

Тромбоцитарные микровезикулы и их роль в обеспечении гемостатического потенциала (обзор литературы)

А.П. Момот¹, Н.О. Царигородцева², Д.В. Фёдоров², К.М. Бишевский²,
Н.В. Вострикова², Е.Е. Климова²

¹ *Национальный медицинский исследовательский центр гематологии Минздрава России, Алтайский филиал*
656045, г. Барнаул, ул. Ляпидевского, 1, корп. 2

² *Алтайский государственный медицинский университет Минздрава России*
656038, г. Барнаул, просп. Ленина, 40

Резюме

В последние годы активно изучается роль микровезикул в передаче сигналов эндокринной системы, в обеспечении межклеточного взаимодействия, в переносе белков и нуклеиновых кислот из одной клетки в другую, в регуляции ангиогенеза, в воспалительных реакциях и в метастазировании опухолей. В данной публикации рассматриваются механизмы их образования, строение и потенциальное значение в качестве биологических маркеров. В числе фундаментальных реакций, связанных с микровезикулами, выделяется их прямое участие в обеспечении гемостатических реакций, направленных на остановку кровотечения при нарушении, в силу разных причин, целостности сосудистой стенки. Важная роль в этом отводится микровезикулам тромбоцитарного происхождения, что подтверждено рядом экспериментальных и клинических исследований. В обзоре оцениваются перспективы клинического применения одного из современных компонентов крови – криопреципитата – в качестве источника тромбоцитарных микровезикул.

Ключевые слова: тромбоцитарные микровезикулы, система гемостаза, кровотечения, криопреципитат.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Автор для переписки. Момот А.П., e-mail: xyzan@yandex.ru

Для цитирования: Момот А.П., Царигородцева Н.О., Фёдоров Д.В., Бишевский К.М., Вострикова Н.В., Климова Е.Е. Тромбоцитарные микровезикулы и их роль в обеспечении гемостатического потенциала (обзор литературы). *Сибирский научный медицинский журнал*. 2020; 40 (2): 4–14. doi: 10.15372/SSMJ20200201

Platelet microvesicles and their role in providing hemostatic capacity (literature review)

A.P. Momot¹, N.O. Tsarigorodtseva², D.V. Fedorov², K.M. Bishevski²,
N.V. Vostrikova², E.E. Klimova²

¹ *Altai Branch of National Research Center for Hematology of Minzdrav of Russia*
656045, Barnaul, Lyapidevskogo str., 1, bldg. 2

² *Altai State Medical University of Minzdrav of Russia*
656038, Barnaul, Lenina av., 40

Abstract

In recent years the role of microvesicles in endocrine system transmission, in providing cellular connectivity, in transportation of proteins and nucleic acids from one cell to another, in angiogenesis regulation, in inflammatory reactions and in dissemination of tumors is actively studied. This article reviews the mechanisms of microvesicle formation, the structure of microvesicles and their potential value as biomarkers. Among all essential reactions involving microvesicles

one thing especially stands out: their direct participation in providing hemostatic reactions for bleeding control in case of a solution of continuity in blood vessels due to different reasons. Platelet microvesicles play an important role in this process, and it has been proved by several experimental and clinical studies. In this review we evaluate prospects for clinical use of one of modern blood components – cryoprecipitate – as the source of platelet microvesicles.

Key words: platelet microvesicles, hemostatic system, bleeding, cryoprecipitate.

Conflict of interests. Authors declare lack of the possible conflicts of interests.

Correspondence author: Momot A.P., e-mail: xyzan@yandex.ru

Citation: Momot A.P., Tsarigorodtseva N.O., Fedorov D.V., Bishevski K.M., Vostrikova N.V., Klimova E.E. Platelet microvesicles and their role in providing hemostatic capacity (literature review). *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal* = *Siberian Scientific Medical Journal*. 2020; 40 (2): 4–14. [In Russian]. doi: 10.15372/SSMJ20200201

Введение

В настоящее время в клинической трансфузиологии существует ряд проблем, связанных с побочными явлениями после использования гемокомпонентной терапии (эритроциты, тромбоциты, лейкоциты, плазма крови): аллоиммунизация и рефрактерность, бактериальная или вирусная контаминация, фебрильные негемолитические реакции, болезнь «трансплантат против хозяина» [13].

Препараты данной группы несмотря на широкое использование имеют определенные ограничения по сроку и условиям хранения, из-за чего нередко возникают проблемы со своевременным предоставлением их пациенту. В первую очередь это касается тромбоцитарного концентрата или взвеси тромбоцитов, полученных из донорской крови [7, 45]. Понимание данной проблемы явилось основанием для поиска новых средств гемотрансфузионной терапии, направленных на решение проблем, которые возникают в связи с необходимостью быстрой коррекции кровотечений, вызванных нарушениями свертываемости крови. В этом ключе целенаправленное внимание уделялось тромбоцитарным микровезикулам (ТМ) и возможности их использования в качестве потенциального гемостатического средства [13, 33], что остается актуальным и в настоящее время.

История изучения микровезикул. Сегодня нет единого мнения о том, кто является первооткрывателем существования микровезикул. В различных источниках можно найти по крайней мере двух предполагаемых авторов открытия существования этих субклеточных образований: P. Wolf и J.R. O'Brien [4, 5]. Английский исследователь P. Wolf в 1967 году описал феномен свертывания плазмы и сыворотки крови при отсутствии в них тромбоцитов [50]. Стоит отметить, что в своей работе данный автор использовал результаты исследований других ученых, таких

как E. Chargaff и R. West и J.R. O'Brien [29]. Так, J.R. O'Brien обнаружил коагулирующую способность сыворотки крови, не содержащей тромбоцитов, а E. Chargaff и R. West выявили наличие способности к коагуляции у лишенной тромбоцитов плазмы крови [29]. В связи с этим в некоторых литературных источниках первооткрывателем микровезикул плазмы крови называют именно J.R. O'Brien [4], однако стоит отметить, что данный автор, хоть и обнаружил в ходе экспериментов коагулирующую способность сыворотки крови, не содержащей тромбоцитов, но не смог объяснить это явление, подчеркнув, что оно не укладывается в рамки существующих теорий [44]. J.R. O'Brien опубликовал свою статью в 1955 году, результаты его работы были позднее использованы P. Wolf, который смог обобщить имевшиеся на тот момент сведения и попытаться объяснить обнаруженный феномен, а также ввел в употребление термин «тромбоцитарная пыль» (*platelet dust*). В то время в связи с малыми размерами микровезикул обнаружить их непосредственно не представлялось возможным, но впоследствии данный феномен был объяснен наличием в плазме крови ТМ и аналогичных образований из других клеток крови (эритроцитов, лейкоцитов) и эндотелия [5].

Исследования в области изучения микровезикул активизировались в последние годы в связи с усовершенствованием технических средств, позволяющих их выявлять, а также количественно и качественно оценивать [18, 24]. В настоящее время эти клеточные структуры, присутствующие в плазме крови, охарактеризованы достаточно подробно отечественными авторами [5], однако фундаментальные вопросы, связанные с их появлением и ролью в организме человека, только начинают проясняться [3, 30].

На данный момент микровезикулы, образовавшиеся в регулируемом процессе ремоделирования плазматической мембраны клетки, признаются научным сообществом в качестве

эффекторов с широким перечнем принципиально важных биологических функций [37].

Общая характеристика тромбоцитарных микровезикул. Микровезикулы – это сравнительно небольшие (от 30 до 1000 нм) частицы, высвобождающиеся с поверхности клеток в ходе их существования [5]. В литературных источниках термин «микровезикулы» используется по-разному. Ряд авторов полагает, что такие понятия как «микровезикулы» и «микрочастицы» относятся к разным внеклеточным структурам и их следует рассматривать отдельно [6]. Другие авторы объединяют все внеклеточные структуры термином «микровезикулы» или «внеклеточные везикулы» («экстрацеллюлярные везикулы»), подразделяя их на группы и выделяя среди этих групп «микрочастицы» [4]. Кроме того, многие специалисты считают термины «микрочастицы» и «микровезикулы» тождественными и взаимозаменяемыми [2, 3, 5], к чему мнению мы присоединяемся.

Микровезикулы плазмы крови отличаются известной гетерогенностью и разным происхождением. Для плазмы крови практически здорового человека характерно присутствие микровезикул, произведенных клетками крови и сосудистого русла в силу разных причин. Самыми многочисленными и коагуляционно активными являются ТМ [23] – они составляют около 70–90 % от общего числа микровезикул плазмы крови [3]. Достаточно многочисленны, даже в условиях физиологической нормы, эритроцитарные микровезикулы [5, 49], но их намного меньше, чем тромбоцитарных или лейкоцитарных. Кроме того, в норме обнаруживаются также и эндотелиальные микровезикулы, но их количество достаточно мало [5, 20].

ТМ содержат белки плазматической мембраны (Р-селектин, GPIb, $\alpha_2\beta_3$ -интегрин и др.), α -гранулы, гранулы гликогена, литические вакуоли, протеолитические ферменты, белки цитоскелета, полости открытой системы канальцев, факторы роста [3, 9]. L.H. Boudreau et al. выяснили, что ТМ содержат функционально активные митохондрии, способные обеспечивать клеточное дыхание [14]. В 2017 г. G. Marcoux et al. опубликовали работу, в которой указали, что ТМ гетерогенны с точки зрения присутствия или отсутствия митохондрий [35]. Кроме того, ТМ варьируются и по размеру [3]. По форме микровезикулы тромбоцитарного происхождения предлагается разделять на три группы: сферические, трубчатые и мембранные фрагменты, происходящие из тромбоцитов. Однако подавляющее большинство ТМ имеют сферическую форму [5]. В соответствии с данными W.L. Dean et al., по величине ТМ так-

же подразделяются на определенные классы [22]: альфа-гранулы (меньшие из микровезикул) и частицы, «отшнурованные» от плазматической мембраны тромбоцитов (сравнительно большие по размерам) [3].

Установлено, что мембраны микровезикул состоят из липидных молекул и разных количеств белка и имеют в своем составе антигенные маркеры «родительских» клеток: микроРНК, рецепторные белки, ферменты и др. [31, 36]. Наряду с этим отмечается, что фенотип микровезикул зависит от характера стимулирующих влияний, вызвавших их образование [3].

Образование ТМ. В норме для цитоплазматической мембраны характерно асимметричное расположение фосфолипидов между двумя монослоями. ТМ формируются в результате ремоделирования плазматической мембраны клетки, при этом в ходе данного процесса теряется асимметричное распределение структурных фосфолипидов в бислое мембраны. Это происходит в определенных участках плазмалеммы, называемых «липидными рафтами». Последние образования представляют собой обогащенные и более плотно структурированные микродомены мембраны по сравнению с рядом расположенными участками [1, 40].

Обычно образование микровезикул начинается вскоре после стимуляции «родительской» клетки различными факторами [4, 9, 11], приводящими к повышению внутриклеточного содержания ионов кальция, и, соответственно, является кальций-зависимым процессом. Такая стимуляция может быть обусловлена воздействием активных форм кислорода, тромбином, эндотоксином, активацией системы комплемента, медиаторами воспаления, аденозиндифосфатом, адреналином, гипоксией, стрессом, апоптозом – разнообразными процессами, связанными с жизнедеятельностью и утилизацией тромбоцитов [4, 9, 11]. Одна из молекул, регулирующих образование микровезикул, кальпаин-мю (μ -calpain), представляет собой кальций-зависимую цитозольную протеазу, расщепляющую белки цитоскелета таллин и альфа-актин.

При образовании микровезикул нарушается физиологическое асимметричное расположение липидов в мембране клетки вследствие перемещения отрицательно заряженных молекул фосфатидилсерина и фосфатидилэтаноламина в наружный слой мембраны. В обычных условиях фосфатидилсерин и фосфатидилэтаноламин находятся во внутреннем слое плазмалеммы, в то время как наружный слой содержит фосфатидилхолин и сфингомиелин. Такое соотношение и распределение липидов обеспечивается тремя

ферментами: аминоксфоллипидтрансферазой, или флиппазой (*flippase*), флоппазой (*floppase*) и скрамблазой (*scramblase*) [1, 21, 34]. Флиппаза переносит фосфатидилсерин и фосфатидилэтаноламин с внешнего слоя мембраны на цитозольный слой мембраны («внутри направляющая помпа»). Флоппаза переносит фосфатидилсерин и фосфатидилэтаноламин с внутреннего слоя мембраны на внешний («наружу направляющая помпа»). Скрамблаза производит неспецифическое бинаправленное распределение липидов в фосфолипидном бислое плазмалеммы (рис. 1). При стимуляции клетки и увеличении содержания кальция происходит активация скрамблазы и флоппазы при сопутствующем ингибировании флиппазы, что и приводит к нарушению физиологической мембранной асимметрии [3]. В результате участок мембраны тромбоцита «выпячивается» и отделяется в виде микровезикулы. Данный процесс носит название «блеbbing мембраны» (рис. 2).

Таким образом, состав мембран ТМ отличается от состава мембран тромбоцитов. Определено,

что ТМ формируются не только в циркулирующей крови, но и спонтанно образуются в период хранения тромбоцитов, обнаруживаются в концентратах тромбоцитов, свежезамороженной плазме и криопреципитате [13, 16].

Функции ТМ. В настоящее время описан ряд функций ТМ, включающих распространение характеристик материнской клетки, перенос рецепторов, органелл, матричной РНК, микроРНК и других белков в отдаленные клетки, участие в регуляции ангиогенеза и реактивных изменений сосудов, в развитии воспаления и метастазировании опухолей, в иммунных ответах и патогенезе инфекционных заболеваний, в стимулировании экспрессии адгезионных молекул, а также в регуляции коммуникативных взаимодействий клеток [3, 10, 11, 25, 27, 32].

Одной из активно изучаемых и перспективных в клиническом плане функций является способность ТМ влиять на биологические свойства клеток крови и кроветворных клеток. При со-

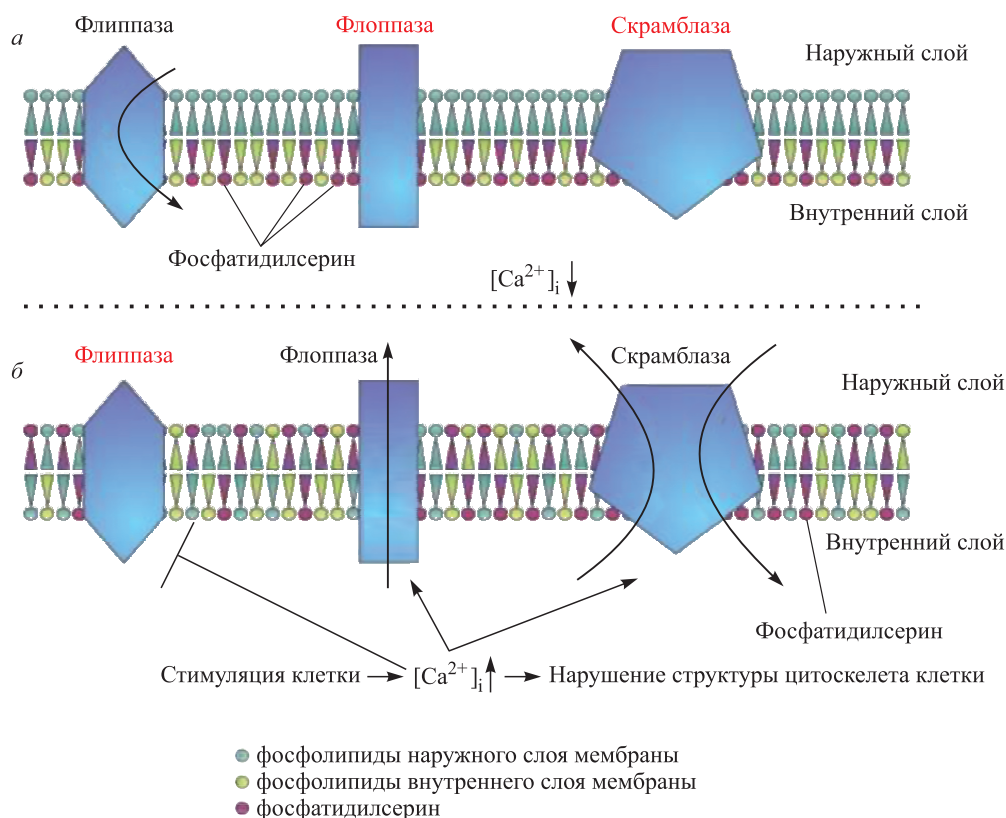


Рис. 1. Регуляция асимметричного расположения фосфолипидов в мембране клетки при помощи трехкомпонентной системы ферментов: флиппазы, флоппазы и скрамблазы [15]; а – клетка в покое, б – клетка при формировании микровезикул, $[Ca^{2+}]_i$ – ионы кальция

