Ettlin D., Gaul C., Goldberg L.J., Haythornthwaite J.A., Hollender L., Jensen R., John M.T., de Laat A., de Leeuw R., Maixner W., van der Meulen M., Murray G.M., Nixdorf D.R., Palla S., Petersson A., Pionchon P., Smith B., Visscher C.M., Zakrzewska J., Dworkin S.F. Diagnostic Criteria for Temporomandibular Disorders (DC/TMD) for Clinical and Research Applications: recommendations of the International RDC/TMD Consortium Network and Orofacial Pain Special Interest Groupdagger // J. Oral. Facial. Pain. Headache. 2014. 28. (1). 6–27.

CLINICAL AND FUNCTIONAL SUBSTANTIATION FOR COMPLEX TREATMENT STAGING IN PATIENTS WITH THE TEMPOROMANDIBULAR JOINT DISK DISPLACEMENT WITH REDUCTION OF BITE PATHOLOGY AND THE HYPERTONICITY OF THE MASTICATORY MUSCLES

**Irina Nikolaevna BREGA, Pavel Alexandrovich ZHELEZNYI,
Anzhela Vladimirovna ADONYEVA, Konstantin Sergeevich SHCHELKUNOV,
Elina Denisovna PIVEN**

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

Aim of investigation: substantiation of the complex treatment phasing of patients with the temporomandibular joint disk displacement with reduction in case of bite pathology and hypertonicity of masticatory muscles. **Methods.** The clinical evaluation, radiological, electromyographic, and gnathological examination of 74 patients with the reduced temporomandibular joint (TMJ) disk displacement in case of occlusion pathology and chewing muscles hypertonicity have been carried out in the treatment planning and implementation from 2016 to 2018. In order to normalize the function of masticatory muscles at the first stage of treatment, relaxing splint and drug therapy were applied. The effectiveness of the chewing muscles hypertonicity correction was evaluated under electromyography control. The installation of braces for correction of malocclusion was performed after the electromyography signs normalization, reducing the frequency, severity of clicks in the TMJ and the absence of subjective complaints of discomfort or pain. **Results and discussion.** After the improvement of anatomical and functional relationships, planned orthodontic treatment was carried out, during which no disorders of the temporomandibular joints were revealed. The inclusion of relaxation splint for malocclusion and masticatory muscles hypertonicity, combined with the reduction of the joint disc displacement of the temporomandibular joint in the complex therapy is aimed at preventing the development of secondary osteoarthritis and blockage of the articular disc of the TMJ.

Key words: temporomandibular joint, disk displacement with reduction, hypertonicity of the masticatory muscles, relaxation splint therapy.

***Brega I.N.** – candidate of medical science, associate professor, dean of the dentistry faculty, head of dental surgery, dental implantation and maxillofacial surgery department, e-mail: irina_brega@mail.ru*

***Zheleznyy P.A.** – doctor of medical science, professor, head of pediatric stomatology department, e-mail: sdv.ngmu@mail.ru*

***Adonyeva A.V.** – candidate of medical science, associate professor of dental surgery, dental implantation and maxillofacial surgery department, e-mail: ado-angel@yandex.ru*

***Shchelnikov K.S.** – candidate of medical science, associate professor of pediatric stomatology department, e-mail: mecnia@gmail.com*

***Piven E.D.** – student, e-mail: elina_piven@mail.ru*

ПУЛЬМОНОТОКСИЧНОСТЬ ПРОДУКТОВ ГОРЕНИЯ СИНТЕТИЧЕСКИХ ПОЛИМЕРОВ

Дмитрий Вячеславович ТРИШКИН¹, Сергей Викторович ЧЕПУР²,
Павел Геннадьевич ТОЛКАЧ³, Вадим Александрович БАШАРИН³,
Олег Владимирович ЧУБАРЬ², Александр Сергеевич ГОГОЛЕВСКИЙ²,
Михаил Александрович ТЮНИН², Евгений Геннадьевич КРУЧИНИН²,
Роман Олегович ВАСИЛЬЕВ², Евгений Александрович ТАРАСОВ²

¹ *Главное военно-медицинское управление Минобороны России
119160, г. Москва, ул. Знаменка, 14*

² *Государственный научно-исследовательский испытательный институт
военной медицины Минобороны России
195043, г. Санкт-Петербург, ул. Лесопарковая, 4*

³ *Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова Минобороны России
191044, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, 6*

Пulьмонотоксиканты – вещества, вызывающие при различных путях поступления в организм структурно-функциональные нарушения дыхательной системы. Основным источником поступления pulьмонотоксикантов в окружающую среду является термическое разложение синтетических полимерных материалов, в первую очередь на пожарах. В статье проанализирована возможность образования pulьмонотоксикантов при горении синтетических полимеров разного состава с учетом условий горения (температуры, времени, достаточности кислорода). Помимо общедовитых веществ – оксида углерода и цианидов, большую опасность на пожарах представляют продукты термодеструкции галоген- и азотсодержащих веществ вследствие их высокой pulьмонотоксичности. Опасность поражения легких рассмотрена с учетом продолжительности воздействия токсиканта. Приведена классификация pulьмонотоксикантов по степени их опасности в зависимости от концентрации вещества в воздухе. Показаны основные механизмы действия pulьмонотоксикантов, образующихся при пиролизе различных полимерных синтетических материалов. Описаны клинические проявления интоксикации данными веществами при их воздействии в различных токсодозах. В зависимости от продолжительности токсического воздействия спектр рисков поражения меняется, что определяет изменение подходов к терапии от возможного этиотропного воздействия до патогенетической терапии токсического отека легких.

Ключевые слова: pulьмонотоксиканты, горение, фосген, хлор, токсический отек легких.

Pulьмонотоксиканты – вещества, вызывающие при различных путях поступления структурно-функциональные нарушения органов дыхания, которые определяют клинические проявления интоксикации и ее исход [5]. Наиболее часто токсичность этих соединений рассматривают применительно к их ингаляции в виде пара или аэрозоля, причем к истинным pulьмоноток-

сикантам (удушающим веществам) относят соединения, реализующие свое повреждающее действие в виде отека легких с минимальным раздражающим эффектом [1, 31]. В силу либо высокой токсичности, либо масштабности использования в хозяйственной деятельности наибольшую опасность представляют галогены (хлор, фтор), ангидриды кислот (оксиды азота, оксиды серы),

Тришкин Д.В. – к.м.н., начальник управления

Чепур С.В. – д.м.н., начальник института, e-mail: gniiivm_2@mil.ru

Толкач П.Г. – к.м.н., преподаватель кафедры военной токсикологии и медицинской защиты

Башарин В.А. – д.м.н., начальник кафедры военной токсикологии и медицинской защиты

Чубарь О.В. – д.м.н., заместитель начальника института

Гоголевский А.С. – д.м.н., начальник центра

Тюнин М.А. – к.м.н., начальник отдела

Кручинин Е.Г. – заместитель начальника отдела

Васильев Р.О. – к.б.н., старший научный сотрудник

Тарасов Е.А. – младший научный сотрудник

аммиак, галогенпроизводные угольной кислоты (фосген, дифосген, трифосген), изоцианаты (метилизоцианат) и др. Вещества раздражающего действия проявляют свойства пульмонотоксикантов в более высоких концентрациях. В последнее время благодаря развитию биотехнологии и методов очистки природных полимеров обращают внимание на пульмонотоксичность липополисахаридов грамотрицательных бактерий [13], а общность механизмов формирования токсического отека легких позволяет рассматривать его как проявление острейшего воспалительного процесса. Еще одним источником поступления пульмонотоксикантов в окружающую среду является термическое разложение различных материалов при пожаре. Таким образом, цель данной работы заключается в анализе спектра веществ пульмонотоксического действия, образующихся при горении полимерных материалов, описании клиники интоксикации и современных подходов к терапии отравлений данными соединениями.

Поступление пульмонотоксикантов в окружающую среду наиболее часто происходит при пожарах в результате горения различных синтетических полимерных материалов. Все полимерные материалы можно условно отнести к группе твердых горючих, температура плавления или разложения которых превышает 50 °С. Горючие полимерные материалы по токсичности продуктов горения подразделяют на четыре группы от малоопасных до чрезвычайно опасных [15]. По термолизу при нагревании твердые горючие материалы подразделяют на безгазовые (практически не переходящие в газообразное состояние) и газифицирующиеся [7]. Большинство полимерных материалов относят ко второй группе, а их потенциальную опасность связывают с выделением при термической деструкции низкомолекулярных химических соединений, не входящих в структуру полимерной матрицы [9].