Fig. 1. Maintenance of the asymmetric distribution of phospholipids in the membrane by ternary enzyme system: flippase, floppase and scramblase [15]; а – resting cell, б – cell during the formation of microvesicles, $[Ca^{2+}]_i$ – calcium ions

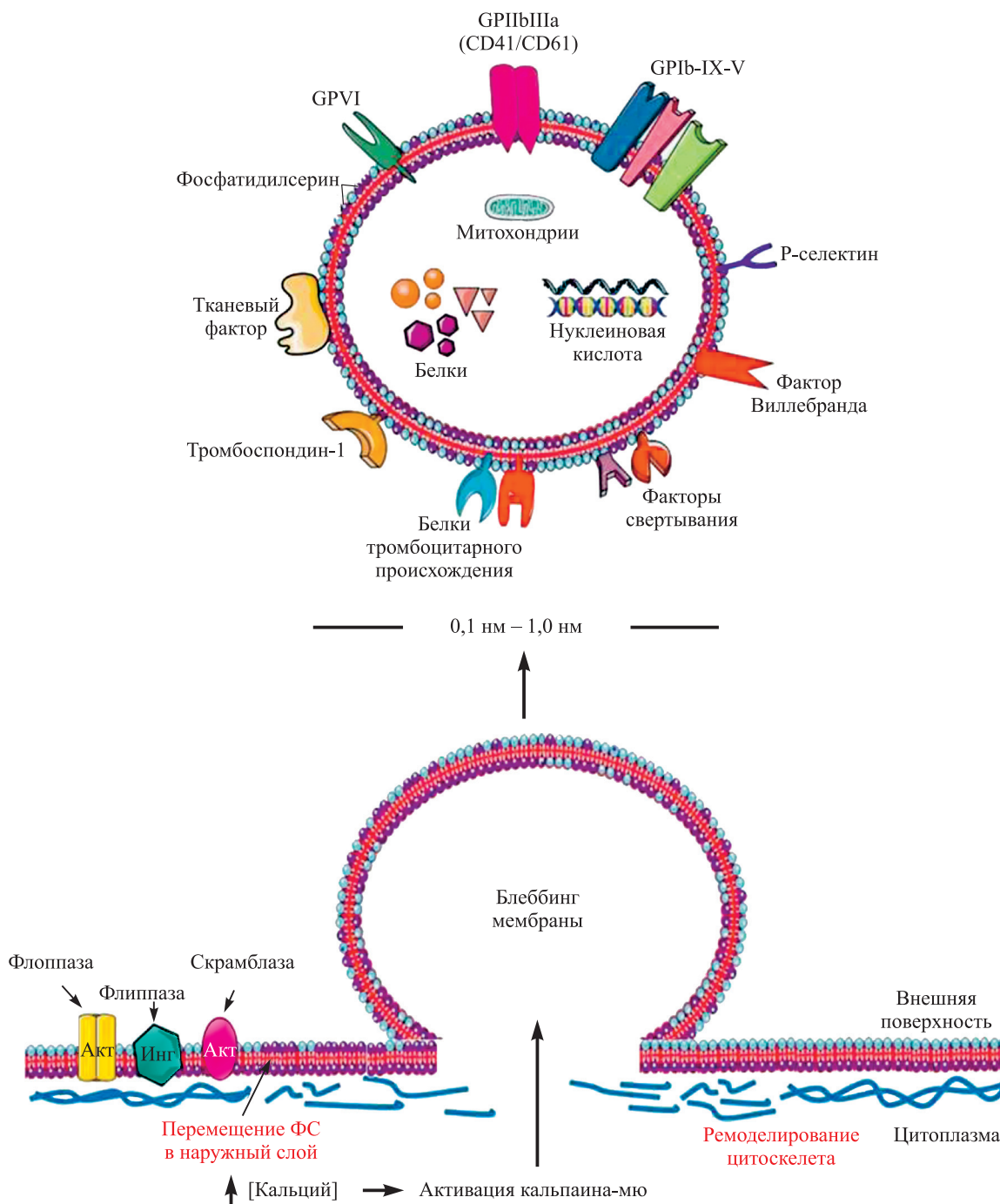


Рис. 2. Схема образования микровезикул [53]; GP – гликопротеиды, рецепторы тромбоцитов; Акт – активация; Инг – ингибирование

Fig. 2. Microvesicle formation [53]; GP – platelet receptors; Акт – activation; Инг – inhibition

ками крови возникает ответная реакция клеток, выраженная хемотаксисом, стимуляцией адгезии, пролиферации и приживления, активацией внутриклеточных сигнальных систем [11]. Кроме того, обнаружено, что при сокультивировании с эндотелиальными прогениторными клетками ТМ повышают их ангиогенную активность [3, 46]. Н.К. Kim et al. отметили, что ТМ принимают ак-

тивное участие в развитии кровеносных сосудов, способствуя пролиферации эндотелия. Данный эффект авторы объяснили воздействием факторов роста и сфингозин-1-фосфата, содержащихся в ТМ [32].

В рамках настоящего обзора особый интерес представляет присущая ТМ проагрегантная и прокоагулянтная активность, на которую обраща-

ют внимание многие исследователи [3, 4, 15, 27]. Показано, что ТМ воздействуют на эндотелий сосудов, вызывая в нем изменения путем передачи эндотелиоцитам арахидоновой кислоты, а также то, что ТМ усиливают адгезию тромбоцитов благодаря наличию в их составе коллаген-связывающих рецепторных белков [3, 13]. Стоит подчеркнуть, что участие ТМ в процессе свертывания крови стало первой из выявленных у них функций [3, 47]. *E.I. Sinauridze et al.* в своей статье указывали на наличие у ТМ выраженной прокоагулянтной активности, в 50–100 раз превышающей таковую у активированных тромбоцитов [5, 47]. Это объясняется тем, что, несмотря на большую разницу в размерах и площадях поверхностей тромбоцита и ТМ, площадь прокоагулянтной поверхности ТМ существенно больше площади соответствующей поверхности активированного тромбоцита [3, 15, 47]. Причиной является высокая концентрация фосфатидилсерина (в связи с особенностями образования ТМ) на поверхности данных микровезикул, а также наличие в их составе тканевого фактора – трансмембранного рецептора фактора VII/VIIa, играющего главную роль в инициации внешнего пути коагуляции. Наряду с этим ТМ имеют на своей поверхности сайты связывания активированных факторов V, VIIa и IXa [3, 15], что ускоряет реализацию контактного (внутреннего) пути свертывания крови.

В независимости от стимула, вызвавшего образование ТМ, они обеспечивают около 25 % прокоагулянтной активности крови [15]. Необходимо отметить, что все без исключения микровезикулы (из клеток крови и эндотелия) активируют свертывание крови. Однако считается, что наиболее высокой прокоагулянтной активностью среди всех микровезикул обладают именно ТМ, которые одновременно являются и самыми многочисленными в плазме крови [3, 5, 19].

Препараты крови, обогащенные ТМ. Имеется ряд работ, в которых изучалась эффективность для коррекции коагулопатии как специальных составов из микровезикул тромбоцитов, так и препаратов, содержащих помимо данных микровезикул ряд высокоадгезивных белков. К первой группе можно отнести пригодные для инфузий препараты тромбоцитарных мембран (IPM – infusible platelet membranes) [17, 33, 41–43], ко второй – криопреципитат, изготавливаемый из плазмы крови по известной стандартной технологии [16, 35, 51].

Пригодные для трансфузий препараты тромбоцитарных мембран. Во-первых, данные препараты были исследованы *in vitro*, благодаря чему и получена информация об их составе. Основными компонентами IPM оказались белки

и фосфолипиды, а также, в меньших количествах, холестерин и углеводы [17, 41]. Фосфолипидный состав препаратов IPM совпадает с фосфолипидным составом мембран целых тромбоцитов [41]. В свою очередь, фосфолипидный состав ТМ в целом совпадает с фосфолипидным составом IPM, но может иметь некоторые отличия в зависимости от характера стимулирующего влияния, вызвавшего образование ТМ [12]. В препаратах IPM не выявляются маркеры цитоплазматических гранул, α -гранул или плотных гранул тромбоцитов, в число которых входят полинуклеотидфосфорилаза, фактор V свертывания крови, а также серотонин [17, 41]. Также в IPM отсутствуют иммуномодулирующие медиаторы тромбоцитов, которые способствуют возникновению посттрансфузионных иммунологических реакций (серотонин и др.) [5, 39, 40]. Важно отметить, что IPM содержат гликопротеин Ib, но не имеют в своем составе гликопротеина IIb/IIIa. Последний находится на поверхности мембран тромбоцитов, и предполагается, что он разрушается в процессе приготовления IPM, в частности, при центрифугировании и температурных воздействиях [41].

Во-вторых, были проведены доклинические испытания IPM. Обнаружено, что при введении IPM в дозе 2,0 мг/кг сокращается время кровотечения (по Дьюку) из уха кролика с индуцированной тромбоцитопенией, причем данный эффект наблюдался в течение 6 часов после введения препарата, а спустя 24 ч он уже отсутствовал [12, 17, 42]. Кроме того, установлен дозозависимый эффект IPM [43]. В ходе еще одного исследования показано, что применение IPM в дозе 4,0 мг/кг сопровождается сокращением времени кровотечения с 900 до 450 с [48].

В-третьих, компанией Cypress Bioscience (США) был разработан препарат тромбоцитарных мембран под названием IPM Cyplex™. Он получался из образцов устаревших тромбоконцентратов и содержал сферические микровезикулы диаметром около 0,6 мкм, имеющие в своем составе прокоагулянтные фосфолипиды. IPM Cyplex™ прошел I и II фазу клинических испытаний. В I фазе клинических испытаний он вводился условно здоровым добровольцам в дозе 6,0 мг/кг внутривенно в течение 30–40 минут. Перед проведением исследования испытуемые получали ацетилсалициловую кислоту *per os* и затем среди них отбирались лица с увеличенным временем кровотечения. Введение данной группе добровольцев IPM Cyplex™ приводило к сокращению времени кровотечения. При этом ни у кого из них в крови в последующем не было обнаружено антител к компонентам IPM Cyplex™ [7, 41]. Во II фазе клинических испытаний участвовал 31 пациент с

Таблица. Состав криопреципитата [19, 51]

Table. Cryoprecipitate content [19, 51]

Компонент	Количество и функция
Фибриноген	Минимальные требования к содержанию 140 мг/ед. Стандартные рекомендации к применению при гипофибриногенемии (менее 1,0 г/) для взрослых составляют 10 ед (10 доз препарата). Фибриноген под влиянием тромбина трансформируется в фибрин
Фактор VIII:С	Средняя концентрация 101 МЕ/ед. Минимальные требования к содержанию 70 МЕ/ед. Участвует во внутреннем механизме гемокоагуляции, содержание значительно снижено при гемофилии А и 3 типе болезни Виллебранда
Фибронектин	Наличие 1500 мкг/мл (нормальный уровень в плазме крови 300 мкг/мл). Обладает опсонической активностью, способствующей фагоцитозу частиц нежизнеспособных тканей ретикулоэндотелиальной системой
Фактор XIII	Наличие 20–30 % от исходного содержания фактора XIII в СЗП. Стабилизирует сгусток фибрина путем образования ковалентных связей между мономерами фибрина и поперечного связывания α_2 -антиплазмина, фибриногена, фибронектина, коллагена и других белков для повышения механической прочности сгустка фибрина и его защиты от протеолиза плазмином
Фактор Виллебранда	Наличие 40–70 % от исходного содержания в СЗП. Обеспечивает адгезию тромбоцитов к внутренней поврежденной сосудистой стенке и предотвращает фактор VIII от неспецифического протеолиза
ТМ	Присутствуют в большом количестве (в 265 раз больше, чем в СЗП)

Примечание. Фактор VIII: С – фактор VIII, обладающий коагуляционной активностью; МЕ – международные единицы; СЗП – свежезамороженная плазма.

рефрактерной тромбоцитопенией и количеством тромбоцитов в крови менее $50 \times 10^9/\text{л}$, а также с фенотипическими проявлениями в виде кровотечений из слизистых оболочек. Больные получали либо однократную дозу IPM Cyplex™ (2,0, 4,0 или 6,0 мг/кг), либо стандартный концентрат тромбоцитов. Уменьшение или полное прекращение кровотечения наблюдалось у 65 % пациентов, получавших IPM Cyplex™, и у 60 % пациентов, получавших концентрат тромбоцитов. Представленные результаты свидетельствовали также о том, что препарат IPM может уменьшать рефрактерность пациентов к трансфузии тромбоцитов [7]. Между тем III фаза клинических испытаний IPM Cyplex™ была приостановлена в связи с тем, что Управление по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (Food and Drug Administration) в 2008 г. отказало в выдаче лицензии данному препарату. Такое решение было обусловлено недостаточно убедительными аргументами в пользу его эффективности. В последние годы предпринимаются новые попытки определения терапевтических возможностей данного препарата у пациентов, рефрактерных к трансфузиям тромбоцитов и имеющих антитела к HLA и антигенам тромбоцитов [41].

Криопреципитат. Приготавливаемый из плазмы крови доноров криопреципитат используется в медицине более 50 лет по ряду клинических показаний, однако в последние годы призна-

ется, что потенциал данного компонента крови остается недооцененным [51]. В 1960-х годах J.G. Pool et al. [45] обнаружили, что, если замороженную плазму оттаивать медленно, образуется осадок, обогащенный рядом адгезивных белков: фактором Виллебранда, факторами VIII и XIII, а также фибриногеном. Основные шаги в подготовке криопреципитата мало изменились и на сегодняшний день; замороженная плазма подвергается контролируемому оттаиванию при $1-6^\circ\text{C}$ для осаждения высокомолекулярных белков [8, 52]. Затем эти белки отделяются центрифугированием, ресуспендируются в небольшом объеме плазмы и хранятся при температуре не выше -18°C или подвергаются лиофилизации [16, 28]. В результате данной процедуры в состав криопреципитата входят коагуляционно активные компоненты, перечисленные и охарактеризованные в таблице.

Наблюдение того факта, что антитромбоцитарные антитела могут появляться не только после лечебного применения донорских тромбоцитов, но и после трансфузий криопреципитата [38], побудило к поиску в нем ТМ. Согласно полученным J.N. George et al. данным, основанным на использовании антител к гликопротеиду IIb тромбоцитов, концентрация микрочастиц мембраны тромбоцитов в криопреципитате оказалась в 29 раз выше, чем в криосупернатантной фракции, и в 265 раз больше, чем в исходной плазме

крови, лишенной тромбоцитов путем центрифугирования (5000 g в течение 5 мин) [26]. Это очень интересный факт, связанный, очевидно, с результатами физического воздействия на тромбоциты (гравитационного, температурного). И он позволяет предположить полезность использования криопреципитата для «протезирования» функции тромбоцитов в тех случаях, когда своевременная их доставка для проведения лечебных мероприятий по разным причинам маловероятна. Кроме того, можно обратить внимание на высокое содержание в криопреципитате высокоадгезивных белков (см. таблицу), роль которых для остановки кровотечения и обеспечения репаративных процессов хорошо известна.

Сказанное выше может проиллюстрировать следующий клинический случай с применением криопреципитата, наблюдавшийся в Алтайском филиале НМИЦ гематологии.

Больная Ф.О., 85 лет. На фоне двойной анти-тромбоцитарной терапии (прием кишечнорастворимой формы ацетилсалициловой кислоты в сочетании с клопидогрелем), назначенной кардиологом в связи с недостаточностью аортального клапана и аритмией (пароксизмы фибрилляции предсердий), остро развилось массивное кровотечение из толстого кишечника, в связи с чем была выполнена резекция сигмовидной кишки с формированием одноствольного противоестественного заднего прохода (07.2016 г.). В последующем в течение года неоднократно наблюдались рецидивы кишечного кровотечения (на фоне тромбоцитопении – $65-89 \times 10^9/\text{л}$), которое останавливалось консервативно в стационарных условиях (с использованием рекомбинантного фактора VIIa, концентрата тромбоцитов, свежезамороженной плазмы и транексамовой кислоты). Диагностическое обследование показало наличие дивертикулярной болезни толстой кишки. Последнее поставило вопрос о повторном оперативном вмешательстве в виде гемиколонэктомии. В противовес этому решению была выбрана и реализована тактика, основанная на профилактическом ежемесячном введении криопреципитата в объеме 8 ед (4 ед в сутки), что привело к исчезновению эпизодов кишечного кровотечения на протяжении последних двух лет и явилось основой персонифицированной органосберегающей технологии.

Заключение

Тромбоцитарные микровезикулы представляют собой значительный научный и практический интерес для исследователей. Они обладают многочисленными свойствами и функциями, использование которых может изменить подходы к

лечению и диагностике многих заболеваний. На данный момент одним из наиболее перспективных направлений исследований представляется дальнейшее изучение прокоагулянтной активности ТМ при управлении кровотечениями микроциркуляторного типа.

Список литературы / References

1. Гомзикова М.О., Гайфулина Р.Ф., Мустафин И.Г., Чернов В.М., Мифтахова З.Р., Галывич А.С., Ризванов А.А. Мембранные микровезикулы: биологические свойства и участие в патогенезе заболеваний. *Клеточ. трансплантология и тканев. инженерия*. 2013; 8 (1): 6–11.
2. Gomzikova M.O., Gayfullina R.F., Mustafin I.G., Chernov V.M., Miftakhova Z.R., Galyavich A.S., Rizvanov A.A. Membrane microvesicles: biological properties and involvement in pathogenesis of diseases. *Kletochnaya transplantologiya i tkanevaya inzheneriya = Cellular Transplantation and Tissue Engineering*. 2013; 8 (1): 6–11. [In Russian].
3. Зубаиров Д.М., Зубаирова Л.Д. Микровезикулы в крови. Функции и их роль в тромбообразовании. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. 168 с.
4. Zubairov D.M., Zubairova L.D. Microvesicles in blood. Functions and their role in thrombus formation. Moscow: GEOTAR-Media, 2009. 168 p. [In Russian].
5. Кубатиев А.А., Боровая Т.Г., Жуковская В.Г., Адриевская С.Г., Шевлягина Н.В. Микрочастицы тромбоцитов: образование и свойства. *Патогенез*. 2017; 15 (2): 4–13. doi: 10.25557/GM.2017.2.7296
6. Kubatiev A.A., Borovaya T.G., Zhukovitskaya V.G., Adreevskaya S.G., Shevlyagina N.V. Platelet microparticles: formation and properties. *Patogenez = Pathogenesis*. 2017; 15 (2): 4–13. [In Russian]. doi: 10.25557/GM.2017.2.7296
7. Пальцын А.А. Микрочастицы тромбоцитов. *Патол. физиология и эксперим. терапия*. 2017; 61 (1): 99–105. doi: 10.25557/0031-2991.2017.01.99-105
8. Paltsyn A.A. Platelet microparticles. *Patologicheskaya fiziologiya i eksperimental'naya terapiya = Pathological Physiology and Experimental Therapy*. 2017; 61 (1): 99–105. [In Russian]. doi: 10.25557/0031-2991.2017.01.99-105
9. Пантелеев М.А., Абаева А.А., Баландина А.Н., Беляев А.В., Нечипуренко Д.Ю., Обыденный С.И., Свешникова А.Н., Шибеко А.М., Атауллаханов Ф.И. Внеклеточные везикулы плазмы крови: состав, происхождение, свойства. *Биол. мембраны*. 2017; 34 (3): 155–161. doi: 10.7868/S0233475517030069
10. Panteleev M.A., Abaeva A.A., Balandina A.N., Belyaev A.V., Nechipurenko D.Yu., Obydennyj S.I., Sveshnikova A.N., Shibeko A.M., Ataulakhanov F.I. Extracellular vesicles of blood plasma: composition, origin, properties. *Biologicheskie membrany = Biological Membranes*. 2017; 34 (3): 155–161. [In Russian]. doi: 10.7868/S0233475517030069

6. Титов В.Н. Микрочастицы плазмы крови, микровезикулы, экзосомы, тельца апоптоза и макрофаги Купфера в печени – поздняя в филогенезе система реализации биологической функции эндоекологии (лекция). *Клин. лаб. диагностика*. 2011; (11): 29–39.
- Titov V.N. Microparticles of blood plasma, microvesicles, exosomes, corpuscles of apoptosis and macrophages Kupffer cells in liver – late in the phylogenesis system for the implementation of the biological function of endoeology (lecture). *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika = Clinical Laboratory Diagnostics*. 2011; (11): 29–39. [In Russian].
7. Alving B.M., Reid T.J., Fratantoni J.C., Finlayson J.S. Frozen platelets and platelet substitutes in transfusion medicine. *Transfusion*. 1997; 37: 866–876. doi: 10.1046/j.1537-2995.1997.37897424413.x
8. American Association of Blood Banks Technical Manual. Ed. 19. Bethesda: American Association of Blood Banks, 2017.
9. Anthwi-Baffour S., Adjei J., Aryeh C., Kyere-meh R., Kyri F., Seidu M.A. Understanding the biosynthesis of platelets-derived extracellular vesicles. *Immun. Inflamm. Dis*. 2015; 3 (3): 133–140. doi: 10.1002/iid3.66
10. Ardoin S.P., Shanahan J.C., Pisetsky D.C. The role of microparticles in inflammation and thrombosis. *Scand. J. Immunol*. 2007; 66: 159–165.
11. Baj-Krzyworzeka M., Majka M., Pratico D., Ratajczak J., Vilaire G., Kijowski J., Reca R., Janowska-Wieczorek A., Ratajczak M.Z. Platelet-derived microparticles stimulate proliferation, survival, adhesion, and chemotaxis of hematopoietic cells. *Exp. Hematol*. 2002; 30: 450–459.
12. Biro E., Akkerman J.W., Hoek F.J., Gorter G., Pronk L.M., Sturk A., Nieuwland R. The phospholipid composition and cholesterol content of platelet-derived microparticles: a comparison with platelet membrane fractions. *J. Thromb. Haemost.* 2005; 3: 2754–2763. doi: 10.1111/j.1538-7836.2005.01646.x
13. Blajchman M.A. Substitutes and alternatives to platelet transfusions in thrombocytopenic patients. *J. Thromb. Haemost.* 2003; 1: 1637–1641.
14. Boudreau L.H., Ducheux A.-C., Cloutier N., Soulet D., Martin N., Bollinger J., Paré A., Rousseau M., Naika G.S., Lévesque T., Laflamme C., Marcoux G., Lambeau G., Farndale R.W., Pouliot M., Hamzeh-Cognasse H., Cognasse F., Garraud O., Nigrovic P.A., Guderley H., Lacroix S., Thibault L., Semple J.W., Gelb M.H., Boilard E. Platelets release mitochondria serving as substrate for bactericidal group IIA-secreted phospholipase A2 to promote inflammation. *Blood*. 2014; 124 (14): 2173–2183. doi: 10.1182/blood-2014-05-573543
15. Burnier L., Fontana P., Kwak B.R., Angelillo-Scherrer A. Cell-derived microparticles in haemostasis and vascular medicine. *Thromb. Haemost.* 2009; 101 (3): 439–451. doi: 10.1160/TH08-08-0521
16. Callum J.L., Karkouti K., Lin Y. Cryoprecipitate: the current state of knowledge. *Transfus. Med. Rev*. 2009; 23 (3): 177–188. doi: 10.1016/j.tmr.2009.03.001
17. Chao F.C., Kim B.K., Houranich A.M., Liang F.H., Konrad M.W., Swisher S.N., Tullis J.L. Infusible platelet membrane microvesicles: a potential transfusion substitute for platelets. *Transfusion*. 1996; 36: 536–542. doi: 10.1046/j.1537-2995.1996.36696269513.x
18. Coumans F.A.W., Brisson A.R., Buzas E.I., Dignat-George F., Drees E.E.E., El-Andaloussi S., Emanueli C., Gasecka A., Hendrix A., Hill A.F., Lacroix R., Lee Y., van Leeuwen T.G., Mackman N., Mäger I., Nolan J.P., van der Pol E., Pegtel D.M., Sahoo S., Siljander P.R.M., Sturk G., de Wever O., Nieuwland R. Methodological guidelines to study extracellular vesicles. *Circ. Res*. 2017; 120 (10): 1632–1648. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.117.309417
19. Curry N., Raja A., Beavis J., Stanworth S., Harrison P. Levels of procoagulant microvesicles are elevated after traumatic injury and platelet microvesicles are negatively correlated with mortality. *J. Extracell. Vesicles*. 2014; 3: 25625. doi: 10.3402/jev.v3.25625
20. Curtis A.M., Edelberg J., Jonas R., Rogers W.T., Moore J.S., Syed W., Mohler E.R. 3rd. Endothelial microparticles: sophisticated vesicles modulating vascular function. *Vasc. Med*. 2013; 18 (4): 204–214. doi: 10.1177/1358863X13499773
21. Daleke D.L. Regulation of transbilayer plasma membrane phospholipid asymmetry. *J. Lipid. Res*. 2003; 44 (2): 233–242. doi: 10.1194/jlr.R200019-JLR200
22. Dean W.L., Lee M.J., Cummins T.D., Schultz D.J., Powell D.W. Proteomic and functional characterization of platelet microparticle size classes. *J. Thromb. Haemost.* 2009; 102: 711–718. doi: 10.1160/TH09-04-243
23. Diamant M., Tushuizen M.E., Sturk A., Nieuwland R. Cellular microparticles: new players in the field of vascular disease? *Eur. J. Clin. Invest*. 2004; 34 (6): 392–401. doi: 10.1111/j.1365-2362.2004.01355.x
24. Erdbrügger U., Lannigan J. Analytical challenges of extracellular vesicle detection: A comparison of different techniques. *Cytometry A*. 2016; 89 (2): 123–134. doi: 10.1002/cyto.a.22795
25. Faille D., El-Assaad F., Mitchell A.J., Alessi M.C., Chimini G., Fusai T., Grau G.E., Combes V. Endocytosis and intracellular processing of platelet microparticles by brain endothelial cells. *J. Cell. Mol. Med*. 2012; 16 (8): 1731–1738. doi: 10.1111/j.1582-4934.2011.01434.x
26. George J.N., Pickett E.B., Heinz R. Platelet membrane microparticles in blood bank fresh frozen plasma and cryoprecipitate. *Blood*. 1986; 68 (1): 307–309.
27. Goubran H.A., Burnouf T., Stakiw J., Seghatichian J. Platelet microparticle: a sensitive physiological «fine tuning» balancing factor in health and disease. *Transfus. Apher. Sci*. 2015; 52 (1): 12–18. doi: 10.1016/j.transci.2014.12.015

28. Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom. Chapter 7: Specifications for Blood Components. 8th ed. 2013. URL: <https://www.transfusionguidelines.org/red-book/chapter-7-specifications-for-blood-components>. Accessed February 2, 2020.
29. Hargett L.A., Bauer N.N. On the origin of microparticles: From «platelet dust» to mediators of intercellular communication. *Pulm. Circ.* 2013; 3 (2): 329–340. doi: 10.4103/2045-8932.114760
30. Italiano J.E. Jr., Mairuhu T.A., Flaumenhaft R. Clinical Relevance of Microparticles from Platelets and Megakaryocytes. *Curr. Opin. Hematol.* 2010; 17 (6): 578–584. doi: 10.1097/MOH.0b013e32833e77ee
31. Janiszewski M., Do Carmo A.O., Pedro M.A., Silva E., Knobel E., Laurindo F.R. Platelet-derived exosomes of septic individuals possess proapoptotic NAD(P)H oxidase activity: A novel vascular redox pathway. *Crit. Care Med.* 2004; 32 (3): 818–825. doi: 10.1097/01.ccm.0000114829.17746.19
32. Kim H.K., Song K.S., Chung J.H., Lee K.R., Lee S.N. Platelet microparticles induce angiogenesis in vitro. *Br. J. Haematol.* 2004; 124 (3): 376–384. doi: 10.1046/j.1365-2141.2003.04773.x
33. Lee D.H., Blajchman M.A. Novel treatment modalities: New platelet preparations and substitutes. *Br. J. Haematol.* 2001; 114: 496–505. doi: 10.1046/j.1365-2141.2001.03004.x
34. Manno S., Takakuwa Y., Toti F. Formation of procoagulant microparticles and properties. *Thromb. Res.* 2010; 125 (Suppl. 1): 46–48. doi: 10.1016/j.thromres.2010.01.036
35. Marcoux G., Ducheux A.C., Rousseau M., Levesque T., Boudreau L.H., Thibault L., Boilard E. Microparticle and mitochondrial release during extended storage of different types of platelet concentrates. *Platelets.* 2016; 29: 1–9. doi: 10.1080/09537104.2016.1218455
36. Meziani F., Xavier Delabranche X., Asfar P., Toti F. Bench-to-bedside review: Circulating microparticles – a new player in sepsis? *Crit. Care.* 2010; 14 (5): 236. doi: 10.1186/cc9231
37. McGinn C.M., MacDonell B.F., Shan C.X., Wallace R., Cummins P.M., Murphy R.P. Microparticles: a pivotal nexus in vascular homeostasis and disease. *Curr. Clin. Pharmacol.* 2016; 11 (1): 28–42. doi: 10.2174/1574884711666160122093527
38. McVerry B.A., Machin S.J. Incidence of alloimmunization and allergic reactions to cryoprecipitate in haemophilia. *Vox Sang.* 1979; 36 (2): 77–80. doi: 10.1111/j.1423-0410.1979.tb04402.x
39. Morrell C.N. Immunomodulatory mediators in platelet transfusion reactions. *Hematology Am. Soc. Hematol. Educ. Program.* 2011; 2011: 470–474. doi: 10.1182/asheducation-2011.
40. Muralidharen-Chari V., Sedgwick A., D'Souza-Schorey C. Microvesicles: mediators of extracellular communication during cancer progression. *J. Cell Sci.* 2010; 123: 1603–1611. doi: 10.1242/jcs.064386.
41. Nasiri S. Infusible platelet membrane as a platelet substitute for transfusion: an overview. *Blood Transfus.* 2013; 11 (3): 337–342. doi: 10.2450/2013.0209-12
42. Nasiri S., Heidari M., Rivandi S. Evaluation of hemostatic effectiveness of infusible platelet membrane in rabbits as a potential substitute for platelet transfusion. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics.* 2012; 2: 282. doi: 10.22270/jddt.v2i5.282
43. Nasiri S., Heidari M., Rivandi S. Infusible platelet membranes improve hemostasis: studies with two different injection doses. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research.* 2012; 3: 4895–4898. doi: 10.13040/IJPSR.0975-8232.3(12).4895-98
44. O'Brien J.R. The platelet-like activity of serum. *Br. J. Haematol.* 1955; 1 (2): 223–228.
45. Pool J.G., Gershgold E.J., Pappenhagen A.R. High-potency antihemophilic factor concentrate prepared from cryoglobulin precipitate. *Nature.* 1964; 203: 312. doi: 10.1038/203312a0
46. Prokopi M., Pula G., Mayr U., Devue C., Gallagher J., Xiao Q., Boulanger C.M., Westwood N., Urbich C., Willeit J., Steiner M., Breus J., Xu Q., Kiechl S., Mayr M. Proteomic analysis reveals presence of platelet microparticles in endothelial progenitor cell culture. *Blood.* 2009; 114 (3): 723–732. doi: 10.1182/blood-2009-02-205930
47. Sinauridze E.I., Kireev D.A., Popenko N.Y., Pichugin A.V., Panteleev M.A., Krymskaya O.V., Ataullakhanov F.I. Platelet microparticle membranes have 50- to 100-fold higher specific procoagulant activity than activated platelets. *Thromb. Haemost.* 2007; 97 (3): 425–434.
48. Vostal J.G., Reid T.J., Mondoro T.H. Summary of a workshop on in vivo efficacy of transfused platelet components and platelet substitutes. *Transfusion.* 2000; 40 (6): 742–750. doi: 10.1046/j.1537-2995.2000.40060742.x
49. Westerman M., Porter J.B. Red blood cell-derived microparticles: An overview. *Blood Cells Mol. Dis.* 2016; 59: 134–139. doi: 10.1016/j.bcmd.2016.04.003
50. Wolf P. The nature and significance of platelet products in human plasma. *Br. J. Haematol.* 1967; 13 (3): 269–288. doi: 10.1111/j.1365-2141.1967.tb08741.x
51. Wong H., Curry N. Cryoprecipitate transfusion: current perspectives. *International Journal of Clinical Transfusion Medicine.* 2016; 4: 89–97. doi: 10.2147/IJCTM.S99042
52. Yang L., Stanworth S., Baglin T. Cryoprecipitate: an outmoded treatment? *Transfus. Med.* 2012; 22 (5): 315–320. doi: 10.1111/j.1365-3148.2012.01181.x
53. Zaldivia M.T.K., McFadyen J.D., Lim B., Wang X., Peter K. Platelet-derived microvesicles in cardiovascular diseases. *Front. Cardiovasc. Med.* 2017; (4): 74. doi: 10.3389/fcvm.2017.00074