Спектр химических соединений, образующихся в результате горения твердых горючих материалов, не всегда определен, тем не менее можно выделить следующие группы токсичных веществ: общеядовитого (оксид углерода, цианиды, эпихлоргидрин) [2], пульмонотоксического (хлороводород, фосген, фтороводород) [11, 20, 35], цитотоксического (полихлорированные дибензо-п-оксины и дибензофураны) [24] и раздражающего (акролеин, формальдегид, ацетальдегид) [21, 30] действия. Согласно данным литературы, гибель примерно 70–85 % человек от числа жертв пожаров обусловлена поражающим воздействием выделяемых продуктов горения, особенно таких, как оксиды углерода и азота, хлористый и цианистый водород [6].

Выход пульмонотоксикантов при горении зависит от состава материала, подвергнутого термической деструкции, содержания кислорода в очаге и, в большей степени, от температуры горения [11, 24, 27]. Наиболее токсичные пульмонотоксиканты образуются при термодеструкции полимерных материалов, содержащих в своем составе галогены (поливинилхлорид (ПВХ), полихлорпирен, тефлон и др.).

При термическом разложении ПВХ при температурах менее 350 °С происходит дегидрохлорирование с высвобождением в окружающую среду большого количества хлороводорода, тогда как при более высоких температурах в летучих продуктах горения ПВХ обнаруживают значительное количество бензола и других ароматических углеводородов. Присутствие кислорода ускоряет процесс термической деструкции ПВХ. В ходе свободнорадикальных реакций [16] при термическом разложении ПВХ происходит интенсивное взаимодействие хлора и углеводородов, образующихся при разложении полимеров, что при наличии кислорода приводит к образованию высокотоксичных продуктов, в частности дихлорангидрида угольной кислоты [11]. Другим примером служит горение пенополистирола самозатухающего (ППС-С). При горении ППС не образуется галогенорганических соединений, а источниками образования токсичных компонентов служат добавляемые в него хлор- и фторсодержащие антипирены [3]. В эксперименте показано, что при горении ППС-С образуются хлористый водород, хлорметан, хлорэтан, фосген и др. Установлено, что при сгорании 30 г ППС-С (при температуре 300 °С) на воздухе образуется около 291,6 мг/м³ фосгена [8]. LC₅₀ (полулетальная концентрация) фосгена при экспозиции 1 мин составляет 3,2 г/м³ [5]. Простой расчет показывает, что при сгорании 3,27 кг ППС-С в помещении объемом 20 м³ образуется 32 г фосгена, что соответствует его среднелетальной концентрации при экспозиции 2 мин.

Еще одним источником образования такого высокотоксичного вещества, как фосген, является горение органопластика. При термическом разложении органопластика в интервале температур 295–450 °С происходит выделение фосгена с превышением его ПДК в воздухе в 3 раза. При увеличении температуры горения до 800 °С выход фосгена снижается, что может быть связано с его термическим разложением [4].

Помимо хлорсодержащих полимеров широкое применение в деятельности человека находят фторсодержащие материалы. Применение фторированных полимеров обусловлено их более высокой термостабильностью по сравнению с соот-

ветствующими им углеводородными аналогами. Примером фторсодержащих полимеров служит политетрафторэтилен (тефлон). При температуре горения, превышающей 380 °С, тефлон разрушается до высокотоксичного перфторизобутилена и фтористого водорода [35].

При термической деструкции полистирола при температуре менее 500 °С образуется в основном мономер – стирол. При увеличении температуры (более 800 °С) происходит разложение продуктов деструкции на более мелкие молекулы (бензол, ацетилен, этилен, толуол, этилбензол, СО и др.) [14]. Напротив, при горении полиэтилена образуется лишь 1 % мономера, так как процесс его распада носит хаотический характер. Установлено, что при низких температурах термической деструкции полиэтилена образуются тяжелые продукты с эмпирической формулой, близкой к $(\text{CH}_2)_n$, при более высоких температурах образуется значительная доля газообразных продуктов (формальдегид, ацетальдегид, оксид углерода и др.) [21].

Следует учитывать, что токсичные компоненты дымов пожаров формируют сложные, иногда и антагонистические, эффекты при воздействии на организм [10]. Бесспорно, токсическое воздействие продуктов горения сопряжено с комплексным эффектом динамично изменяющейся в зависимости от концентрации кислорода смеси токсикантов, ингаляционная аппликация которых определяет самостоятельную значимость исхода поражения на протяжении весьма ограниченного промежутка времени. С учетом быстрого окисления цианидов и угарного газа, а также вероятности создания эффективных токсических концентраций этих веществ только в закрытых помещениях удушающие агенты остаются сравнительно более устойчивыми высокотоксичными веществами, способными определить клинические проявления поражения. Однако отравление ими в незамкнутых пространствах возможно при достижении достаточно большой концентрации, а соответственно, их достаточно интенсивной продукции при термоллизе материалов. В силу этого для полного анализа механизмов поражения принципиально важно понимание хроноконцентрационных зависимостей действия токсикантов [12].

Фосген относят к классическим хроноконцентрационным ядам. В эксперименте показано, что $\text{LCt}_{50/24 \text{ ч}}$ составляет 226 ppm×мин, а $\text{LCt}_{50/48 \text{ ч}}$ – 215 ppm×мин, т.е. при атмосфере с концентрацией фосгена 8 ppm смертельный исход с 50 % вероятностью будет прослежен в течение 24 ч после воздействия в течение 28,2 мин, 48 ч – в течение 26,9 мин, т.е. абсолютно смертельная доза при та-

кой концентрации будет достигнута через 34 мин [26]. Таким образом, у пострадавших, которые подверглись воздействию газообразных продуктов горения подобных материалов, спустя 4–5 ч [5] после нормализации состояния могут развиваться клинические проявления интоксикации, проявляющиеся в виде токсического отека легких.

Пульмотоксиканты, попадая в организм ингаляционным путем, приводят к поражению всех отделов дыхательных путей, его локализация и интенсивность определяются температурой ингалируемой смеси и степенью водорастворимости газа [18]. Гидрофильные газы хорошо растворяются в жидких средах слизистых оболочек верхних дыхательных путей, что приводит к их раздражению и ожогу, некрозу эпителия и обтурации бронхиол [32].

Хлороводород, попадая в дыхательные пути, взаимодействует с водой слизистых оболочек и превращается в соляную и хлорноватистую кислоты, что приводит к резкому изменению pH среды и денатурации макромолекул [32]. Хлорноватистая кислота образует в цитозоле клеток хлорамины, имеющие достаточно высокую биологическую активность, может взаимодействовать с ненасыщенными связями фрагментов жирных кислот фосфолипидов и, образуя гипогалоиды, блокировать сульфгидрильные группы олигопептидов и белков, активировать процессы образования свободных радикалов. Данные патогенетические механизмы приводят к ожогу дыхательных путей и поражению альвеолярно-капиллярной мембраны [19]. При увеличении концентрации хлороводорода во вдыхаемом воздухе более 50 ppm развивается картина токсического отека легких [33]. Аналогичным механизмом действия обладает фтороводород. Его водный раствор, плавиковая (фтороводородная) кислота, оказывает выраженное прижигающее действие на слизистые оболочки дыхательных путей, что также может приводить к развитию токсического отека легких [35].

Липофильные газы проникают вглубь дыхательных путей, вплоть до альвеол, и воздействуют на альвеолярно-капиллярную мембрану, что приводит к развитию острого повреждения легких [18, 29].

Степень опасности пульмотоксикантов определяют в зависимости от значения мгновенно-опасной концентрации вещества (immediately dangerous to life or health, IDLH). IDLH – это величина, которая показывает, при какой концентрации кратковременное воздействие вредного вещества на человека, не использующего средств защиты органов дыхания, может привести к смерти или к необратимому ухудшению здо-

ровья (сразу или с задержкой по времени) [17]. По значению IDLN наиболее токсичные пульмонотоксиканты можно расположить в следующей последовательности: фосген (2 ppm/8,1 мг/м³), метилизоцианат (3 ppm/7,02 мг/м³), хлор (10 ppm/29 мг/м³), формальдегид (20 ppm/24,6 мг/м³), диоксид азота (20 ppm/37,6 мг/м³), фтороводород (30 ppm/24,6 мг/м³), хлороводород (50 ppm/74,5 мг/м³), диоксид серы (100 ppm/262 мг/м³), аммиак (300 ppm/210 мг/м³).