Сведения об авторах:

Андрей Павлович Момот, д.м.н., проф., ORCID: 0000-0002-8413-5484, e-mail: xyzan@yandex.ru

Наталья Олеговна Царигородцева, e-mail: misssherlockian@gmail.com

Дмитрий Владимирович Фёдоров, д.м.н., проф., e-mail: dima.fedorovdv@yandex.ru

Константин Михайлович Бишевский, к.м.н., e-mail: kombish@yandex.ru

Наталья Владимировна Вострикова, к.м.н., e-mail: benzobak10@yandex.ru

Елена Евгеньевна Климова, к.м.н., e-mail: elenklm@icloud.com

Information about the authors:

Andrey P. Momot, doctor of medical sciences, professor, ORCID: 0000-0002-8413-5484, e-mail: xyzan@yandex.ru

Natalia O. Tsarigorodtseva, e-mail: misssherlockian@gmail.com

Dmitry V. Fedorov, doctor of medical sciences, professor, e-mail: dima.fedorovdv@yandex.ru

Konstantin M. Bishevski, candidate of medical sciences, e-mail: kombish@yandex.ru

Natalia V. Vostrikova, candidate of medical sciences, e-mail: benzobak10@yandex.ru

Elena E. Klimova, candidate of medical sciences, e-mail: elenklm@icloud.com

Поступила в редакцию 11.10.19

После доработки 05.12.19

Принята к публикации 07.02.20

Received 11.10.19

Revision received 05.12.19

Accepted 07.02.20

Интерфероны лямбда – возможности терапевтического применения

Н.А. Кихтенко, Л.А. Олейник, В.К. Макаров, Е.П. Нагорская, П.Г. Мадонов

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

Резюме

Интерфероны – группа белковых молекул, обладающих широким спектром воздействия на организм. Интерферон лямбда (интерферон III типа) открыт сравнительно недавно – около 20 лет назад – и является относительно малоизученным. Изучение его свойств и механизмов действия вызывает большой интерес, поскольку, обладая сходством с интерферонами I типа, интерферон лямбда имеет ряд отличительных особенностей, которые создают предпосылки для расширения его клинического применения. В частности, интерферон лямбда продуцируется не всеми клетками организма, а значит, имеет более целенаправленное воздействие, чем интерфероны I типа, что снижает системные побочные эффекты. Обзор посвящен биологической активности экзогенного интерферона лямбда, рассматриваются механизмы противовирусной, противоопухолевой, противогрибковой, иммуномодулирующей активности, а также возможности его применения в клинической практике при таких заболеваниях, как синдром Шегрена, атопическая астма, аутоиммунный артрит, различные опухоли, а также в отношении самых разных, как РНК-, так и ДНК-содержащих вирусов, которые атакуют поверхности анатомических барьеров дыхательных путей, желудочно-кишечного тракта, гематоэнцефалического барьера и печени. Также рассматривается пегилированный рекомбинантный интерферон лямбда, для которого начаты клинические исследования, продемонстрировавшие более высокий профиль безопасности пегилированного интерферона лямбда по сравнению с пегилированным интерфероном альфа.

Ключевые слова: интерфероны лямбда, клиническое применение, иммунобиологическая терапия, противовирусная терапия, пегилированный интерферон лямбда.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Автор для переписки: Мадонов П.Г., e-mail: pmadonov@yandex.ru

Для цитирования: Кихтенко Н.А., Олейник Л.А., Макаров В.К., Нагорская Е.П., Мадонов П.Г. Интерфероны лямбда – возможности терапевтического применения. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2020; 40 (2): 15–23. doi: 10.15372/SSMJ20200202

Interferons lambda – therapeutic application

N.A. Kikhtenko, L.A. Oleynik, V.K. Makarov, E.P. Nagorskaya, P.G. Madonov

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

Abstract

Interferons are a group of protein molecules with a broad spectrum of effects on the human body. Interferon lambda (type III interferon) was discovered comparatively recently about 20 years ago and its action is still poorly understood. However, the study of its properties and mechanisms of action is of great interest, since it not only has similarity with type I interferons, but has a number of distinctive features that create prerequisites for expanding its clinical use. Particularly, interferon lambda is not produced by all cells of the body, and therefore has a more targeted effect and lower systemic side effects than type I interferons. This review considers the biological activity of exogenous interferon lambda: the mechanisms of its antiviral, antitumor, antifungal and immunomodulatory activity. The possibility of its use in clinical practice for the treatment of such diseases as Sjogren's syndrome, atopic asthma, autoimmune arthritis, various tumors, as well as against a various of RNA- and DNA-containing viruses that attack the anatomical barrier surface of the respiratory tract, gastrointestinal tract, blood-brain barrier and liver is discussed. This review also considers pegylated recombinant interferon lambda. Recent clinical studies have demonstrated a higher safety profile of pegylated interferon lambda compared with pegylated interferon alpha.

Key words: interferons lambda, clinical use, immunobiologic therapy, antiviral therapy, pegylated interferon lambda.

Conflict of interests. Authors declare lack of the possible conflicts of interests.

Correspondence author: Madonov P.G., e-mail: pmadonov@yandex.ru

Citation: Kikhtenko N.A., Oleynik L.A., Makarov V.K., Nagorskaya E.P., Madonov P.G. Interferones lambda – therapeutic application. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2020; 40 (2): 15–23. [In Russian]. doi: 10.15372/SSMJ20200202

Несмотря на то что с момента открытия интерферонов лямбда (ИФН-λ) прошло уже 20 лет, только в октябре 2018 г. в Национальном институте здоровья США состоялась первая в истории встреча под названием «ИФН-λ: воздействие на болезни и терапевтический потенциал», посвященная исключительно ИФН-λ. Цель этого мероприятия заключалась в том, чтобы улучшить междисциплинарное взаимопонимание и способствовать сотрудничеству в исследованиях ИФН-λ, обладающих, по мнению участников встречи, огромным терапевтическим потенциалом для лечения онкологических, инфекционных и аутоиммунных заболеваний [44].

Первые публикации, посвященные ИФН-λ, появились в 2002–2003 гг. [28, 53, 54], и в них было показано, что ИФН-λ (также известные как ИФН III типа) имеют значительное сходство с ИФН-α/β (ИФН I типа) в том, что они индуцируют экспрессию противовирусных и антипролиферативных генов хозяина путем передачи сигналов посредством пути JAK/STAT. В то же время было обнаружено, что в отличие от экспрессии рецептора ИФН-α/β, которая происходит практически во всех ядерных клетках, экспрессия рецептора ИФН-λ определяется преимущественно в крови человека, легких, поджелудочной железе, эпителиальных клетках слизистых оболочек, плаценте, яичниках, простате, тестикулярной ткани и кератиноцитах кожи и носит ткань-специфический характер [2, 32, 62]. При этом кинетика активации STAT ИФН-α и ИФН-λ и потенциал индуцированных ими генов отличаются: эффекторная функция генов ИФН-α нарастают и снижаются быстро, пикообразно, а генов ИФН-λ – нарастают постепенно и устойчиво [2, 21]. Влияние ИФН-λ на иммунную систему с момента их открытия является объектом пристального внимания, и в настоящее время существование такого воздействия неоспоримо, однако механизм, по которому ИФН-λ регулирует адаптивный иммунный ответ, до сих пор до конца не изучен [50, 58, 63]. ИФН-λ выявлен у широкого круга животных, при этом зарегистрировано его противоопухолевое, противовоспалительное и противовирусное действие [30]. Все это поставило перед исследователями закономерный вопрос: каким образом можно использовать экзогенный ИФН-λ для лечения забо-

леваний, при которых изменяется уровень эндогенного ИФН-λ?

ИФН-λ и аутоиммунные заболевания. Показано, что ИФН-λ играет роль в патогенезе таких аутоиммунных заболеваний, как первичный синдром Шегрена, зачастую проявляющийся в виде синдрома сухого глаза и сухости полости рта [19], системная красная волчанка [45], ревматоидный артрит [11], системный склероз [14], а при псориазе повышенная выработка ИФН-λ обеспечивает защиту от сопутствующих вирусных инфекций кожи [59].

ИФН-λ играет защитную роль и при atopической астме [27]. В ходе эксперимента у мышей с бронхиальной астмой при интраназальном введении рекомбинантного ИФН-λ уменьшалось воспаление легочной ткани и значительно снижались уровни секреторируемого белка TSLP и IL-33 в жидкости бронхоальвеолярного лаважа. Это доказывает, что компенсация ИФН-λ может ограничивать секрецию Th2-цитокинов в эпителии, а ИФН-λ являются критическими для ограничения Th2-опосредованных аллергических реакций при atopической астме [60].

В настоящее время показано, что нейтрофилы обладают восприимчивостью к ИФН-λ [50], что создает предпосылки для терапевтического применения ИФН-λ при лечении аутоиммунного артрита и других воспалительных заболеваний. При аутоиммунном артрите у мышей лечение ИФН-λ уменьшало рекрутирование нейтрофилов и приводило к улучшению исхода заболевания [8].

ИФН-λ при онкологических заболеваниях. Противоопухолевый эффект ИФН-λ показан на многих моделях опухолей, включая гепатоцеллюлярную карциному, рак легких, рак пищевода, рак молочной железы, рак простаты, рак толстой кишки, фибросаркому и рак шейки матки, при этом ИФН-λ влиял как непосредственно на опухолевые клетки, так и на микроокружение опухоли, т.е. оказывал как прямые, так и опосредованные противоопухолевые эффекты. Прямое противоопухолевое действие ИФН-λ заключается в ингибировании пролиферации клеток, стимулировании апоптоза клеток и остановке клеточного цикла, опосредованное – активацию иммунных клеток и ингибирование ангиогенеза [29]. В связи с этим способность индуцировать выработ-

ку ИФН-λ онколитическими вирусами является одним из возможных объяснений механизма их противоопухолевого действия [61].

В то же время нельзя исключать двойную роль ИФН-λ при онкологических заболеваниях. Так, на модели рака мочевого пузыря показано, что ИФН-λ индуцирует экспрессию матриксной металлопротеиназы 9, тем самым способствуя миграции и инвазивности опухоли [34]; на моделях рака молочной железы собаки продемонстрировано, что выработка ИФН-λ миелоидными клетками-супрессорами индуцирует метастазирование рака посредством стимуляции ангиогенеза, эпителиально-мезенхимального перехода, инвазии и миграции опухолевых клеток [40]. Кроме того, *in vitro* обработка опухолевых клеток ИФН-λ увеличивает миграцию и образование канальцев [29]. Следовательно, хотя ИФН-λ выполняет роль супрессора опухоли, вероятно, на поздних стадиях заболевания он также действует как промотор рака, и это позволяет предположить, что для лечения некоторых распространенных вариантов злокачественных новообразований необходимо использование антагонистов ИФН-λ [29]. Таким образом, ИФН-λ становится фактором, который необходимо учитывать при разработке новых схем терапии рака [10].

Противогрибковая активность ИФН-λ.

Показано, что ИФН-λ играет важную роль в регуляции противогрибковых нейтрофилов, а внутрибрюшинное введение экзогенного ИФН-λ увеличивало выживаемость мышей при инфекции *Aspergillus fumigatus* [17].

Противовирусная активность ИФН-λ. После того как было установлено, что многие вирусы вызывают индукцию ИФН-λ у человека и животных, были проведены исследования по изучению противовирусного действия экзогенного ИФН-λ на моделях *in vitro* и *in vivo*. Противовирусная активность ИФН-λ *in vitro* исследована на различных культурах клеток в отношении самых разных, как РНК-, так и ДНК-содержащих вирусов: респираторного синцитиального вируса, вируса ящура, вируса Коксаки, вируса энцефаломиокардита, вируса осповакцины, вируса Хантанта, вируса Апеу, вирусов гепатита В человека и уток, вируса гепатита С, вирусов герпеса, цитомегаловируса, вируса гриппа А, вируса везикулярного стоматита, парвовируса собак, ВИЧ-1, вируса лихорадки Западного Нила, вируса Конго-Крымской лихорадки, риновируса человека, вируса лимфоцитарного хориоменингита, вируса Ласса, вируса Денге, метапневмовируса человека, вируса эпидемической диареи свиней, вируса Нипах, вируса кори [13, 30, 35, 36, 52, 56, 57]. В ходе исследований была подтверждена зависимость про-

теktivного противовирусного действия ИФН-λ от вида интерферона, модели вирусной инфекции и, что особенно важно, от типа хозяина и даже системы культивирования клеток [30]. Однако наибольший интерес представляют исследования влияния экзогенного ИФН-λ на течение вирусных инфекций *in vivo*.

Одним из первых сообщений о противовирусной активности ИФН-λ *in vivo* является публикация *Ank с соавт.* 2006 г. [4], где сообщается, что интравагинальная обработка самок мышей ИФН-λ до инфицирования вирусом простого герпеса второго типа предотвращает репликацию вируса в слизистых оболочках половых путей. В 2018 г. опубликованы материалы экспериментальной работы, в которой получены любопытные данные [3]: при острой герпесвирусной инфекции в пораженных вирусом простого герпеса 1-го типа (ВПГ-1) органах мышей при введении иммуностимулирующего препарата стимфорте (100 или 250 мкг/мышь) наблюдается усиление протеазной активности и появляются значительные количества гранзима В, следовательно, действие препарата направлено на активацию клеток-киллеров, играющих чрезвычайно важную роль в подавлении инфекции ВПГ-1. Несмотря на то что введение стимфорте (100 мкг/мышь) интактным мышам индуцирует продукцию интерферона β (ИФН-β) и не влияет на продукцию ИФН-λ, у зараженных ВПГ-1 животных после введения стимфорте продукция ИФН-β в сыворотке крови, головном мозге и легких падает, а ИФН-λ – достоверно растет. Этот эксперимент показывает, что в ответ на введение некоего ксенобиотика происходит быстрая экспрессия и выработка ИФН-λ.

Недавно появилось сообщение о том, что аналогичная обработка гормонозависимо защищает самок-мышей от вируса Зика [9]. Примечательно, что *in vitro* в отношении вируса простого герпеса II типа и цитомегаловируса выявлена лишь незначительная активность ИФН-λ, а в отношении вируса осповакцины *in vitro* такой активности не наблюдалось вовсе, хотя *in vivo* обнаружен значимый противовирусный эффект [5, 7]. Вероятно, это связано с тем, что в экспериментах *in vitro* проявляется преимущественно прямая противовирусная активность ИФН-λ, а в исследованиях *in vivo* – еще и способность стимулировать иммунную систему организма в целом в ответ на вторжение чужеродного агента.

Показано, что экзогенный ИФН-λ влияет на течение вирусных заболеваний **желудочно-кишечного тракта**. Так, подкожное введение ИФН-λ 10-дневным сосункам мышей обеспечивает защиту животных от ротавирусной инфек-

ции, эффективно подавляя репликацию вируса в тонком и толстом кишечнике [48]. Кроме того, установлено, что внутрибрюшинное введение ИФН-λ [43] или плазмиды, экспрессирующей ИФН-λ [51], предотвращает и излечивает персистирующую норовирусную инфекцию у мышей, препятствует выделению вируса в окружающую среду и его передаче от животного к животному. Аналогичное действие оказывает и стимуляция продуцирования ИФН-λ интраэпителиальными Т-клетками [55]. В то же время в отношении астровирусов, парвовирусов, энтеровирусов и аденовирусов человека, вызывающих тяжелые заболевания желудочно-кишечного тракта, данные о чувствительности к ИФН-λ как на клеточных культурах, так и на животных моделях пока отсутствуют [33].

Интраназальное введение ИФН-λ мышам, инфицированным разными штаммами вируса гриппа, снижало вирусную нагрузку и способствовало выздоровлению [25, 38], в то время как аналогичное введение ИФН-α уменьшало вирусную нагрузку, но усугубляло течение болезни из-за увеличения секреции провоспалительных цитокинов **в легких** [15]. Показано также, что профилактическое введение ИФН-λ, как и ИФН-α, подавляло первоначальную репликацию вируса во всех частях дыхательных путей, но только ИФН-λ обеспечивал длительную противовирусную защиту в верхних дыхательных путях и блокировал передачу вируса. Таким образом, ИФН-λ выполняет решающую и избыточную функцию в верхних дыхательных путях, что значительно ограничивает передачу респираторных вирусов наивным контактам [26]. Кроме того, экзогенный ИФН-λ способствовал уменьшению тяжести заболевания, снижению титра вируса и воспалительного ответа в легких мышей, инфицированных метапневмовирусом человека [6].

На мышинной модели гриппа показано, что *Staphylococcus epidermidis*, который является одним из наиболее распространенных колонизаторов здоровой слизистой оболочки человека, в том числе в дыхательных путях, предотвращал распространение вируса гриппа в легкие путем модуляции ИФН-λ-зависимых врожденных иммунных механизмов в слизистой оболочке носа. Это наглядно демонстрирует роль бактериального комменсализма хозяина в формировании противовирусных реакций человека [24]. Мыши, получавшие с пищей молочнокислые бактерии, которые активируют плазмоцитойдные дендритные клетки мыши и человека для экспрессии интерферонов I и III типа, показали значительное улучшение выживаемости, предотвращение потери веса и снижение показателей гистопато-

логии легких по сравнению с контрольными животными при инфицировании вирусом парагриппа мышей. Возможно, это происходит благодаря тому, что ИФН, экспрессируемые в кишечнике, могут доставляться в легкие и индуцировать ИФН-стимулируемые гены в легких [23].

Однако в отношении возможного будущего использования ИФН-λ при лечении гриппа следует проявлять осторожность, поскольку показано, что при серийных пассажах на линии клеток эпителия легких человека (Calu-3) в присутствии возрастающих концентраций рекомбинантного ИФН-λ1 вирус гриппа (штамм A/California/04/09, H1N1) развивал две мутации нейраминидазы, которые снижали чувствительность вируса гриппа к ИФН-λ более чем в 20 раз [22]. Кроме того, необходимо учитывать, что распространенным осложнением гриппа является бактериальная суперинфекция, которая усугубляет заболеваемость и смертность от вирусных заболеваний. ИФН-λ, индуцированный вирусом гриппа, способствует колонизации носа и последующей пневмонии вследствие суперинфекции *S. aureus* [47], а терапевтический ИФН-λ ухудшает бактериальный (*S. aureus* и *Streptococcus pneumoniae*) клиренс при гриппе [49]. Это согласуется с предположением, что ИФН-λ снижает подвижность и функцию нейтрофилов в зараженном гриппом легком, что увеличивает бактериальную нагрузку во время суперинфекции [49]. Более того, на мышинной модели летального сепсиса, вызванного перевязкой слепой кишки и пункцией, показано, что нейтрализация ИФН-λ защищала мышей от летального сепсиса, что было связано с улучшенным бактериальным клиренсом и усиленной инфильтрацией нейтрофилов. В то же время введение рекомбинантного ИФН-λ увеличивало смертность, облегчало бактериальную диссимиляцию и ограничивало рекрутирование нейтрофилов. Это исследование свидетельствует, что ИФН-λ играет роль «вредного» медиатора во время сепсиса, и предлагает рассматривать его как потенциальную терапевтическую мишень для иммунотерапии при сепсисе [37].

Противовирусный эффект экзогенного ИФН-λ выявлен и в **гематоэнцефалическом барьере**, который защищает центральную нервную систему от вредных воздействий: введение ИФН-λ делает гематоэнцефалический барьер непроницаемым. Таким образом экзогенный ИФН-λ защищает мышей от летальной вирусной инфекции лихорадки Западного Нила [31] и вируса желтой лихорадки [16], поскольку снижает проницаемость гематоэнцефалического барьера, ограничивая вирусную нейроинвазию, и понижает титры вируса в ЦНС. При этом в случае вируса

лихорадки Западного Нила использовался пегилированный ИФН-λ [31].

Примечательно, что противовирусной активности ИФН-λ против **гепатотропных вирусов**, таких как вирус лихорадки долины Рифт, вирус лихорадки Ласса или мутантный штамм вируса Thogoto, в экспериментах на мышах не выявлено [38, 39]. Однако в ходе дальнейших исследований обнаружено, что мышинные гепатоциты, в отличие от гепатоцитов человека, не отвечают на ИФН-λ *in vivo* [21]. Это означает, что результаты экспериментов по противовирусной активности, полученные на животных, надо проецировать на людей очень осторожно, принимая во внимание различия в ИФН-λ у мышей и человека. При этом, выполняя эксперименты на мышах, исследователи могут недооценивать роль ИФН-λ, поскольку у мышей, в отличие от человека, отсутствует ИФН-λ1 [30]. Наиболее ярким подтверждением этого является тот факт, что до клинических исследований к настоящему времени доведен только один препарат – пегилированный интерферон лямбда-1a (PEG-IFN-λ1a, BMS-914143) компании Bristol-Myers Squibb (США) для лечения больных хроническим гепатитом С [44].

Пегилированный ИФН-λ. Запатентованный компанией ZymoGenetics и Bristol-Myers Squibb (США) препарат ИФН-λ представляет собой химически пегилированный рекомбинантный ИФН-λ для парентерального введения. Он предназначен для лечения и профилактики вирусных гепатитов у не получавшего лекарственной терапии человека, который инфицирован или для которого существует риск инфекции [20]. Препарат рассматривался в качестве более безопасной альтернативы лекарственным препаратам ИФН-α при лечении некоторых вирусных инфекций. Начаты клинические исследования, направленные на лечение гепатита В [46] и гепатита С [18, 42], которые продемонстрировали, что пегилированный ИФН-λ имеет действительно более высокий профиль безопасности по сравнению с пегилированным ИФН-α [12, 41], однако он признан менее эффективным в лечении этих инфекций, чем недавно появившиеся препараты прямого противовирусного действия [44]. Тем не менее работы по поиску вариантов рекомбинантного ИФН-λ продолжаются [64].

В России также разработан ИФН-λ, пегилированный посредством технологии электронно-лучевого синтеза [1]; полученный препарат сохраняет свою противовирусную активность в отношении вируса гепатита С, при этом его главное отличие от зарубежного аналога, требующего подкожного введения в течение длительного времени, заключается в возможности перорального

использования, поскольку его биодоступность при пероральном применении составляет не менее 10 % [1].

Заключение

По результатам проведенных с момента открытия ИФН-λ исследований ни у кого не возникает сомнений, что ИФН-λ полифункциональны. Достаточно широко и подробно изучена роль ИФН-λ как интерферона, подавляющего вирусные инфекции на поверхностях анатомических барьеров дыхательных путей, желудочно-кишечного тракта, гематоэнцефалического барьера и печени. Относительно недавно появились работы об иммуномодулирующей роли ИФН-λ и его прямых и опосредованных эффектах на функции иммунных клеток в различных воспалительных условиях, объяснившие тем самым более высокий профиль безопасности по сравнению с нежелательными провоспалительными эффектами ИФН-α. Интересные данные в области онкологии и аутоиммунной патологии, а также наличие готовых пегилированных форм ИФН-λ, уже прошедших клинические исследования и показавших в них более высокий профиль безопасности, чем пегилированный ИФН-α, открывают научные и клинические горизонты для изучения и применения ИФН-λ. При этом необходимо быть аккуратными и внимательными при разработке новых лекарственных средств на основе ИФН-λ, поскольку механизмы его действия до конца не изучены и могут выявиться неожиданные побочные действия новых препаратов.

Список литературы / References

1. Артамонов А.В., Бекарев А.А., Дыгай А.М., Жданов В.В., Киншт Д.Н., Мадонов П.Г., Шерстобоев Е.Ю. Пегилированный интерферон лямбда, обладающий высокой биодоступностью при пероральном применении, и способ его получения. Пат. РФ 2678332; Оpubл. 28.01.2019.
Artamonov A.V., Bekarev A.A., Dygai A.M., Zhdanov V.V., Kinsht D.N., Madonov P.G., Sherstoboev E.Yu. Pegylated interferon lambda for oral administration, and method for producing same. Patent 2678332 RF; Publ. 28.01.2019. [In Russian].
2. Григорян С.С. Интерфероны лямбда (3-й тип интерферонов) и вирусные инфекции. *Интерферон-2011*: сб. науч. ст. М., 2012. 512 с.
Grigoryan S.S. Interferon lambda (3rd type of interferons) and viral infections. *Interferon-2011*: coll. sci. papers. Moscow, 2012. 512. P. 63–72. [In Russian].
3. Мальдов Д.Г., Андропова В.Л., Григорян С.С., Исаева Е.И., Балакина А.А., Терентьев А.А., Ильи-

чѐв А.В., Галегов Г.А. Механизм действия стимфорте на герпесвирусную инфекцию. *Вопр. вирусологии*. 2018; 63 (5): 218–222. doi: 10.18821/0507-4088-2018-63-5-218-223

Maldov D.G., Andronova V.L., Grigoryan S.S., Isaeva E.I., Balakina A.A., Terentev A.A., Ilichev A.V., Galegov G.A. The mechanism of stimforte action on herpesvirus infection. *Voprosy virusologii = Problems of Virology*. 2018; 63 (5): 218–222. [In Russian]. doi: 10.18821/0507-4088-2018-63-5-218-223

4. Ank N., West H., Bartholdy C., Eriksson K., Thomsen A.R., Paludan S.R. Lambda interferon (IFN-lambda), a type III IFN, is induced by viruses and IFNs and displays potent antiviral activity against select virus infections *in vivo*. *J. Virol.* 2006; 80 (9): 4501–4509. doi: 10.1128/JVI.80.9.4501-4509.2006

5. Bandi P., Pagliaccetti N.E., Robek M.D. Inhibition of type III interferon activity by orthopoxvirus immunomodulatory proteins. *J. Interferon Cytokine Res.* 2010; 30 (3): 123–134. doi: 10.1089/jir.2009.0049

6. Baños-Lara Mdel R., Harvey L., Mendoza A., Simms D., Chouljenko V.N., Wakamatsu N., Kousoulas K.G., Guerrero-Plata A. Impact and regulation of lambda interferon response in human metapneumovirus infection. *J. Virol.* 2015; 89 (1): 730–742. doi: 10.1128/JVI.02897-14

7. Bartlett N.W., Buttigieg K., Kotenko S.V., Smith G.L. Murine interferon lambdas (type III interferons) exhibit potent antiviral activity *in vivo* in a poxvirus infection model. *J. Gen. Virol.* 2005; 86 (6): 1589–1596. doi: 10.1099/vir.0.80904-0

8. Blazek K., Eames H.L., Weiss M., Byrne A.J., Perocheau D., Pease J.E., Doyle S., McCann F., Williams R.O., Udalova I.A. IFN- λ resolves inflammation via suppression of neutrophil infiltration and IL-1b production. *J. Exp. Med.* 2015; 212: 845–853. doi: 10.1084/jem.20140995

9. Caine E.A., Scheaffer S.M., Arora N., Zaitsev K., Artyomov M.N., Coyne C.B., Moley K.H., Diamond M.S. Interferon lambda protects the female reproductive tract against Zika virus infection. *Nat. Commun.* 2019; 10 (1): 280. doi: 10.1038/s41467-018-07993-2

10. Carrick D.M. Interferon lambda: an immune system factor that cancer epidemiologists should consider. *J. Interferon. Cytokine Res.* 2019; 39 (10): 592–593. doi: 10.1089/jir.2019.0033 [Epub ahead of print]

11. Castillo-Martínez D., Juárez M., Patlán M., Páez A., Massó F., Amezcua-Guerra L.M. Type-III interferons and rheumatoid arthritis: Correlation between interferon lambda 1 (interleukin 29) and antimitigated citrullinated vimentin antibody levels. *Autoimmunity*. 2017; 50 (2): 82–85. doi: 10.1080/08916934.2017.1289181

12. Chan H.L.Y., Ahn S.H., Chang T.T., Peng C.Y., Wong D., Coffin C.S., Lim S.G., Chen P.J., Janssen H.L.A., Marcellin P., Serfaty L., Zeuzem S., Cohen D., Critelli L., Xu D., Wind-Rotolo M., Cooney E.; LIRA-B Study Team. Peginterferon lambda for the

treatment of HBeAg-positive chronic hepatitis B: A randomized phase 2b study (LIRA-B). *J. Hepatol.* 2016; 64 (5): 1011–1019. doi: 10.1016/j.jhep.2015.12.018

13. Cui L., Yu F., Ma J., Pei H., Zuo L. Effects of DENV-2 infection on the expression of IL-29 in primary HUVECs cultured on hydrogel substrates. *Chinese Journal of Microbiology and Immunology (China)*. 2015; 35 (1): 7–13. doi: 10.3760/cma.j.is.n.0254-5101.2015.01.002

14. Dantas A.T., Gonçalves S.M., Pereira M.C., de Almeida A.R., Marques C.D., Rego M.J., Pitta Ida R., Duarte A.L., Pitta M.G. Interferons and systemic sclerosis: correlation between interferon gamma and interferon-lambda 1 (IL-29). *Autoimmunity*. 2015; 48 (7): 429–433. doi: 10.3109/08916934.2015.1054028

15. Davidson S., McCabe T.M., Crotta S., Gad H.H., Hessel E.M., Beinke S., Hartmann R., Wack A. IFN λ is a potent anti-influenza therapeutic without the inflammatory side effects of IFN α treatment. *EMBO Mol. Med.* 2016; 8 (9): 1099–112. doi: 10.15252/emmm.201606413

16. Douam F., Soto Albrecht Y.E., Hrebikova G., Sadimin E., Davidson C., Kotenko S.V., Ploss A. Type III interferon-mediated signaling is critical for controlling live attenuated yellow fever virus infection *in vivo*. *MBio*. 2017; 8 (4): e00819-17. doi: 10.1128/mBio.00819-17

17. Espinosa V., Dutta O., McElrath C., Du P., Chang Y.J., Cicciarelli B., Pitler A., Whitehead I., Obar J.J., Durbin J.E., Kotenko S.V., Rivera A. Type III interferon is a critical regulator of innate antifungal immunity. *Sci. Immunol.* 2017; 2 (16): eaan5357. doi: 10.1126/sciimmunol.aan53

18. Flisiak R., Shiffman M., Arenas J., Cheinquer H., Nikitin I., Dong Y., Rana K., Srinivasan S. A randomized study of peginterferon lambda-1a compared to peginterferon alfa-2a in combination with ribavirin and telaprevir in patients with genotype-1 chronic hepatitis C. *PLoS One*. 2016; 11 (10): e0164563. doi: 10.1371/journal.pone.0164563

19. Ha Y.J., Choi Y.S., Kang E.H., Chung J.H., Cha S., Song Y.W., Lee Y.J. Increased expression of interferon- λ in minor salivary glands of patients with primary Sjögren's syndrome and its synergic effect with interferon- α on salivary gland epithelial cells. *Clin. Exp. Rheumatol.* 2018; 36 (Suppl. 112, 3): 31–40.

20. Hausman D.F., Dodds M.G. Use of pegylated type III interferons for the treatment of hepatitis C. Patent WO2009149377A1; Publ. 10.12.2009.