В таблице систематизированы данные Национального института охраны труда США (National Institute for Occupational Safety and Health, NIOSH) о концентрациях пульмонотоксикантов, вызывающих различные формы токсического процесса [28]. Концентрации пульмонотоксикантов, провоцирующих раздражение слизистых оболочек

глаз в виде конъюнктивита, нарушение носового дыхания в виде отека слизистых оболочек верхних дыхательных путей, были определены в экспериментах на добровольцах. Указанная в таблице пороговая концентрация (threshold limit value, TLV) – это максимальная концентрация вещества в воздухе, которая не оказывает побочных эффектов на здоровье при повторном ежедневном воздействии. Концентрации пульмонотоксикантов, приводящие к развитию токсического отека легких, минимальные концентрации, вызывающие летальный исход (LC₁₀), а также значения LCt₅₀ для человека рассчитаны в результате обследования пострадавших, подвергшихся интоксикации данными веществами, и экстраполяции экспериментальных данных, полученных на животных (таблица).

Таблица

Проявления интоксикации веществами пульмонотоксического действия, возникающие в зависимости от концентрации и экспозиции токсиканта

Характеристика	Пульмонотоксикант								
	Фосген	Метилизоцианат	Хлор	Формальдегид	Диоксид азота	Фтороводород	Хлороводород	Диоксид серы	Аммиак
Коэффициент конвертации (ppm – мг/м ³)	4,05	2,34	2,9	1,23	1,88	0,82	1,49	2,62	0,7
IDLN, ppm	2	3	10	20	20	30	50	100	300
Пороговая концентрация (TLV), ppm	0,1	0,02	1	0,3	3	3	5	2	25
Минимальный запах, ppm	0,12	–	0,314	–	0,11	0,1	–	3	0,04
Выраженный запах, ppm	5,7	2,1	3,5	1	10	0,5–3	10	5	53
Раздражение слизистых оболочек глаз, ppm	3	2*	1–10	0,2–6*	10–20	3,5	30	5	20–50
Умеренное раздражение слизистых оболочек носа, ppm	–	5–10*	5–10	80	10–20	30	35	12	30
Выраженное раздражение слизистых оболочек верхних дыхательных путей, ppm	4,8	10–20*	5–15	180	50–100	120*	50–100	150–160*	350–720*
Боль в грудной клетке при глубоком вдохе, ppm	10	>20	30–60	–	500–1200*	240*	–	–	300
Признаки токсического отека легких, ppm	50	40–60	1200–2400*	1000	2500*	–	>6000*	–	1700
LC ₁₀ , ppm	250–510*	–	2550–2750*	–	–	–	1300 [#]	330–500 [#]	–
LCt ₅₀ (человек), ppm	500*	2200–2500*	1200–6000*	–	–	1500*	500–1300 [#]	–	850–2100 [#]
LCt ₅₀ (крыса), ppm	725–820*	1200–2700*	650–800 [#]	330–1850 [#]	70–320 [#]	40–2500 [#]	3600–8600 [#]	330–500 [#]	2150–6000 ^{&}

Примечание. * – показатели при воздействии в течение 1 мин, [#] – показатели при воздействии в течение 30 мин, [&] – показатели при воздействии в течение 60 мин.

Из таблицы видно, что наиболее опасным пульмотоксикантом (по значению IDLH) остается фосген, вследствие чего именно его образование следует учитывать при анализе токсичности продуктов горения синтетических полимеров. Известно, что дихлорангидрид угольной кислоты обладает запахом прелого сена [5], причем отчетливое ощущение этого запаха свидетельствует о воздействии фосгена в смертельных концентрациях (более 5 ppm). Нахождение такого пострадавшего без средств индивидуальной защиты органов дыхания в течение 10–15 мин в атмосфере, содержащей дихлорангидрид угольной кислоты в вышеуказанных концентрациях, может привести к развитию токсического отека легких и летального исхода [25].

Токсический отек легких остается наиболее грозным проявлением интоксикации пульмотоксикантами. Современные методы лечения данного патологического состояния требуют своевременного проведения искусственной вентиляции легких, часто с поддержкой давлением и гипероксигенацией, при необходимости с интубацией дыхательных путей. Фармакологически обеспечивают адекватную проницаемость альвеолярного барьера с параллельным уменьшением давления в малом кругу кровообращения посредством инотропной поддержки миокарда, введения нитратов и мочегонных средств, ингибиторов фосфодиэстеразы и антагонистов эндотелина [34]. Следует отметить, что в латентном периоде допустимо применение ингаляционных средств для профилактики нарушения проницаемости альвеолярного барьера и введение сурфактанта, тогда как при появлении альвеолярного выпота эти мероприятия не эффективны. Экспериментально при отравлении фосгеном подтверждена низкая эффективность кортикостероидов [22, 23], по-видимому, вследствие фармакодинамически более медленной реализации их эффектов на мишени воздействия фосгена. Признано, что терапевтическое воздействие при отравлении фосгеном имеет границы эффективности на уровне LC_{50-70} [20], что с учетом проведенного анализа данных о рисках воздействия определяет необходимость совершенствования средств медицинской защиты.

Современный мир немыслим без широкомасштабного применения полимерных материалов. С учетом высокой частоты чрезвычайных ситуаций, сопровождающихся пожарами, сохраняется риск воздействия продуктов пиролиза полимерных материалов на пострадавших. Изучение спектра образующихся веществ, особенностей их токсикокинетики и токсикодинамики, клини- ки интоксикации, создание экспериментальных

моделей интоксикации на лабораторных животных являются необходимым условием для поиска эффективных средств терапии отравлений веществами пульмотоксического действия.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Арнс А.Т. Фармакология отравляющих веществ удушающего действия // Центр. науч. вестн. 2017. 2. (22). 5–7.
2. Барин В.А., Алексанин С.С., Радионов И.А., Шантырь И.И. и др. Ацизол в комплексе мер защиты от токсичных продуктов горения и лечения пострадавших // Мед.-биол. и соц.-психол. пробл. безопасности в чрезв. ситуациях. 2011. (1). 14–19.
3. Баталин Б.С., Карманов В.В., Кетов А.А. Пожарная опасность пенополистирола самозатухающего // Строит. материалы. 2012. (8). 69–71.
4. Батракова Г.М., Коротаев В.Н. Исследование процесса термического разложения материалов конструкционного назначения с целью определения параметров экологического контроля при их ликвидации // Ползунов. вестн. 2007. (4). 112–117.
5. Башарин В.А., Ченур С.В., Маркизова Н.Ф. Военная токсикология. СПб., 2016. 140 с.
6. Березовский А.И., Маладыка И.Г., Попов Ю.В., Саенко Н.В. Сравнительный анализ состава продуктов горения и их токсичности эпоксидных и эпоксиуретановых полимерных вибропоглощающих огнезащитных составов // Пожарная безопасность. 2012. (20). 27–31.
7. Бобков С.А., Бабуринов А.В., Комраков П.В. Физико-химические основы развития и тушения пожаров. М.: Академия ГПС МЧС России, 2014. 210 с.
8. Жуков Д.Д., Красновских М.П. Термическое разложение пенополистирола самозатухающего // Соврем. наукоемк. технологии. 2014. (4). 101–107.
9. Иличкин В.С. Токсичность продуктов горения полимерных материалов. Принципы и методы определения. СПб.: Химия, 1993. 136 с.
10. Опасные факторы пожаров ОПФ. Токсичность продуктов горения. URL: www.fireevacuation.ru/ofp-descr.php (дата обращения: 14.04.2018).
11. Солдатенко Н.А., Карманов В.В., Вайсман Я.И., Самутин Н.М. Обеспечение безопасности при термической утилизации медицинских отходов, содержащих поливинилхлорид // Гигиена и санитария. 2013. (1). 42–46.
12. Стеценко А.В. Оценка обстановки в чрезвычайных ситуациях при авариях на железнодорожном транспорте подвижного состава, транспортирующего фосген. Деп. ВНИИТИ № 1057-В2002 от 07.06.2002. 18 с.
13. Тюнин М.А., Гоголевский А.С., Ченур С.В., Юдин М.А., Пугач В.А., Селиванов Д.В. Современные подходы к ранней диагностике острого респираторного дистресс-синдрома взрослых различной этиологии // 3-й Азиатско-Тихоокеанский конгресс