21. Hermant P., Michiels T. Interferon- λ in the context of viral infections: production, response and therapeutic implications. *J. Innate Immun.* 2014; 6: 563–574. doi: 10.1159/000360084

22. Ilyushina N.A., Lugovtsev V.Y., Samsonova A.P., Sheikh F.G., Bovin N.V., Donnelly R.P. Generation and characterization of interferon-lambda 1-resistant H1N1 influenza A viruses. *PLoS One*. 2017; 12 (7): e0181999. doi: 10.1371/journal.pone.0181999

23. Jounai K., Sugimura T., Ohshio K., Fujiwara D. Oral administration of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* JCM5805 enhances lung immune response resulting in protection from murine parainfluenza virus infection. *PLoS One*. 2015; 10 (3): e0119055. doi: 10.1371/journal.pone.0119055
24. Kim H.J., Jo A., Jeon Y.J., An S., Lee K.M., Yoon S.S., Choi J.Y. Nasal commensal *Staphylococcus epidermidis* enhances interferon- λ -dependent immunity against influenza virus. *Microbiome*. 2019; 7 (1): 80. doi: 10.1186/s40168-019-0691-9
25. Kim S., Kim M.J., Kim C.H., Kang J.W., Shin H.K., Kim D.Y., Won T.B., Han D.H., Rhee C.S., Yoon J.H., Kim H.J. The superiority of IFN- λ as a therapeutic candidate to control acute influenza viral lung infection. *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol*. 2017; 56 (2): 202–212. doi: 10.1165/rcmb.2016-0174OC
26. Klinkhammer J., Schnepf D., Ye L., Schwadlerlapp M., Gad H.H., Hartmann R., Garcin D., Mahlaköiv T., Staeheli P. IFN- λ prevents influenza virus spread from the upper airways to the lungs and limits virus transmission. *Elife*. 2018; 7: e33354. doi: 10.7554/eLife.33354
27. Koch S., Finotto S. Role of interferon-I in allergic asthma. *J. Innate Immun*. 2015; 7: 224–230. doi: 10.1159/000369459
28. Kottenko S.V., Gallagher G., Baurin V.V., Lewis-Antes A., Shen M., Shah N.K., Langer J.A., Sheikh F., Dickensheets H., Donnelly R.P. IFN-lambdas mediate antiviral protection through a distinct class II cytokine receptor complex. *Nat. Immunol*. 2003; 4 (1): 69–77. doi: 10.1038/ni875
29. Lasfar A., Zloza A., Silk A.W., Lee L.Y., Cohen-Solal K.A. Interferon lambda: toward a dual role in cancer. *J. Interferon Cytokine Res*. 2019; 39 (1): 22–29. doi: 10.1089/jir.2018.0046
30. Lazear H.M., Nice T.J., Diamond M.S. Interferon- λ : immune functions at barrier surfaces and beyond. *Immunity*. 2015; 43 (1): 15–28. doi: 10.1016/j.immuni.2015.07.001
31. Lazear H.M., Daniels B.P., Pinto A.K., Huang A.C., Vick S.C., Doyle S.E., Gale M.Jr., Klein R.S., Diamond M.S. Interferon- λ restricts West Nile virus neuroinvasion by tightening the blood-brain barrier. *Sci. Transl. Med*. 2015; 7: 284ra59. doi: 10.1126/scitranslmed.aaa4304
32. Lazear H.M., Schoggins J.W., Diamond M.S. Shared and distinct functions of type I and type III interferons. *Immunity*. 2019; 50 (4): 907–923. doi: 10.1016/j.immuni.2019.03.025
33. Lee S., Baldrige M.T. Interferon-lambda: a potent regulator of intestinal viral infections. *Front. Immunol*. 2017; 8: 749. doi: 10.3389/fimmu.2017.00749
34. Lee S.J., Lee E.J., Kim S.K., Jeong P., Cho Y.H., Yun S.J., Kim S., Kim G.Y., Choi Y.H., Cha E.J., Kim W.J., Moon S.K. Identification of pro-inflammatory cytokines associated with muscle invasive bladder cancer; the roles of IL-5, IL-20, and IL-28A. *PLoS One*. 2012; 7 (9): e40267. doi: 10.1371/journal.pone.0040267
35. Li L., Fu F., Xue M., Chen W., Liu J., Shi H., Chen J., Bu Z., Feng L., Liu P. IFN-lambda preferably inhibits PEDV infection of porcine intestinal epithelial cells compared with IFN-alpha. *Antiviral Res*. 2017; 140: 76–82. doi: 10.1016/j.antiviral.2017.01.012
36. Li Z., Lu X., Zhu Y., Cheng P., Liu S., Zhang Y., Tang J., Yang S., Zhou L. Lambda-interferons inhibit herpes simplex virus type 2 replication in human cervical epithelial cells by activating the JAK/STAT pathway. *Jpn. J. Infect. Dis*. 2017; 70 (4): 416–422. doi: 10.7883/yoken.JJID.2016.465
37. Luo Q., Liu Y., Liu S., Yin Y., Xu B., Cao J. Interleukin 28 is a potential therapeutic target for sepsis. *Clin. Immunol*. 2019; 205: 29–34. doi: 10.1016/j.clim.2019.05.012
38. Mordstein M., Kochs G., Dumoutier L., Renauld J.C., Paludan S.R., Klucher K., Staeheli P. Interferon-lambda contributes to innate immunity of mice against influenza A virus but not against hepatotropic viruses. *PLoS Pathog*. 2008; 4: e1000151. doi: 10.1371/journal.ppat.1000151
39. Mordstein M., Neugebauer E., Ditt V., Jessen B., Rieger T., Falcone V., Sorgeloos F., Ehl S., Mayer D., Kochs G. Lambda interferon renders epithelial cells of the respiratory and gastrointestinal tracts resistant to viral infections. *J. Virol*. 2010; 84: 5670–5677. doi: 10.1128/JVI.00272-10
40. Mucha J., Majchrzak K., Taciak B., Hellmén E., Król M. MDSCs mediate angiogenesis and predispose canine mammary tumor cells for metastasis via IL-28/IL-28RA (IFN- λ) signaling. *PLoS ONE*. 2014; 9 (7): e103249. doi: 10.1371/journal.pone.0103249
41. Muir A.J., Arora S., Everson G., Flisiak R., George J., Ghalib R., Gordon S.C., Gray T., Greenbloom S., Hassanein T., Hillson J., Horga M.A., Jacobson I.M., Jeffers L., Kowdley K.V., Lawitz E., Lueth S., Rodriguez-Torres M., Rustgi V., Shemanski L., Shiffman M.L., Srinivasan S., Vargas H.E., Vierling J.M., Xu D., Lopez-Talavera J.C., Zeuzem S. EMERGE study group. A randomized phase 2b study of peginterferon lambda-1a for the treatment of chronic HCV infection. *J. Hepatol*. 2014; 61 (6): 1238–1246. doi: 10.1016/j.jhep.2014.07.022
42. Nelson M., Rubio R., Lazzarin A., Romanova S., Luetkemeyer A., Conway B., Molina J.M., Xu D., Srinivasan S., Portsmouth S. Safety and efficacy of pegylated interferon lambda, ribavirin, and daclatasvir in HCV and HIV-coinfected patients. *J. Interferon Cytokine Res*. 2017; 37 (3): 103–111. doi: 10.1089/jir.2016.0082
43. Nice T.J., Baldrige M.T., McCune B.T., Norman J.M., Lazear H.M., Artyomov M., Diamond M.S., Virgin H.W. Interferon- λ cures persistent murine norovirus infection in the absence of adaptive immunity. *Science*. 2015; 347: 269–273. doi: 10.1126/science.1258100

44. O'Brien T.R., Young H.A., Donnelly R.P., Prokunina-Olsson L. Meeting overview: interferon lambda-disease impact and therapeutic potential. *J. Interferon Cytokine Res.* 2019; 39 (10): 586–591. doi: 10.1089/jir.2019.0018
45. Oke V., Brauner S., Larsson A., Gustafsson J., Zickert A., Gunnarsson I., Svenungsson E. IFN- λ 1 with Th17 axis cytokines and IFN- α define different subsets in systemic lupus erythematosus (SLE). *Arthritis Res. Ther.* 2017; 19 (1): 139–151. doi: 10.1186/s13075-017-1344-7
46. Phillips S., Mistry S., Riva A., Cooksley H., Hadzhiolova-Lebeau T., Plavova S., Katzarov K., Simonova M., Zeuzem S., Woffendin C., Chen P.J., Peng C.Y., Chang T.T., Lueth S., de Knecht R., Choi M.S., Wedemeyer H., Dao M., Kim C.W., Chu H.C., Wind-Rotolo M., Williams R., Cooney E., Chokshi S. Peg-interferon lambda treatment induces robust innate and adaptive immunity in chronic hepatitis b patients. *Front. Immunol.* 2017; 8: 621. doi: 10.3389/fimmu.2017.00621
47. Planet P.J., Parker D., Cohen T.S., Smith H., Leon J.D., Ryan C., Hammer T.J., Fierer N., Chen E.I., Prince A.S. Lambda interferon restructures the nasal microbiome and increases susceptibility to *Staphylococcus aureus* superinfection. *MBio.* 2016; 7 (1): e01939-15. doi: 10.1128/mBio.01939-15
48. Pott J., Mahlaköiv T., Mordstein M., Duerr C.U., Michiels T., Stockinger S., Staeheli P., Hornef M.W. IFN-lambda determines the intestinal epithelial antiviral host defense. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2011; 108 (19): 7944–7949. doi: 10.1073/pnas.1100552108
49. Rich H.E., McCourt C.C., Zheng W.Q., McHugh K.J., Robinson K.M., Wang J., Alcorn J.F. Interferon lambda inhibits bacterial uptake during influenza superinfection. *Infect. Immun.* 2019; 87 (5): e00114–19. doi: 10.1128/IAI.00114-19
50. Rivera A. Interferon lambda's new role as regulator of neutrophil function. *J. Interferon Cytokine Res.* 2019; 39 (10): 609–617. doi: 10.1089/jir.2019.0036
51. Rocha-Pereira J., Jacobs S., Noppen S., Verbeken E., Michiels T., Neyts J. Interferon lambda (IFN- λ) efficiently blocks norovirus transmission in a mouse model. *Antiviral Res.* 2018; 149: 7–15. doi: 10.1016/j.antiviral.2017
52. Sauerhering L., Müller H., Behner L., Elvert M., Fehling S.K., Strecker T., Maisner A. Variability of interferon- λ induction and antiviral activity in Nipah virus infected differentiated human bronchial epithelial cells of two human donors. *J. Gen. Virol.* 2017; 98 (10): 2447–2453. doi: 10.1099/jgv.0.000934
53. Sheppard P.O., Fox B.A., Klucher K.M., Taft D.W., Kindsvogel W.R. Cytokine protein family. Patent WO2002086087 US; Publ. 31.10.2002.
54. Sheppard P., Kindsvogel W., Xu W., Henderson K., Schlutsmeyer S., Whitmore T.E., Kuestner R., Garrigues U., Birks C., Roraback J., Ostrander C., Dong D., Shin J., Presnell S., Fox B., Haldeman B., Cooper E., Taft D., Gilbert T., Grant F.J., Tackett M., Krivan W., Mcknight G., Clegg C., Foster D., Klucher K.M. IL-28, IL-29 and their class II cytokine receptor IL-28R. *Nat. Immunol.* 2003; 4: 63–68. doi: 10.1038/ni873
55. Swamy M., Abeler-Dörner L., Chettle J., Mahlaköiv T., Goubau D., Chakravarty P., Ramsay G., Reis E., Sousa C., Staeheli P., Blacklaws B.A., Heeney J.L., Hayday A.C. Intestinal intraepithelial lymphocyte activation promotes innate antiviral resistance. *Nat. Commun.* 2015; 6: 7090. doi: 10.1038/ncomms8090
56. Taniguchi M., Yanagi Y., Ohno S. Both type I and type III interferons are required to restrict measles virus growth in lung epithelial cells. *Arch. Virol.* 2019; 164 (2): 439–446. doi: 10.1007/s00705-018-4087-0
57. Wang X., Wang H., Liu M.Q., Li J.L., Zhou R.H., Zhou Y., Wang Y.Z., Zhou W., Ho W.Z. IFN- λ inhibits drug-resistant HIV infection of macrophages. *Front. Immunol.* 2017; 8: 210. doi: 10.3389/fimmu.2017.00210
58. Wieland S.F., Heim M.H. The IFN- λ pony express. *Nat. Immunol.* 2019; 20 (5): 522–524. doi: 10.1038/s41590-019-0362-9
59. Wolk K., Witte K., Witte E., Raftery M., Kokolakis G., Philipp S., Schonrich G., Warszawska K., Kirsch S., Prosch S., Sterry W., Volk H.D., Sabat R. IL-29 is produced by T(H)17 cells and mediates the cutaneous antiviral competence in psoriasis. *Sci. Transl. Med.* 2013; 5 (204): 204–129. doi: 10.1126/scitranslmed.3006245
60. Won J., Gil C.H., Jo A., Kim H.J. Inhaled delivery of Interferon-lambda restricts epithelial-derived Th2 inflammation in allergic asthma. *Cytokine.* 2019; 119: 32–36. doi: 10.1016/j.cyto.2019.02.010
61. Wongthida P., Diaz R.M., Galivo F., Kottke T., Thompson J., Pulido J., Pavelko K., Pease L., Melcher A., Vile R. Type III IFN interleukin-28 mediates the antitumor efficacy of oncolytic virus VSV in immune-competent mouse models of cancer. *Cancer Res.* 2010; 70 (11): 4539–4549. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-09-4658
62. Yang K., Puel A., Zhang S., Eidenschenk C., Ku C.L., Casrouge A., Picard C., von Bernuth H., Senechal B., Plancoulaine S., Al-Hajjar S., Al-Ghonaium A., Maródi L., Davidson D., Speert D., Roifman C., Garty B.Z., Ozinsky A., Barrat F.J., Coffman R.L., Miller R.L., Li X., Lebon P., Rodriguez-Gallego C., Chapel H., Geissmann F., Jouanguy E., Casanova J.L. Human TLR-7-, -8-, and -9-mediated induction of IFN-alpha/beta and -lambda is IRAK-4 dependent and redundant for protective immunity to viruses. *Immunity.* 2005; 23 (5): 465–478. doi: 10.1016/j.immuni.2005.09.016
63. Ye L., Schnepf D., Becker J., Ebert K., Tanriver Y., Bernasconi V., Gad H.H., Hartmann R., Lycke N., Staeheli P. Interferon- λ enhances adaptive mucosal immunity by boosting release of thymic stromal lymphopoietin. *Nat. Immunol.* 2019; 20 (5): 593–601. doi: 10.1038/s41590-019-0345-x

64. Yu D., Zhao M., Dong L., Zhao L., Zou M., Sun H., Zhang M., Liu H., Zou Z. Design and evaluation of novel interferon lambda analogs with enhanced antiviral activity and improved drug attributes . *Drug. Des. Devel. Ther.* 2016; 10: 163–182. doi: .2147/DDDT.S91455

Сведения об авторах:

Николай Андреевич Кихтенко, e-mail: dr.kikhtenko@gmail.com

Лариса Алексеевна Олейник, e-mail: larysa.oleynik@gmail.com

Вячеслав Константинович Макаров, e-mail: kaffarm@yandex.ru

Елизавета Петровна Нагорская, e-mail: kaffarm@yandex.ru

Павел Геннадьевич Мадонов, д.м.н., e-mail: pmadonov@yandex.ru

Information about the authors:

Nikolai A. Kikhtenko, e-mail: dr.kikhtenko@gmail.com

Larisa A. Oleynik, e-mail: larysa.oleynik@gmail.com

Vyacheslav K. Makarov, e-mail: kaffarm@yandex.ru

Elizaveta P. Nagorskaya, e-mail: kaffarm@yandex.ru

Pavel G. Madonov, doctor of medical sciences, e-mail: pmadonov@yandex.ru

Поступила в редакцию 04.12.2019

После доработки 24.12.2019

Принята к публикации 02.03.2020

Received 04.12.2019

Revision received 24.12.2019

Accepted 02.03.2020

Экспериментальная модель интоксикации лабораторных животных продуктами пиролиза полиакрилонитрила

П.Г. Толкач¹, В.А. Башарин¹, С.В. Чепур², Т.В. Горбачёва¹, М.А. Чайкина¹

¹ Военно-медицинская академия имени С.М. Кирова Минобороны России
194044, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, 6

² Государственный научно-исследовательский испытательный институт
военной медицины Минобороны России
195043, г. Санкт-Петербург, ул. Лесопарковая, 4

Резюме

Цель исследования – разработать экспериментальную модель интоксикации лабораторных животных продуктами пиролиза полиакрилонитрила. **Материал и методы.** Исследование выполняли на крысах. Проводили пиролиз полиакрилонитрильных волокон при температуре 270–350 °С. Животных подвергали статической ингаляционной интоксикации продуктами пиролиза в течение 15 мин. Определяли показатели витальных функций до интоксикации и через 5 мин после нее. Оценивали индекс оксигенации артериальной крови и параметры кислотно-основного состояния через 10 мин после воздействия. Содержание цианидов в образцах головного мозга и миокарда, полученных через 15 мин после интоксикации, определяли методом газовой хроматографии. **Результаты и их обсуждение.** Установлено, что масса навески материала (содержащего 85 % полиакрилонитрила), продукты пиролиза которого приводят к гибели 50 % лабораторных животных в течение 24 ч после воздействия, составляет $0,81 \pm 0,15$ г. При воздействии продуктов пиролиза, полученных в заданных условиях, у крыс выявляли признаки отравления веществами общедовитого действия. Отмечали выраженную брадикардию и брадипноэ ($p < 0,05$), значимое снижение ректальной температуры. По параметрам оксигенации животные не отличались ($p > 0,05$) от крыс контрольной группы. В крови выявляли признаки декомпенсированного метаболического ацидоза. В биопробах головного мозга и сердечной мышцы обнаруживали пик цианидов с временем удержания 3,78 мин. Разработана экспериментальная модель, в которой ингаляционное воздействие продуктов пиролиза полиакрилонитрильных волокон приводило к тяжелой степени интоксикации лабораторных животных. Модель может быть использована для поиска средств этиотропной и патогенетической терапии отравления продуктами горения азотсодержащих полимерных материалов.