- по военной медицине: мат., СПб., 8–12 августа 2016 г. СПб., 2016. 160–161.
14. ТУ 2214-126-05766801-2003. Полистирол. Технические условия. Нижнекамск, 2003. 38 с.
15. Федеральный закон от 22.07.2008 № 123-ФЗ «Технический регламент о требованиях пожарной безопасности».
16. Щеглов П.П. Теория горения и взрыва (часть 1): конспект лекций. М.: МИИТ, 2008. 83 с.
17. Bollinger N. Respirator selection logic. Cincinnati: NIOSH, 2004. 32 p.
18. Chen T.-M.B., Malli H., Maslove D.M., Wang H., Kuschner W.G. Toxic inhalation exposure // J. Int. Care. Med. 2013. 28. (6). 323–333.
19. De Lange D.W., Meulenbelt J. Do corticosteroids have a role in preventing or reducing acute toxic lung injury caused by inhalation of chemical agents // Clin. Toxicol. 2011. 49. 61–71.
20. Holmes W.W., Keyser B.M., Paradiso D.S. Conceptual approaches for treatment of phosgene inhalation induced lung injury // Toxicol. Lett. 2016. 244. 8–20.
21. Kitahara Y., Takahashi S., Fujii T. Thermal analysis of polyethylene glycol: Evolved gas analysis with ion attachment mass spectrometry // Chemosphere. 2012. 88. (5). 663–669.
22. Liu F., Pauluhn J., Trübel H., Wang C. Single high-dose dexamethasone and sodium salicylate failed to attenuate phosgene-induced acute lung injury in rats // Toxicology. 2014. 315. 17–23.
23. Luo S., Pauluhn J., Trübel H., Wang C. Corticosteroids found ineffective for phosgene-induced acute lung injury in rats // Toxicol. Lett. 2014. 229. (1). 85–92.
24. Ohta M., Oshima S., Osawa N., Iwasa T., Nakamura T. Formation of PCDDs and PCDFs during the combustion of polyvinylidene chloride and other polymers in the presence of HCl // Chemosphere. 2004. 54. 1521–1531.
25. Pauluhn J., Carson A., Costa D.L., Gordon T., Kodavanti U., Last J.A., Matthay M.A., Pinkerton K.E., Sciuto A.M. Workshop summary: phosgene-induced pulmonary toxicity revisited: appraisal of early and late markers of pulmonary injury from animal models with emphases on human significance // Inhal. Toxicol. 2007. 19. 789–810.
26. Plahovinsak J.L., Perry M.R., Knostman K.A., Segal R., Babin M.C. Characterization of a nose-only inhaled phosgene acute lung injury mouse model // Inhal. Toxicol. 2015. 27. (14). 832–840.
27. Rafaelfont I., Conesa J. Chlorinated and nonchlorinated compounds from the pyrolysis and combustion of polychloroprene // Environ. Sci. Technol. 2010. 44. 4169–4175.
28. Substances, elements, chemical agents. The National Institute for Occupational Safety and Health. URL: <http://cdc.gov/niosh/> (дата обращения: 15.05.2017).
29. Tanizaki S. Assessing inhalation injury in the emergency room // Open Access Emerg. Med. 2015. 7. 31–37.
30. Wang W., Chang J., Cai L., Shi S.Q. Quality improvement of pyrolysis oil from waste rubber by adding sawdust // Waste Manag. 2014. 34. (12). 2603–2610.
31. Wang P., Ye X.L., Liu R., Chen H., Liang X., Li W.I., Qin X., Bai Hu., Zhang Y., Wang X., Hai C. Mechanism of acute lung injury due to phosgene exposition and its protection by caffeic acid phenethyl ester in the rat // Exp. Toxicol. Pathol. 2013. 65. (3). 311–318.
32. White C.V., Martin J.G. Chlorine gas inhalation: human clinical evidence of toxicity an experience in animal models // Proc. Am. Thorac. Soc. 2010. 7. (4). 257–263.
33. Winder C. The toxicology of chlorine // Environ. Res. 2001. 85. (2). 105–114.
34. Wealey W.H., Keyser B.M., Paradiso D.C., Ray R., Anders D.K. et al. Conceptual approaches for treatment of phosgene inhalation induced lung injury // Toxicol. Lett. 2016. 244. 8–20.
35. Zhang Y.L., Fan L., Xi R., Mao Z., Shi D., Ding D., Zhang Z.X. Lethal concentration of perfluoroisobutylene induced acute lung injury in mice mediated via cytokines storm, oxidative stress and apoptosis // Inhal. Toxicol. 2017. 29. (6). 255–265.

PULMONOTOXICITY OF SYNTHETIC POLYMERS COMBUSTION PRODUCTS

**Dmitriy Vyacheslavovich TRISHKIN¹, Sergey Viktorovich CHEPUR²,
Pavel Gennad'evich TOLKACH³, Vadim Aleksandrovich BASHARIN³,
Oleg Vladimirovich CHUBAR², Aleksandr Sergeevich GOGOLEVSKIY²,
Mikhail Aleksandrovich TYUNIN², Evgeniy Gennad'evich KRUCHININ²,
Roman Olegovich VASILEV², Evgeniy Aleksandrovich TARASOV²**

¹ *Main Military Medical Department of Minoborony of Russia
119160, Moscow, Znamenka str., 14*

² *State Research Test Institute of Military Medicine of Minoborony of Russia
195043, Saint Petersburg, Lesoparkovaya str., 4*

³ *Kirov Military Medical Academy of Minoborony of Russia
194044, St. Petersburg, Academician Lebedev str., 6*

Pulmonotoxics are the substances causing structural and functional disorders of respiratory system. The main sources of pulmonotoxics in the environment are thermal decomposition of synthetic polymeric materials in fires. The possibility of formation of pulmonotoxics during the combustion of synthetic polymers of different composition with regard to the conditions of combustion (temperature, time, sufficient oxygen) was analyzed. The risk of lung damage has been considered taking into account the duration of exposure to the toxicant. In addition to general toxic carbon monoxide and cyanide, the products of thermal destruction of halogen-containing and nitrogen-containing substances pose a great danger in case of fire due to their high pulmonotoxicity. The lung damage risk is considered with account for toxicants exposure duration. The pulmonotoxics classification has been proposed according to their hazard in relation to their concentration in the air. Main mechanisms of effect of pulmonotoxics formed during the pyrolysis of various polymeric synthetic materials have been proposed. The description of clinical manifestations as the result of intoxication with these materials under various toxodoses effect has been shown. The hazardous risk spectrum has changed depending on the toxic exposure duration that determines the variance of treatment approaches: from possible etiotropic treatment to pathogenetic therapy of toxic pulmonary edema.

Key words: pulmonological, combustion, phosgene, chlorine, toxically pulmonary edema.

Trishkin D.V. – candidate of medical sciences, head of main military medical department

Chepur S.V. – doctor of medical sciences, director, e-mail: gniiivm_2@mil.ru

Tolkach P.G. – candidate of medical sciences, lecturer of the department of military toxicology and medical protection

Basharin V.A. – doctor of medical sciences, head of department of military toxicology and medical protection

Chubar O.V. – doctor of medical sciences, vice

Gogolevskiy A.S. – doctor of medical sciences, head of the center

Tyunin M.A. – candidate of medical sciences, head of department

Kruchinin E.G. – deputy head of the department

Vasilev R.O. – candidate of biological sciences, senior researcher

Tarasov E.A. – junior researcher

ФОРМИРОВАНИЕ СТЕРЕОТИПОВ ПИЩЕВОГО ПОВЕДЕНИЯ У ДЕТЕЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ВОЗРАСТА

Наталья Васильевна ТАПЕШКИНА¹, Александр Яковлевич ПЕРЕВАЛОВ²,
Лилия Владимировна ПОПКОВА³

¹ Новокузнецкий государственный институт усовершенствования врачей –
филиал Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования
Минздрава России
654005, г. Новокузнецк, просп. Строителей, 5

² Пермский государственный медицинский университет им. академика Е.А. Вагнера
Минздрава России
614990, г. Пермь, ул. Петропавловская, 26

³ Кемеровский государственный медицинский университет Минздрава России
650029, г. Кемерово, ул. Ворошилова, 22а

Цель исследования – с помощью факторного анализа изучить формирование нарушений в пищевом поведении детей и подростков вследствие нерациональной структуры потребления пищевых продуктов. **Материал и методы.** Проведен опрос 1058 детей, проживающих в городе Междуреченске Кемеровской области, с помощью анкет с опросником частоты потребления основных групп продуктов питания. В анкетах частота потребления групп продуктов имела 5 градаций и соответствующий условный балл. Для выделения латентных факторов, обуславливающих частоту потребления конкретных категорий продуктов питания, использовался факторный анализ – метод главных компонент. **Результаты и их обсуждение.** У детей дошкольного возраста были выделены два основных фактора, определяющих вариабельность показателей частоты потребления продуктов питания. Суммарное влияние факторов составляло 55,5 %. Частота потребления продуктов питания школьниками 7–10 лет и 11–13 лет отличалась от соответствующей частоты у детей 3–6 лет и определялась уже тремя латентными факторами, доля которых составляла 59,6 и 60,6 %. С возрастом у детей суммарное влияние факторов, влияющих на частоту потребления продуктов питания, усиливается. Ни один из стереотипов пищевого поведения нельзя считать рациональным, так как все они характеризуются частым потреблением высококалорийных продуктов питания на фоне снижения потребления биологически ценных. Недостаток потребления основных групп продуктов свидетельствует о пониженном пищевом статусе. Формирующиеся стереотипы пищевого поведения могут стать причиной дефицита поступления пищевых веществ в организм как дошкольников, так и школьников.