Ключевые слова: продукты горения, полиакрилонитрил, цианистый водород, экспериментальная модель, интоксикация, витальные функции.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Автор для переписки: Толкач П.Г., e-mail: pgtolkach@gmail.com

Для цитирования: Толкач П.Г., Башарин В.А., Чепур С.В., Горбачёва Т.В., Чайкина М.А. Экспериментальная модель интоксикации лабораторных животных продуктами пиролиза полиакрилонитрила. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2020; 40 (2): 24–30. doi: 10.15372/SSMJ20200203

The experimental model of laboratory animals' intoxication by polyacrylonitrile pyrolysis products

P.G. Tolkach¹, V.A. Basharin¹, S.V. Chepur², T.V. Gorbacheva¹, M.A. Chaykina¹

¹ Military Medical Academy n.a. S.M. Kirov of Ministry of Defense of Russia
194044, Saint-Petersburg, Akademika Lebedeva str., 6

² State Research Institute of Military Medicine of Ministry of Defense of Russia
195043, Saint-Petersburg, Lesoparkovaya str., 4

Abstract

Purpose of research – To develop an experimental model of intoxication of laboratory animals by polyacrylonitrile pyrolysis products. **Materials and methods.** The study was performed on the rats. Pyrolysis of polyacrylonitrile fibers was carried out at temperature of 270–350 °C. The laboratory animals were exposed to static inhalation intoxication by pyrolysis products for 15 min. Vital signs were determined in animals before and 5 minutes after intoxication. Arterial blood oxygenation index and acid-base state parameters were evaluated at 10 min after exposure. Qualitative detection of cyanides in brain and myocardial samples obtained 15 minutes after intoxication was carried out by gas chromatography. **Results and discussion.** It was found that the weight of the material (containing 85 % polyacrylonitrile), which pyrolysis products lead to the death of 50 % of laboratory animals within 24 hours after exposure, was 0.81 ± 0.15 g. The animals showed signs of poisoning by substances interrupting the processes of cell bioenergy when exposed to pyrolysis products obtained under specified conditions. The evident bradycardia and bradypnea ($p < 0,05$), and significant decrease in rectal temperature was marked. The exposed animals did not differ ($p > 0,05$) from the rats of the control group by the parameters of oxygenation. The signs of decompensated metabolic acidosis were detected in blood. The cyanide peak was detected by gas chromatography with a retention time of 3.78 min in brain and heart muscle biopsies. The experimental model, in which inhalation exposure of pyrolysis products of polyacrylonitrile fibers led to severe intoxication of laboratory animals, was developed. The model can be used to search for means of etiotropic and pathogenetic therapy of poisoning by combustion products of nitrogen-containing polymeric materials.

Key words: products of pyrolysis, polyacrylonitrile, hydrogen cyanide, the experimental model, intoxication, vital functions.

Conflict of interests. Authors declare lack of the possible conflicts of interests.

Correspondence author: Tolkach P.G., e-mail: pgtolkach@gmail.com

Citation: Tolkach P.G., Basharin V.A., Chepur S.V., Gorbacheva T.V., Chaykina M.A. The experimental model of laboratory animals' intoxication by polyacrylonitrile pyrolysis products. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal* = *Siberian Scientific Medical Journal*. 2020; 40 (2): 24–30. [In Russian]. doi: 10.15372/SSMJ20200203

Введение

Проблема утяжеления исходов поражения на пожарах вследствие действия химического фактора весьма актуальна в современном мире. Спектр веществ, образующихся при горении различных материалов, весьма разнообразен и зависит, в первую очередь, от исходного состава вещества, подвергнутого пиролизу [10]. Так, при горении всех углеродсодержащих материалов в атмосферу выделяется оксид и диоксид углерода [1], при горении хлорсодержащих полимеров (поливинилхлорид) – хлороводород, обладающий пульмонотоксическим действием [6, 7]. При горении азотсодержащих материалов, например полиакрилонитрила, образуется большое количество цианистого водорода (HCN) [14].

Полиакрилонитрил ($[-CH_2CH(CN)-]_n$) – линейный полимер акрилонитрила белого цвета. Практически весь синтезируемый полимер используют для получения синтетических волокон (нитрон, акрилан, кашмилон, экслан и др.), содержащих более 75 % по массе полиакрилонитрила [8]. Полиакрилонитриловые волокна нашли широкое применение в технике и быту: технические ткани типа «искусственной шерсти», рыболовные сети, транспортные ленты и др. [9]. При нагревании полиакрилонитрила на воздухе (в интервале температур 180–300 °C) происходят тер-

мохимические изменения полимера, сопровождающиеся поглощением O_2 и выделением CO , CO_2 , H_2O и NH_3 (при температурах около 220 °C), а также цианистого водорода (при температуре более 270 °C) [8]. Цианистый водород – сильно полярная молекула с молярной массой 27,03 г/моль, бесцветный газ, обладающий запахом горького миндаля. Токсичный эффект цианистого водорода при ингаляционном поступлении зависит от его концентрации во вдыхаемом воздухе и экспозиции [9]. Для человека $LC_{t_{50}}$ цианистого водорода при ингаляционном поступлении составляет 800–4000 ppm×мин [5]. Ингаляционное воздействие цианистого водорода на пострадавших в атмосфере пожара усугубляет дыхательную и гемическую гипоксию, обусловленную токсическим действием хлороводорода и оксида углерода [9].

Средства этиотропной терапии отравления цианидами, рекомендованные ВОЗ в рамках Международной программы химической безопасности, представлены амилнитритом, тиосульфатом натрия, 4-диметиламинофенолом, ЭДТА и гидроксикобаламином. Однако на сегодняшний день в Российской Федерации в качестве антидота доступен только натрия тиосульфат (Государственный реестр лекарственных средств (по состоянию на 6 августа 2019 г.)). Однако эффект данного вещества сопряжен с образованием роданидов и не влияет на результат уже состояв-

шегося до внутривенного введения антидота взаимодействия цианида с более специфическими мишенями [4].

Таким образом, приобретает актуальность поиск средств этиотропной терапии отравления продуктами горения, содержащими цианистый водород, для оценки эффективности которых необходимы экспериментальные модели патологического процесса.

Цель исследования – разработать экспериментальную модель интоксикации лабораторных животных продуктами пиролиза полиакрилонитрила.

Материал и методы

Исследование выполнили на лабораторных животных (крысах). При проведении экспериментов соблюдали требования нормативно-правовых актов о порядке экспериментальной работы с использованием животных, в том числе по гуманному отношению к ним. Для выполнения седации, аналгезии и выведения животных из эксперимента осуществляли внутрибрюшинное введение раствора зоветила (Verifarm, Франция).

Формировали две группы: контрольную и опытную. Регистрировали фоновые показатели и уровни их отклонений через 5 мин после интоксикации. В качестве материала для пиролиза использовали навеску полиакрилонитрильного волокна «искусственная шерсть», содержащего в своем составе 85 % полиакрилонитрила. Термическое разложение полимера осуществляли в камере для пиролиза при температуре 270–350 °C в течение 3 мин. Образовавшиеся продукты термодеструкции, содержащие цианистый водород (далее «продукты пиролиза»), путем естественной конвекции поступали в ингаляционную камеру объемом 100 л, в которую помещали животных опытной группы. Содержание цианистого водорода в ингаляционной камере определяли с помощью газоанализатора PortaSens II (API, США), оксида углерода и кислорода – при помощи газоанализатора «ДАХ-М» («Аналит-Прибор», Россия). Экспозиция токсикантов составляла 15 мин, после чего животных извлекали из камеры, и они дышали атмосферным воздухом. Крысы контрольной группы дышали атмосферным воздухом в ингаляционной камере в течение 15 мин.

Наблюдение за животными осуществляли до интоксикации, непосредственно во время нее и в течение 15 мин после воздействия. Регистрировали изменения общего состояния, положение тела в пространстве, ректальную температуру, частоту сердечных сокращений (ЧСС), частоту

дыхательных движений (ЧДД). Содержание карбоксигемоглобина в крови определяли спектрофотометрическим методом непосредственно после окончания интоксикации. Через 10 мин после воздействия из брюшной аорты в месте бифуркации забирали артериальную кровь и определяли индекс оксигенации ($IO = PaO_2/FiO_2$), сатурацию ($satO_2$) и показатели кислотнo-основного состояния при помощи прибора «iSTAT» («I-STAT Corporation», США). Содержание циановодорода, показывающего наличие цианидов в образцах головного мозга и миокарда, полученных через 15 мин после интоксикации, определяли методом газовой хроматографии. Пробы анализировали на газовом хроматографе Agilent 7890 (Agilent Technologies, США) с пламенно-ионизационным детектором и с парофазным пробоотборником Agilent 7697A (Agilent Technologies). Хроматографическая колонка – HP-FFAP, длина 50 м, диаметр 0,320 мм, толщина пленки 0,50 мкм. Температурный режим парофазного пробоотборника: температура печи 70 °C. Режим хроматографирования: скорость газа-носителя 2,0 мл/мин. Температура колонки – начальная 65 °C (1 мин), подъем температуры со скоростью 20 °C/мин до 150 °C с выдержкой при конечной температуре 14,75 мин. При пробоподготовке проб для анализа к биологическим объектам добавляли раствор серной кислоты для создания условий перевода цианидов в газообразный циановодород. Пик циановодорода идентифицировали по времени удерживания – 3,78 мин [2].

К сравнению полученных данных, распределенных по закону, отличному от нормального, применяли непараметрические критерии: U-критерий Манна – Уитни для несвязанных выборок, критерий Уилкоксона для связанных выборок. Данные в тексте представлены в виде медианы, нижнего и верхнего квартилей – Me [Q_1 ; Q_3]. Вывод о статистической значимости различий между группами делали при $p < 0,05$.

Результаты

В предварительной серии экспериментов методом пробит-анализа по Д. Финни установлено, что масса навески материала (содержащего 85 % полиакрилонитрила), продукты пиролиза которого (в ингаляционной камере объемом 100 л) приводят к гибели 50 % лабораторных животных в течение 24 ч после воздействия, составляет $0,81 \pm 0,15$ г. В дальнейших экспериментах использовали навеску материала массой 0,8 г.

При увеличении температуры пиролиза более 270 °C в ингаляционную камеру начинал поступать белый дым. В результате анализа газовоз-

душной смеси в ней были обнаружены цианистый водород в концентрации 90–120 ppm, оксид углерода – 900–1000 ppm; содержание кислорода в ингаляционной камере при одновременном нахождении в ней 6 животных в течение 15 мин снижалось не более чем на 0,5 об. %. При воздействии продуктов пиролиза, полученных в заданных условиях, суточная летальность составила 33 ± 17 %. Гибель животных регистрировали непосредственно при их нахождении в ингаляционной камере и в течение 15 мин после окончания интоксикации. После поступления дыма в ингаляционную камеру признаков их раздражающего действия не отмечали. Через 4,5 [4,2; 5,1] мин прослеживали увеличение двигательной активности животных с последующей атаксией через 7,5 [7,1; 8,1] мин. Далее отмечали появление у крыс мышечных подергиваний, переходящих в клоникотонические судороги (на 8,4 [7,8; 9,3] мин). Содержание карбоксигемоглобина в крови животных непосредственно после воздействия составило 52,5 [49; 57] %.

В течение первых 10 мин после воздействия у крыс фиксировали выраженную брадикардию и брадипноэ по сравнению с фоновыми значениями ($p = 0,02$), снижение ректальной температуры

($p = 0,04$) (табл. 1). Значимых изменений ИО и satO_2 в опытной группе по сравнению с животными контрольной группы не отмечено. Отмечали значимое уменьшение pH в артериальной крови, которое сопровождалось снижением ($p = 0,04$) избытка оснований (BEesf) и концентрации стандартного бикарбоната (HCO_3^-), при этом парциальное давление CO_2 в артериальной крови не изменялось ($p > 0,05$) (табл. 2). Полученные данные свидетельствуют о развитии у лабораторных животных декомпенсированного метаболического ацидоза.

При проведении газохроматографического исследования биопроб головного мозга и сердечной мышцы крыс, полученных через 15 мин после окончания воздействия, обнаруживали пик циановодорода с временем удержания 3,78 мин (рисунок).

Обсуждение

Проблема отравления цианидами весьма актуальна в наши дни. Цианосодержащие соединения широко распространены в промышленности (синтез полиакрилонитрила, искусственного каучука, извлечение драгоценных металлов из руды

Таблица 1. Показатели витальных функций животных и параметров оксигенации до и после интоксикации продуктами пиролиза полиакрилонитрила

Table 1. Animals vital function and oxygenation parameters before and after intoxication with polyacrylonitrile pyrolysis products

Группа	Время регистрации	ЧСС, раз/мин	ЧДД, раз/мин	Ректальная температура, °C	ИО	satO ₂ , %
Контроль	5 мин после ингаляции (n = 6)	424,8 [425,0; 446,0]	105,3 [100,0; 116,0]	32,2 [31,8; 33,2]	455,0 [352,0; 528,0]	97,0 [94,0; 99,0]
Опыт	Фон (n = 9)	460,0 [450,0; 470,0]	116,0 [110,0; 118,0]	33,1 [31,8; 34,1]	–	–
	5 мин после ингаляции (n = 6)	251,0 [151,0; 357,0]*	35,0 [24,0; 47,5]*	31,1 [30,5; 31,6]*	394,5 [285,0; 504,0]	91,0 [84,0; 98,0]

Примечание. * – отличие от соответствующего фонового значения статистически значимо при $p < 0,05$.

Таблица 2. Изменение параметров кислотно-основного состояния животных после интоксикации продуктами пиролиза полиакрилонитрила

Table 2. Change of parameters of acid-base state of animals after intoxication with polyacrylonitrile pyrolysis products

Группа	pH	pCO ₂ , мм рт. ст.	BEesf, ммоль/л	HCO ₃ ⁻ , ммоль/л
Контроль (n = 6)	7,42 [7,38; 7,46]	42,8 [36,9; 52,4]	3,6 [1,0; 6],0	27,8 [24,8; 31,1]
Опыт (n = 6)	7,26 [7,17; 7,31]*	32,7 [30,0; 38,5]	-12,0 [-17,0; -7,0]*	14,9 [11,1; 18,8]*

Примечание. * – отличие от величины соответствующего показателя группы контроля статистически значимо при $p < 0,05$.