Ключевые слова: дошкольники, школьники, пищевое поведение, факторный анализ.

В настоящее время проблема сохранения и укрепления здоровья детей является актуальной. Из общего числа факторов, оказывающих на него негативное влияние, приоритетным остается неоптимальное питание [7]. Питание современных детей формируется из двух составляющих – домашнего и питания в условиях образовательного учреждения (детский сад, школа). Учитывая тот факт, что в последнем дети и подростки проводят большую часть времени, сам его тип с существующей организацией питания может стать интегральным риском, так как именно в образовательном учреждении дети в большей мере при-

обретают свои предпочтения в еде, формируют пищевые стереотипы, сохраняющиеся в течение последующей жизни [3, 5]. Анализ предпочтений при выборе потребляемых продуктов питания является одной из задач определения рациональности фактического питания и пищевого статуса. Для изучения данного вопроса применяются различные методы исследования [2, 8]. Представляют интерес исследования по изучению питания организованных коллективов с применением факторного анализа – совокупности методов, которые на основе объективно существующих корреляционных взаимосвязей признаков позволяют

Ташешкина Н.В. – к.м.н., доцент кафедры гигиены, эпидемиологии и здорового образа жизни,
e-mail: natasha72.03.24@mail.ru

Перевалов А.Я. – д.м.н., проф., зав. кафедрой гигиены питания и гигиены детей и подростков,
e-mail: urcn@mail.ru

Попкова Л.В. – к.м.н., доцент кафедры гигиены

выявлять латентные (скрытые) обобщающие характеристики структуры изучаемых объектов и их свойств. В данном случае выявленные латентные факторы будут представлять собой стереотипы предпочтений в выборе продуктов питания в исследуемой группе дошкольников и школьников. Преимущество применения факторного анализа в подобных случаях состоит в том, что структура взаимосвязей позволяет сконцентрировать в некоторых из новых переменных (факторах) значительно больше информации, нежели в отдельно взятой исходной количественной переменной [6].

Цель настоящего исследования – с помощью факторного анализа изучить формирование нарушений в пищевом поведении детей и подростков вследствие нерациональной структуры потребления пищевых продуктов.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование проводилось в 14 образовательных учреждениях г. Междуреченска Кемеровской области с помощью анкет с опросником частоты потребления основных групп продуктов питания. В исследовании участвовали 1058 детей, в том числе 358 дошкольников, 332 школьника в возрасте 7–10 лет, 368 школьников 11–13 лет. Дошкольники и школьники младших классов (1–4) заполняли опросники с родителями, школьники 5–8 классов самостоятельно после объяснения правил заполнения. В анкетах частота потребления групп продуктов имела 5 градаций и соответствующий условный балл: «3 раза в день» – 5 баллов, «2 раза в день» – 4 балла, «1 раз в день» – 3 балла, «через день» – 2 балла, «реже, чем через день» – 1 балл. Анкетирование проводили в соответствии с этическими стандартами локального биоэтического комитета Новокузнецкого государственного института усовершенствования врачей.

Для выделения скрытых латентных факторов (стереотипов пищевого потребления), обуславливающих частоту потребления конкретных категорий продуктов питания, использовался факторный анализ – метод главных компонент. Первоначально получена корреляционная матрица частоты потребления пищевых продуктов, на основании которой методом «каменистой осыпи» выделено от 2 до 3 факторов, построена первоначальная матрица факторных нагрузок (корреляций) на выделенные факторы частоты потребления пищевых продуктов. На следующем этапе проводилась процедура вращения полученной факторной структуры методом варимаксного нормализованного вращения с построением окончательной матрицы факторных нагрузок [1, 4].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Питание детей в условиях образовательного учреждения предопределено реализуемым меню, в домашней среде напрямую зависит от грамотности родителей в вопросах питания, а также от социально-экономических возможностей семьи. Суточные рационы современных детей содержат все рекомендуемые группы пищевых продуктов, однако они нерациональны по своей структуре, кратности включения продуктов в рацион. Дошкольники в своем выборе продуктов питания полностью зависят от родителей, других членов семьи и организации питания в детском саду. В отличие от дошкольника, у школьника, особенно у старшеклассника, всегда есть выбор – питаться тем, что предлагает школа, либо купить продукты за пределами образовательного учреждения, в супермаркете, кафе. Ведь именно там ему предоставляется возможность выбрать для перекуса то, что он любит – чипсы, сухарики, сладкие газированные напитки, различные кондитерские изделия. Однако не всегда представляется возможным узнать, чем питается школьник как за пределами образовательного учреждения, так и вне дома. Поэтому для изучения частоты потребления продуктов питания, выявления скрытых факторов риска при формировании пищевого поведения детей нами был использован факторный анализ. По значениям факторов определяли отношение школьников к каждому из факторов формирования стереотипа пищевого поведения (СПП) с последующим математически наглядным выделением частоты потребления тех или иных продуктов. Положительное значение фактора со значением от 0,5 показывало высокую факторную нагрузку частоты потребления пищевых продуктов, а отношение ребенка к данному продукту можно сформулировать как позитивное, предпочитаемое. При отрицательном значении фактора – наоборот, данные продукты в рационе присутствовали редко либо в силу неправильной организации питания дома и в школе, либо в силу вкусовых предпочтений.

У детей дошкольного возраста были выделены два основных фактора, определяющих вариативность показателей частоты потребления продуктов питания. Доля дисперсии признаков, объясненная первым фактором, была равна 30,2 %. Второй фактор включал в себя 25,3 % дисперсии. Суммарное влияние данных факторов составляло 55,5 %, доли вклада выделенных факторов примерно равны. Корреляция показателей частоты потребления пищевых продуктов и выделенных факторов обуславливает формирование

Таблица

Факторные нагрузки показателей частоты потребления пищевых продуктов на выделенные факторы у дошкольников 3–6 лет, школьников 7–10 и 11–13 лет

Продукты питания		3–6 лет		7–10 лет			11–13 лет		
		Первый СПП	Второй СПП	Первый СПП	Второй СПП	Третий СПП	Первый СПП	Второй СПП	Третий СПП
Мясо и мясопродукты		–0,77	–0,00	0,70	–0,07	0,03	–0,08	0,64	0,16
Молоко и молочные продукты		0,10	0,71	0,04	0,004	0,78	0,79	–0,06	–0,004
Масло растительное, жиры, фритюрные продукты				0,87	0,03	0,12	0,68	0,21	0,22
Овощи		0,77	–0,00	0,15	0,03	0,76	0,85	–0,09	0,02
Фрукты				0,28	0,73	–0,34	0,01	–0,06	–0,86
Соки и нектары				0,76	0,12	0,06	0,67	–0,01	0,03
Крупы				0,09	–0,58	–0,05	0,17	0,79	0,08
Макаронные изделия		–0,10	0,71				0,16	–0,02	0,83
Сладкие газированные напитки				0,04	0,77	0,12	–0,08	0,69	–0,23
Дисперсия	Общая	1,20	26,2 %	1,94	1,47	1,34	2,31	1,57	1,55
	Доля	30,2 %	25,3 %	26,2 %	18,7 %	14,6 %	27,2 %	17,7 %	15,7 %

СПП у детей дошкольного возраста (таблица). Существенные нагрузки на первый фактор оказывали переменные частоты потребления овощей, незначительные нагрузки – потребление молока и макаронных изделий и недостаточные – потребление мяса и мясопродуктов. Факторные нагрузки для первого СПП свидетельствуют о сильной прямой связи с частотой потребления овощей ($a = 0,77$); сильной обратной связи с частотой потребления мяса и мясных продуктов ($a = -0,77$). Для данного СПП характерна недостаточная частота потребления с рационами мяса и молока. Второй СПП имеет значительные нагрузки для частоты потребления молока и молочных продуктов, макаронных изделий, отмечаются сильные прямые связи по частоте потребления детьми молока ($a = 0,71$) и макаронных изделий ($a = 0,71$). Структуру питания всей исследуемой выборки следует охарактеризовать как достаточно неравномерную по потреблению биологически ценных продуктов питания, о чем свидетельствуют факторные нагрузки (рис. 1). По результатам применения факторного анализа можно выделить два приоритетных фактора, оказывающих влияние на формирование СПП в дошкольном возрасте, характеризующихся преимущественным потреблением овощей, молока, молочных продуктов и макаронных изделий при недостаточном потреблении мяса, мясопродуктов.

Частота потребления продуктов питания школьниками 7–10 лет отличалась от таковой детей возрастной группы 3–6 лет и определялась уже тремя латентными факторами, доля вклада которых составляла: фактор 1 – 26,2 %, фак-

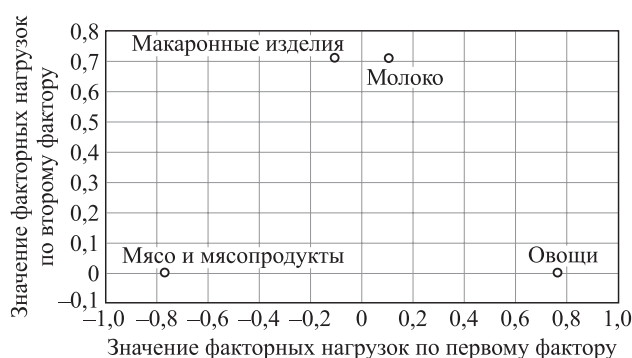


Рис. 1. Взаимоотношение показателей частоты потребления пищевых продуктов с выделенными факторами у детей 3–6 лет

тор 2 – 18,7 % и фактор 3 – 14,6 % (см. таблицу, рис. 2). Суммарное влияние данных факторов – 59,6 %. Корреляция показателей частоты потребления пищевых продуктов и выделенных факторов обуславливает формирование следующих скрытых факторов стереотипов пищевого поведения ребенка. Определяющее значение принадлежит первому СПП, так как доля объясняемой дисперсии составляет 26,2 % – максимальная среди выявленных факторов. Факторные нагрузки у младших школьников свидетельствуют о сильной прямой связи первого СПП с частотой потребления мяса и мясопродуктов ($a = 0,70$), масла растительного и жиров ($a = 0,87$), соков и нектаров ($a = 0,76$). Для первого СПП характерна низкая частота потребления овощей и фруктов ($a = 0,15$ и $a = 0,28$ соответственно). Второй СПП образован высокой частотой потребления фруктов и

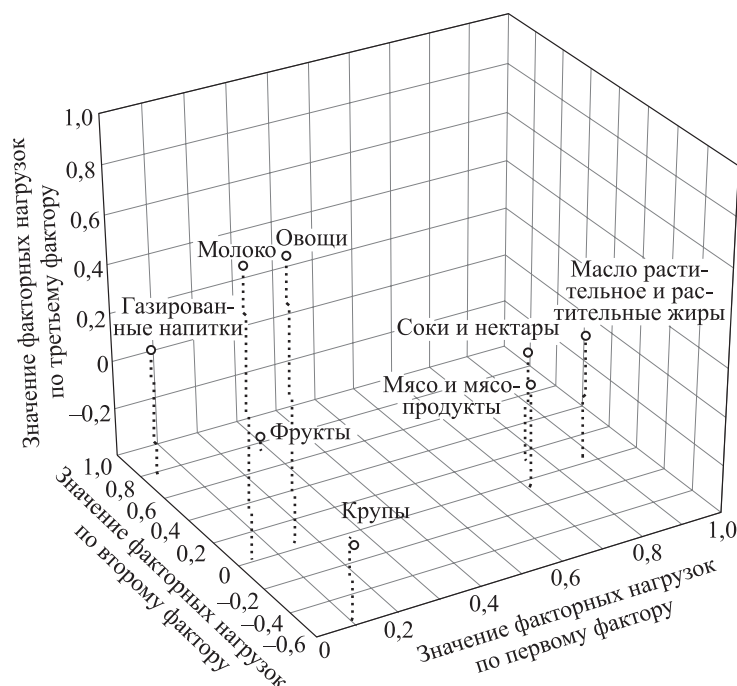


Рис. 2. Взаимоотношение показателей частоты потребления пищевых продуктов с выделенными факторами у школьников 7–10 лет

газированных напитков, где отмечаются сильные прямые связи ($a = 0,73$ и $a = 0,77$ соответственно), и низкой частотой потребления круп (высокие отрицательные факторные нагрузки, $a = -0,58$; очевидно, в рационе редко присутствуют каши, гарниры из круп). Для второго СПП характерно частое потребление высококалорийных продуктов питания (сладких газированных напитков) на фоне снижения потребления мяса ($a = -0,07$), молока ($a = 0,004$). Доля вклада в общую дисперсию составляет 18,7 %. Высоко коррелирована с третьим СПП частота потребления молока ($a = 0,78$) и овощей ($a = 0,76$); для него характерно низкое потребление фруктов ($a = -0,34$) и мяса ($a = 0,03$).

Частоту потребления продуктов питания у школьников 11–13 лет также определяли три латентных фактора, доля вклада которых составляла: фактор 1 – 27,2 %, фактор 2 – 17,7 % и фактор 3 – 15,7 %. Суммарное влияние данных факторов составляет 60,6 % (см. таблицу). Определяющее значение принадлежит первому СПП, доля дисперсии 27,2 %. Он образован частым потреблением молока ($a = 0,79$), овощей ($a = 0,85$), установлена сильная прямая связь с частотой потребления масла растительного и жиров, а также соков ($a = 0,68$ и $a = 0,67$ соответственно). Для данного СПП характерна достаточно низкая факторная нагрузка частоты потребления мяса ($a = -0,08$), круп ($a = 0,17$) и макаронных изде-

лий ($a = 0,16$). В рационе питания детей данной группы эти продукты включены были редко. Второй СПП образован сильными и средними прямыми связями по частоте потребления круп ($a = 0,79$), газированных напитков ($a = 0,69$) и мяса ($a = 0,64$). Школьники, придерживающиеся данного СПП, склонны к редкому потреблению молока ($a = -0,06$), овощей ($a = -0,09$), фруктов ($a = -0,06$), соков ($a = -0,01$), макаронных изделий ($a = -0,07$). Для третьего СПП характерно частое потребление высококалорийных продуктов питания (сильные прямые связи потребления макаронных изделий, $a = 0,83$) на фоне снижения потребления биологически ценных продуктов – мяса ($a = 0,16$), молока ($a = -0,004$) и фруктов ($a = -0,86$). Структуру питания школьников 11–13 лет можно охарактеризовать как достаточно неравномерную, о чем свидетельствует разброс факторных нагрузок по частоте потребления продуктов питания в зависимости от СПП. При этом все три СПП характеризовались недостаточным потреблением мяса в течение дня. Взаимоотношение показателей частоты потребления пищевых продуктов с выделенными тремя факторами представлено на рис. 3.

Таким образом, по результатам применения факторного анализа возможно выделение от двух до трех факторов, объясняющих 55,5–60,6 % взаимосвязей частоты потребления пищевых продуктов в исследуемой группе детей и подростков.

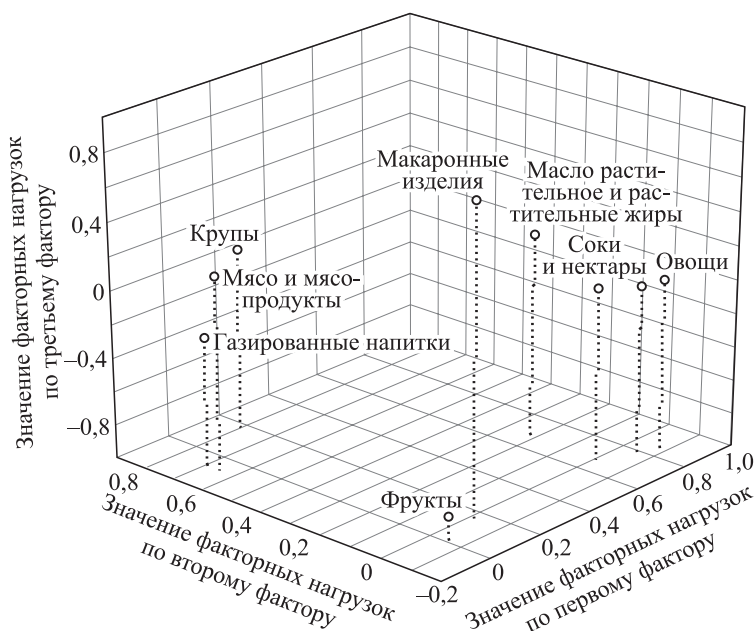


Рис. 3. Взаимоотношение показателей частоты потребления пищевых продуктов с выделенными факторами у школьников 11–13 лет

С возрастом у детей суммарное влияние факторов только усиливается, при этом ни один из СПП нельзя считать рациональным, так как все они характеризуются частым потреблением высококалорийных продуктов питания на фоне снижения потребления биологически ценных. Недостаток потребления основных групп продуктов свидетельствует о пониженном пищевом статусе. Формирующиеся СПП могут стать причиной дефицита поступления пищевых веществ в организм как дошкольников, так и школьников.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Боровиков В.П. Statistica для профессионалов. Искусство анализа данных на компьютере. СПб., 2001. 650 с.
2. Васильев А.В., Манчук В.Т., Каспаров Э.В., Прахин Е.И. Перспективные задачи оптимизации питания на основе современных методов оценки пищевого статуса и энерготрат // *Вопр. дет. диетол.* 2010. 44–46.

3. Волкова Л.Ю. Алиментарные факторы формирования костной ткани у детей и подростков. Пути профилактики возможных нарушений // *Вопр. соврем. педиатрии.* 2015. 14. (1). 124–131.
4. Леонов В.П. Факторный анализ: основные положения и ошибки применения // *Международ. журн. мед. практики.* 2005. (3). 14–16.
5. Липанова Л.Л., Насыбуллина Г.М., Короткова М.О. Роль семьи и общеобразовательных учреждений в укреплении здоровья и формировании образа жизни детей и подростков // *Бюл. Вост.-Сиб. науч. центра СО РАМН.* 2013. (3–1). 85–90.
6. Максимов С.А., Иванова О.А., Зинчук С.Ф. Применение факторного анализа при определении стереотипов пищевого поведения населения // *Гигиена и санитария.* 2013. (2). 45–48.
7. Онищенко Г.Г. Актуальные задачи гигиенической науки и практики в сохранении здоровья населения // *Гигиена и санитария.* 2015. (3). 5–10.
8. Перевалов А.Я., Лир Д.Н. Выбор метода изучения питания детей в организованных коллективах при оценке риска для здоровья // *Анал. риска здоровью.* 2014. (4). 21–26.

FORMATION OF FOOD BEHAVIOR STEREOTYPES IN CHILDREN DEPENDING ON AGE

Natalya Vasilievna TAPESHKINA¹, Aleksandr Yakovlevich PEREVALOV²,
Liliya Vladimirovna POPKOVA³

¹ Novokuznetsk State Institute for Further of Physicians –
Branch Campus of Russian Medical Academy of Continuous Professional Education of Minzdrav of Russia
654005, Novokuznetsk, Stroitelei av., 5

² Perm State Medical University n.a. E.A. Vagner of Minzdrav of Russia
614990, Perm, Petropavlovskaya str., 26

³ Kemerovo State Medical University of Minzdrav of Russia
650029, Kemerovo, Voroshilov str., 22a

The purpose of the study was to investigate the formation of disturbances in the eating behavior of children and adolescents due to the irrational structure of food consumption through the use of factor analysis. **Material and methods.** A survey of 1,058 children living in the city of Mezhdurechensk of the Kemerovo Region was conducted using enquire form with a questionnaire on the frequency of consumption of the main food groups. In the questionnaires, the frequency of consumption of food groups had 5 gradations and the corresponding conditional score. To identify the latent factors that determine the frequency of consumption of specific categories of food, factor analysis – the method of principal components was used. **Results and discussion.** In pre-school children, two main factors were identified that determine the variability in the frequency of consumption of food. The total influence of factors was 55,5 %. The frequency of food consumption by schoolchildren aged 7–10 years and 11–13 years was different from the age groups of children 3–6 years old and was determined by 3 latent factors, the share of which was 59,6 and 60,6 %. With the increase of years the total influence of factors affecting the frequency of food consumption increases. None of the stereotypes of eating behavior can be considered as rational, since all of them have been characterized by frequent consumption of high-calorie food products against the background of the decrease in biologically valuable foods consumption. The lack of consumption of the main food groups testify to reduced nutritional status. The emerging stereotypes of eating behavior can cause a shortage of intake of nutrients in the body of both preschoolers and schoolchildren.

Key words: preschoolers, schoolchildren, food behavior, factor analysis.

Tapeshkina N.V. – candidate of medical sciences, teaching assistant of the department of hygiene, epidemiology and healthy lifestyle, e-mail: natasha72.03.24@mail.ru

Perevalov A.Ya. – doctor of medical sciences, professor, head of the department of nutrition, child and teenager's hygiene, e-mail: urcn@mail.ru

Popkova L.V. – candidate of medical sciences, teaching assistant of the department of hygiene

СТРЕСС В СЕМЬЕ В ОТКРЫТОЙ ГОРОДСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ, ГЕНДЕРНЫЕ РАЗЛИЧИЯ

**Александр Михайлович АКИМОВ¹, Марина Михайловна КАЮМОВА¹,
Михаил Юрьевич АКИМОВ², Вадим Анатольевич КУЗНЕЦОВ¹**

¹ Тюменский кардиологический научный центр,
Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН, Томск, Россия
625026, г. Тюмень, ул. Мельникайте 111

² Тюменский индустриальный университет
625000, г. Тюмень, ул. Володарского, 38

Цель исследования – изучение взаимосвязей стресса среди мужчин и женщин 25–64 лет открытой популяции г. Тюмени. Кардиологический скрининг проводился на репрезентативной выборке населения (отклик 77,7 %). Из избирательных списков граждан одного из административных округов г. Тюмени была сформирована репрезентативная выборка в количестве 2000 человек, по 250 человек в каждой из восьми половозрастных групп (25–34, 35–44, 45–54, 55–64 лет). Наличие стресса в семье выявляли по анкете ВОЗ «МОНИКА-психосоциальная». Результаты исследования показали, что у мужчин молодого возраста 25–34 лет чаще, чем у женщин в той же возрастной группе, происходили изменения в семейном положении. В возрасте 55–64 лет, напротив, у женщин чаще выявлялись изменения в семейном положении, чем у мужчин. В то же время у мужчин в возрасте 25–34 лет существенно чаще, чем в более старших возрастных группах, происходили изменения в семейном положении.

Ключевые слова: стресс в семье, открытая популяция, гендерные различия.

Психологический стресс присутствует во всех сферах жизнедеятельности индивидуума, особенно в ситуациях активного социального взаимодействия. В современном обществе возрастает число семей, попавших в кризисную ситуацию, а также испытывающих длительное чрезмерное психоэмоциональное напряжение, возникающее в условиях стресса. С точки зрения психического здоровья и социальных проблем хронический социальный стресс является фактором риска развития сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ). Тем не менее гармоничное функционирование семьи невозможно без многостороннего и эффективно-го межличностного взаимодействия партнеров [1, 9]. В свою очередь стресс в семье возникает в ответ на различные факторы, сопутствующие совместному проживанию людей, которые характеризуются индивидуальной чувствительностью к стрессу [3, 8]. Исходя из вышеизложенной проблемы, стресс в семье нуждается в многосто-

ронном дифференцированном изучении, однако более подробных сведений, касающихся стресса в семье на популяционном уровне с учетом гендерной специфики, крайне мало [6].

Целью исследования явилось изучение взаимосвязей стресса в семье среди мужчин и женщин 25–64 лет открытой популяции г. Тюмени.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование проводилось в рамках кардиологического скрининга на открытой популяции лиц обоего пола трудоспособного возраста (25–64 лет) г. Тюмени. Из избирательных списков граждан одного из административных округов г. Тюмени была сформирована репрезентативная выборка в количестве 2000 человек, по 250 человек в каждой из восьми половозрастных групп (25–34, 35–44, 45–54, 55–64 лет). Отклик на кардиологический скрининг составил 77,7 %.

Акимов А.М. – к.соц.н., младший научный сотрудник лаборатории эпидемиологии и профилактики сердечно-сосудистых заболеваний, e-mail: akimov@cardio.tmn.ru

Каюмова М.М. – к.м.н., научный сотрудник лаборатории эпидемиологии и профилактики сердечно-сосудистых заболеваний, e-mail: kayimova@cardio.tmn.ru

Акимов М.Ю. – к.т.н., доцент кафедры ЭАТ, e-mail: akimov1307@mail.ru

Кузнецов В.А. – д.м.н., проф., руководитель научного отдела инструментальных методов исследования заболеваний, e-mail: kuznets@cardio.tmn.ru

Для анализа стресса в семье использовалась анкета ВОЗ «МОНИКА-психосоциальная» «Знание и отношение к своему здоровью» [6]. Вопросы анкеты сопровождалась перечнем фиксированных ответов, из которого респонденты могли выбрать тот вариант, который, по их мнению, являлся наиболее правильным.

Данные представлены в виде относительных частот объектов исследования (n , %). Для оценки различий между группами использовали критерий χ^2 . Критический уровень значимости нулевой статистической гипотезы (p) принимали равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В открытой городской популяции женщины 25–64 лет в зависимости от возраста по показателям стресса в семье не имели статистически значимых различий. На вопрос: «Изменилось ли Ваше семейное положение за последние 12 месяцев?» молодые мужчины 25–34 лет отвечали положительно (одно изменение) существенно чаще, чем женщины той же возрастной категории (таблица). У мужчин в возрасте 45–54 и 55–64 лет существенно чаще, чем у женщин в тех же возрастных группах, не происходило изменений в семейном положении в течение последнего года. Женщины старшего возраста (55–64 лет) имели больше изменений в семейном положении, чем мужчины, причем такая ситуация имела место как в частоте ответов «одно изменение», так и в частоте ответов «несколько изменений» (см. таблицу).

Статистически значимые различия в отношении стресса в семье имели место в возрастном аспекте среди мужчин открытой популяции. Так, у мужчин 25–34 лет одно изменение в семейном положении в течение последних 12 месяцев встречалось существенно чаще, чем в возрастных категориях 45–54 и 55–64 лет, а также в популя-

ции в целом. В то же время существенно реже не происходило изменений в семейном положении в течение последнего года у мужчин 25–34 лет относительно показателя в возрастных группах 45–54 и 55–64 лет (см. таблицу).

Семья служит одним из основных, а иногда и единственным источником социальной поддержки. Стресс в семье связан с высокой частотой серьезных конфликтов, болезнью или смертью близких родственников, отсутствием спокойного отдыха в домашней обстановке [4]. По некоторым данным, роль семьи наиболее существенна для женщин, тогда как для мужчин важнее поддержка со стороны коллег [1]. Согласно другим источникам, помощь со стороны супруга, независимо от пола, эффективней, чем со стороны родителей, друзей или коллег [5]. Полученные результаты согласуются с данными предыдущих исследований на тюменской популяции, которые показали, что женатые мужчины менее подвержены стрессу, чем одинокие, а женщины сильнее переживают семейные конфликты, чем мужчины [2, 5, 7]. В настоящем исследовании установлено, что у мужчин 25–34 лет чаще, чем у женщин в той же возрастной группе, происходят изменения в семейном положении. В возрасте 55–64 лет ситуация меняется, и у пожилых женщин происходит больше изменений в семейном положении в течение последнего года, чем у мужчин. В то же время у мужчин 25–34 лет существенно чаще, чем в более старших возрастных группах, наблюдаются изменения в семейном положении.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты, полученные при исследовании неорганизованного населения г. Тюмени, могут служить научной основой для планирования комплексных социально ориентированных профилактических программ и в других среднеурбанизированных сибирских городах, с приоритетной

Таблица

Стресс в семье в зависимости от возраста у мужчин и женщин

Ответ	Количество мужчин и женщин в возрастных группах							
	25–34, $n = 176/122$		35–44, $n = 228/207$		45–54, $n = 231/160$		55–64, $n = 213/214$	
	n	%	n	%	n	%	n	%
Нет изменений	128/99	72,7/81,1	192/172	84,2/83,1	199 [#] /120*	86,1/76,3	196 ^{##} /167**	91,6/78,0
Одно изменение	37/10**	21,0/8,2	24/27	10,5/13,4	17 ^{##} /18	7,4/11,3	13 ^{##} /30**	6,1/14,0
Несколько изменений	11/13	6,3/10,7	12/8	5,3/3,9	15/22	6,5/13,8	5/17*	2,3/7,9

Примечание. Данные представлены в виде «м/ж», где м – количество мужчин, ж – количество женщин; задан вопрос «Изменилось ли Ваше семейное положение за последние 12 месяцев» (женится, развелся, оставил семью, овдовел, родился ребенок, другое)?; обозначены статистически значимые отличия от величин соответствующих показателей мужчин (* – при $p < 0,01$, ** – при $p < 0,001$) и лиц возрастной группы 25–34 лет (# – при $p < 0,01$, ## – при $p < 0,01$).

ориентацией на потребности групп риска – мужчин 25–34 лет, женщин пожилого возраста (55–64 лет).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Акимов А.М. Стресс в семье и социальная поддержка в открытой мужской популяции // Ист. и соц.-образ. мысль. 2013. (6). 103–105.
2. Акимов А.М., Гакова Е.И., Акимова А.А., Кузнецов В.А. Физическая активность при наличии и отсутствии ишемической болезни сердца в открытой популяции (гендерные различия) // Сиб. науч. мед. журн. 2018. 38. (1). 77–80.
3. Акимов А.М., Гакова Е.И., Каюмова М.М., Кузнецов В.А. Стресс в семье и на рабочем месте в открытой мужской популяции // Науч. мысль. 2017. (1). 6–22.
4. Акимов А.М., Смазнов В.Ю. Отношение к своему здоровью мужчин городской открытой популяции в зависимости от возраста // Омск. науч. вестн. 2015. (4). 282–284.
5. Акимова Е.В., Акимов М.Ю., Гакова Е.И., Каюмова М.М., Гафаров В.В., Кузнецов В.А. Стресс в семье – ассоциации с распространенностью сердечно-сосудистых заболеваний у мужчин открытой городской популяции // Терапевт. арх. 2018. (1). 31–35.
6. Гафаров В.В., Панов Д.О., Громова Е.А., Гагулин И.В., Гафарова А.В. Стресс в семье и риск артериальной гипертензии, инсульта в открытой популяции среди женщин 25–64 лет в России/Сибири (эпидемиологическое исследование – программа ВОЗ «МОНИКА-психосоциальная») // Профилактикт. медицина. 2015. 18. (2–2). 26–27.
7. Силин А.Н., Волосач А.О. Регулирование общественного здоровья в Тюменской области // Акад. вестн. 2015. (2). 148–152.
8. Силин А.Н., Ковальжина Л.С. Здоровый образ жизни в тюменском регионе // Вестн. Ин-та социологии. 2017. (2). 96–107.
9. Lund R., Christensen U., Nilsson C.J., Kriegerbaum M., Hulvej Rod N. Stressful social relations and mortality: a prospective cohort study // J. Epidemiol. Community Health. 2014. 68. (8). 720–727.

STRESS IN THE FAMILY IN THE OPEN URBAN POPULATION, GENDER DIFFERENCES

Aleksandr Mikhaylovich AKIMOV, Marina Mikhaylovna KAYUMOVA,
Mikhail Yurievich AKIMOV², Vadim Anatol'yevich KUZNETSOV

¹ Tyumen Cardiology Research Center, Tomsk National Research Medical Center of RAS
625026, Tyumen, Melnikayte str., 111

² Tyumen Industrial University
625003, Tyumen, Volodarskogo, 6

Objective: to study the interrelation of stress among men and women of 25–64 years in an open population in Tyumen. Cardiac screening was carried out on a representative sample of the population (77.7 % response). A representative sample of 2000 people was formed from the electoral lists of citizens of one of the administrative districts of Tyumen. Each of the eight sex-age groups (25–34, 35–44, 45–54, 55–64 years) consisted of 250 people. The identification of stress in the family was assessed by the WHO questionnaire «MONICA-psychosocial». The results of the study showed that changes in the marital status occurred more often among young men of 25–34 years than among women of the same age group. At the age of 55–64 years the situation is changing, there are more changes in the marital status among elderly women than among men. At the same time, changes in the marital status were significantly more frequent in men aged 25–34 years than in older age groups.

Key words: stress in the family, open population, gender differences.

Akimov A.M. – candidate of social sciences, junior researcher of the laboratory of epidemiology and prevention of cardiovascular disease, e-mail: akimov@cardio.tmn.ru

Kayumova M.M. – candidate of medical sciences, researcher of the laboratory of epidemiology and prevention of cardiovascular disease, e-mail: kayimova@cardio.tmn.ru

Akimov M.Yu. – candidate of technical sciences, associate professor, e-mail: akimov1307@mail.ru

Kuznetsov V.A. – doctor of medical sciences, professor, head of the research department of instrumental methods of diseases investigation, e-mail: kuznets@cardio.tmn.ru