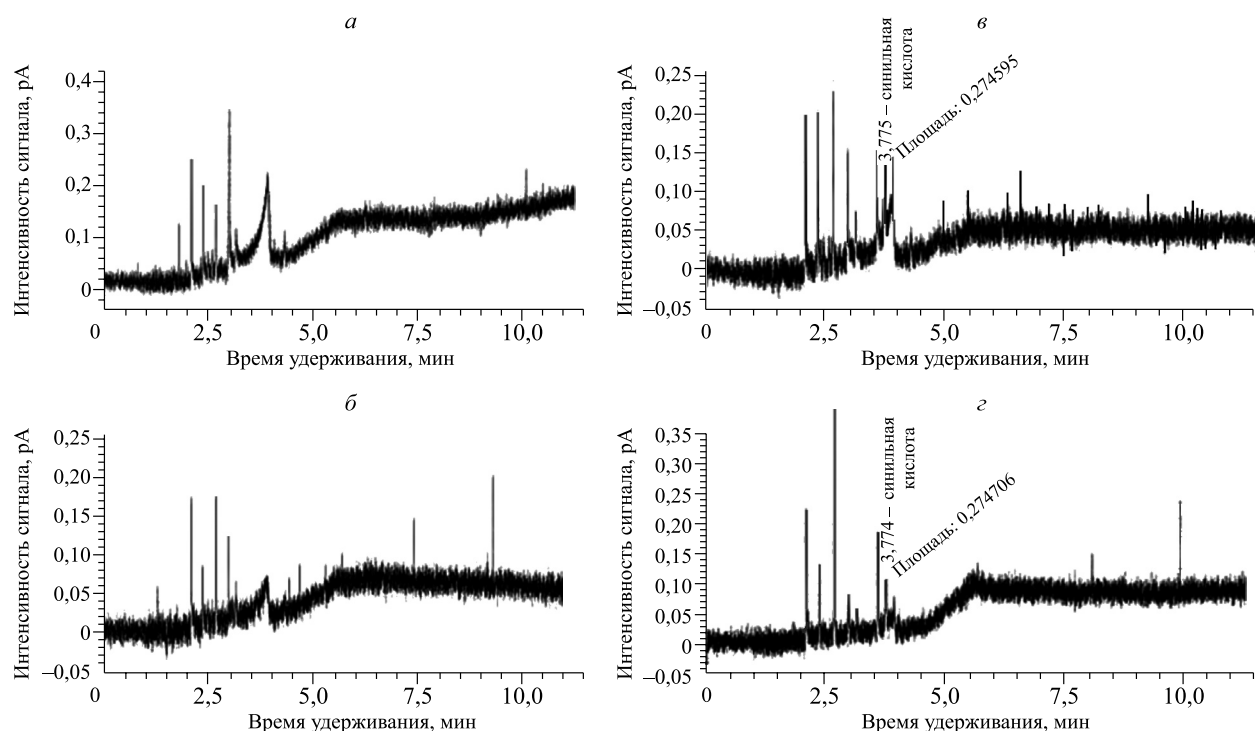


Рис. Хроматограмма проб головного мозга (а) и сердца (б) животных контрольной группы; головного мозга (в) и сердца (г) животных, подвергшихся интоксикации

Fig. Chromatogram of samples of the brain (а) and heart (б) of animals of the control group; brain (в) and heart (г) of animals were exposed

и пр.), этим обусловлен высокий риск возникновения случаев острых отравлений при аварийных ситуациях на соответствующих химически опасных объектах [3]. Однако в промышленных странах наиболее распространенная причина отравления цианидами – поражение продуктами горения азотсодержащих полимерных материалов, например полиакрилонитрила [12]. В экспериментах на приматах показано, что основным токсичный продукт горения полиакрилонитрила – цианистый водород [13]. Большинство из существующих антидотов цианидов не доступно к клиническому применению в Российской Федерации. Более того, многие из них (амилнитрит, ЭДТА, 4-диметиламинофенол) обладают выраженными побочными эффектами [4]. Воздействие цианистого водорода на пострадавших в условиях пожара сочетается с действием других химических продуктов горения (оксид углерода, хлороводород и др.), что приводит к суммированию токсического эффекта [11].

В настоящем исследовании показано, что при термической деструкции полиакрилонитрильных волокон (содержащих 85 % полиакрилонитрила) образуются цианистый водород и оксид углерода. При проведении статической ингаляционной интоксикации продуктами пиролиза у лаборатор-

ных животных регистрировали признаки отравления веществами общедовитого действия.

Цианистый водород легко проникает через аэрогематический барьер. Так как HCN хорошо растворим в воде, то после попадания в системный кровоток он превращается в синильную кислоту. HCN – слабая кислота, что способствует ее быстрой диссоциации в крови до протона и циан-иона [3]. Наряду с нарушением функционирования дыхательной цепи и накоплением неметаболизируемых продуктов компенсаторно активирующегося гликолиза этот фактор способствует значимому снижению pH, что прослежено в проведенном исследовании (табл. 2), и развитию метаболического ацидоза. Попадая в ткани, циан-ион связывается с трехвалентным железом цитохромоксидазы, что приводит к нарушению окислительного фосфорилирования и проявлению энергодифицита [13] и, в итоге, к нарушению витальных функций, что сопровождалось формированием брадикардии и снижением ректальной температуры (см. табл. 1). Наблюдаемое развитие брадикардии и тахипноэ в начальный период интоксикации может быть сопряжено с влиянием цианидов на рецепторы каротидного синуса, угнетение дыхания при значимом брадикардии – свидетельствовать о глубоком поражении ЦНС,

более восприимчивой к токсическому действию цианидов или об изменениях терминальной фазы с угнетением обеих витальных функций. Данный патологический каскад событий, вероятно, обуславливает летальные исходы у животных, в том числе непосредственно во время ингаляционной аппликации продуктов пиролиза акрилонитрила.

Содержание в крови животных карбоксигемоглобина соответствует средней степени тяжести интоксикации СО. Вместе с тем клинические проявления интоксикации и высокая летальность свидетельствуют о взаимном отягощении сочетанного гипоксического действия оксида углерода и цианистого водорода в составе продуктов пиролиза. Важно отметить, что сатурация кислорода и ИО у крыс опытной и контрольной групп не различались, что свидетельствует об отсутствии нарушения функции аэрогематического барьера. Патологические изменения были обусловлены, в первую очередь, нарушением кислородтранспортной функции крови вследствие образования карбоксигемоглобина и нарушением функций дыхательной цепи в тканях вследствие ингибирования циан-ионом цитохромоксидазы.

Таким образом, в результате проведенного исследования разработана экспериментальная модель, в которой ингаляционное воздействие продуктов пиролиза полиакрилонитрильных волокон, содержащих цианистый водород и оксид углерода, приводило к тяжелой степени интоксикации лабораторных животных. Данная модель может быть использована для поиска средств этиотропной и патогенетической терапии отравления продуктами горения азотсодержащих полимерных материалов.

Список литературы / References

1. Баринов В.А., Алексанин С.С., Радионов И.А., Шантырь И.И. Ацизол в комплексе мер защиты от токсичных продуктов горения и лечения пострадавших. *Мед.-биол. и соц.-психол. пробл. безопас. в чрезв. ситуациях*. 2011; (1): 14–19.
2. Barinov V.A., Aleksanin S.S., Radionov I.A., Shantyr I.I. Acizol in complex of measures of protection against toxic products of burning and treatment of victims. *Mediko-biologicheskiye i sotsial'no-psikhologicheskiye problemy bezopasnosti v chrezvychaynykh situatsiyakh = Medical-Biological and Social-Psychological Problems of Safety in Emergency Situations*. 2011; (1): 14–19. [In Russian].
3. Бушуев Е.С., Башарин В.А., Горбачёва Т.В., Фокин М.Б. Летучие органические соединения: химико-токсикологический анализ. СПб.: Левша. Санкт-Петербург, 2018. 240 с.
4. Bushuev E.S., Basharin V.A., Gorbacheva T.V., Fokin M.B. Volatile organic compounds: chemical-toxicological analysis. Saint-Petersburg: Levsha. Sankt-Peterburg, 2018. 240 p [In Russian].
5. Гладких В.Д., Баландин Н.В., Вершинина Г.В. Токсикология цианидов: Клиника, диагностика, лечение. М.: Комментарий, 2019. 256 с.
6. Gladkih N.V., Balandin N.V., Vershinina G.V. The toxicology of the cyanide: Clinic, diagnosis, treatment. Moscow: Kommentariy, 2019. 256 p. [In Russian].
7. Гладких В.Д., Вершинина Г.В. Потенциальные направления совершенствования антидотной терапии отравлений цианидами. *Токсикол. вестн.* 2019; (3): 46–50. doi: 10.36946/0869-7922-2019-3-46-50
8. Gladkih N.V., Vershinina G.V. Potencial directions of the improvement of antidote therapy of cyanide poisoning. *Toksikologicheskiy vestnik = Toxicological Review*. 2019; (3): 46–50. [In Russian]. doi: 10.36946/0869-7922-2019-3-46-50
9. Голиков С.Н., Локтионов С.И., Стройков Ю.Н. Руководство по токсикологии отравляющих веществ. М.: Медицина, 1972. 472 с.
10. Golikov S.N., Loktionov S.I., Stroykov Yu.N. The guidelines of toxicology of chemicals warfare agent. Moscow: Meditsina, 1972. 472 p. [In Russian].
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. Soldatenko N.A., Karmanov V.V., Vaisman Ya.I., Samutin N.M. Safety during thermal disposal of medical waste containing PVC. *Gigiyena i sanitariya = Hygiene and Sanitation*. 2013; (1): 42–46. [In Russian].
13. Толкач П.Г., Башарин В.А., Чепур С.В. Экспериментальная модель токсического отека легких при ингаляции продуктов пиролиза хлорированных парафинов. *Токсикол. вестн.* 2018; (6): 8–11. doi: 10.36946/0869-7922-2018-6-8-11
14. Tolkach P.G., Basharin V.A., Chepur S.V. Toxic pulmonary edema by inhalation of pyrolysis products of chlorinated paraffin-70 in rats. *Toksikologicheskiy vestnik = Toxicological Review*. 2018; 6: 8–11 [In Russian]. doi: 10.36946/0869-7922-2018-6-8-11
15. Химическая энциклопедия: Т. 3. Ред. И.Л. Кнунянц. М.: Большая Российская энциклопедия, 1992. 1197–1198.
16. The chemistry enciclopedia: V. 3. Ed. I.L. Knyunyanc. M.: Bol'shaya Rossiyskaya entsiklopediya, 1992. 1197–1198. [In Russian].
17. Anseew K., Delvau N., Burillo-Putze G., de Laco F., Geldner G., Holmstrom P., Lambert Y., Sabbe M. Cyanide poisoning by fire smoke inhalation: An European expert consensus. *Eur. J. Emerg. Med.* 2012; 20 (1): 2–9. doi: 10.1097/MEJ.0b013e328357170b
18. Aracil I., Font R., Conesa J.A. Chlorinated and nonchlorinated compounds from the pyrolysis and combustion of polychloroprene. *Environ. Sci. Technol.* 2010; 44: 4169–4175. doi: 10/1021/es100023a

11. Levin B.C., Rechani P.R., Guman J.L., Landron F., Clark H.M., Yoklavich M.F., Rodriguez J.R., Droz L., Mattos de Cabrera F., Kaye S. Analysis of carboxyhemoglobin and cyanide in blood from victim of the Dupont Plaza Hotel fire in Puerto Rico. *J. Forensic Sci.* 1990; 35 (1): 151–168.
12. Megarbane B., Delahaye A., Goldgran-Toledano D. Antidotal treatment of cyanide poisoning. *J. Clin. Med. Assoc.* 2003; 66: 193–203.
13. Purser D.A., Rimshaw P., Berrill K.R. Intoxication by cyanide in fires: A study in monkeys using polyacrylonitrile. *Arch. Environ. Health.* 1984; 39: 394–400.
14. Saeed O., Boyer N.L., Pamplin J.C., Driscoll I.R., DellaVolpe J., Cannon J., Cancio L.C. Inhalation injury and toxic industrial chemical exposure. *Mil. Med.* 2018; 183: 130–132. doi: 10.1093/milmed/usy073

Сведения об авторах:

Павел Геннадьевич Толкач, к.м.н., ORCID: 0000-0001-5013-2923, e-mail: pgtolkach@gmail.com

Вадим Александрович Башарин, д.м.н., проф.

Сергей Викторович Чепур, д.м.н., проф.

Татьяна Васильевна Горбачёва, к.х.н.

Маргарита Алексеевна Чайкина, SPIN-код 6853-7600

Information about the authors:

Pavel G. Tolkach, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0001-5013-2923, e-mail: pgtolkach@gmail.com

Vadim A. Basharin, doctor of medical sciences, professor

Sergey V. Chepur, doctor of medical sciences, professor

Tat'yana V. Gorbacheva, candidate of chemical sciences

Margarita A. Chaykina, SPIN-код 6853-7600

Поступила в редакцию 09.11.2019

После доработки 20.12.2019

Принята к публикации 21.02.2020

Received 09.11.2019

Revision received 20.12.2019

Accepted 21.02.2020

Морфологические нарушения нейронов теменной коры и гиппокампа крыс в динамике ступенчатой субтотальной ишемии головного мозга

Е.И. Бонь, Н.Е. Максимович, С.М. Зиматкин, Н.А. Валько, В.Н. Кот

*Гродненский государственный медицинский университет
Республика Беларусь, 230009, г. Гродно, ул. Горького, 80*

Резюме

Цель работы – анализ изменений морфологических характеристик нейронов филогенетически разных отделов коры головного мозга (теменной коры и гиппокампа) крыс в различные периоды в динамике ступенчатой субтотальной экспериментальной церебральной ишемии. **Материал и методы.** Эксперименты выполнены на 42 самцах беспородных белых крыс. Ступенчатую субтотальную церебральную ишемию осуществляли следующим образом: сначала перевязывали одну общую сонную артерию, моделируя при этом частичную ишемию, затем с интервалом 1 сутки (подгруппа 1), 3 суток (подгруппа 2) или 7 суток (подгруппа 3) – вторую общую сонную артерию. **Результаты.** Микроскопическое изучение размеров, формы, степени хроматофилии цитоплазмы и содержания рибонуклеопротеинов в пирамидных нейронах филогенетически разных отделов коры головного мозга показало зависимость тяжести повреждения головного мозга от интервала между прекращением кровотока по обеим сонным артериям. Адаптация лучше проходила при 7-суточном интервале между перевязками, в то время как при перевязке с интервалом 1 сутки степень морфологических изменений была максимальна, что указывает на недостаточность ресурсов для реализации адаптационных механизмов.

Ключевые слова: ишемия, мозг, нейроны.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Автор для переписки: Бонь Е.И., e-mail: asphodela@list.ru

Для цитирования: Бонь Е.И., Максимович Н.Е., Зиматкин С.М., Валько Н.А., Кот В.Н. Морфологические нарушения нейронов теменной коры и гиппокампа крыс в динамике ступенчатой субтотальной ишемии головного мозга. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2020; 40 (2): 31–39. doi: 10.15372/SSMJ20200204

Morphological disturbances of rat parietal cortex and hippocampus neurons in the dynamics steady subtotal ischemia of the brain

E.I. Bon, N.E. Maksimovich, S.M. Zimatkin, N.A. Valko, V.N. Kot

*Grodno State Medical University of Minzdrav of Russia
Republic of Belarus, 230009, Grodno, Gorkogo str., 80*

Abstract

The purpose of the work is to analyze changes in the morphological characteristics of neurons of phylogenetical different parts of the cerebral cortex (parietal cortex and hippocampus) of rats at different periods in the dynamics of stepwise subtotal experimental cerebral ischemia. **Methods.** The experiments were performed on 42 males of outbred white rats. Step subtotal cerebral ischemia was performed as follows: first, one common carotid artery was ligated, simulating partial ischemia. Then, with an interval of 1 day (subgroup 1), 3 days (subgroup 2) or 7 days (subgroup 3), the second common carotid artery was ligated. **Results.** A microscopic study of the size, shape, degree of chromatophilia of the cytoplasm and the content of ribonucleoproteins in pyramidal neurons of phylogenetically different parts of the cerebral cortex have shown the dependence of the severity of brain damage on the interval between the cessation of blood flow in both carotid artery. Adaptation was better with a 7-day interval between dressings, while the ligation with an interval of 1 day, the degree of morphological changes was maximum indicating a lack of resources for the implementation of adaptation mechanisms.

Key words: ischemia, brain, neurons.

Conflict of interests. Authors declare lack of the possible conflicts of interests.

Correspondence author: Bon E.I., E-mail: asphodela@list.ru

Citation: Bon E.I., Maksimovich N.E., Zimatkin S.M., Valko N.A., Kot V.N. Morphological disturbances of rat parietal cortex and hippocampus neurons in the dynamics steady subtotal ischemia of the brain. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal* = *Siberian Scientific Medical Journal*. 2020; 40 (2): 31–39. [In Russian]. doi: 10.15372/SSMJ20200204

Введение

Церебральная ишемия представляет собой тяжелое нейродегенеративное состояние, которое, в зависимости от вовлеченной в патологический процесс области, приводит к нарушению реализации когнитивных и сенсомоторных функций головного мозга (ГМ). Даже кратковременная ишемия ведет к глубоким повреждениям ГМ. Ключевыми звеньями патогенеза церебральной ишемии являются недостаток оксигенации нейронов, угнетение в мозге аэробного и активация анаэробного пути утилизации глюкозы, снижение энергообразования, нарушение транспорта потенциал-определяющих ионов, изменение кислотно-основного состояния, эксайтотоксичность, возникновение окислительного, в том числе нитрозирующего стресса, осуществляющегося при участии оксида азота, активация воспаления и апоптоза [3, 4, 10, 11, 13]. Эти процессы не могут быть моделированы *in vitro*, и большая часть исследований ишемических повреждений головного мозга проводится на животных.

В настоящее время для изучения механизмов развития повреждений ГМ ишемического генеза используются различные подходы в моделировании ишемии ГМ, в том числе применяют полную (тотальную), неполную (субтотальную) и некоторые другие [1]. Проведенные нами ранее исследования по изучению морфологических изменений нейронов теменной коры (ТК) и гиппокампа при одночасовой субтотальной церебральной ишемии ГМ выявили уменьшение размеров перикарионов нейронов и увеличение количества гиперхромных и гиперхромных сморщенных нейронов [3, 10]. Однако моделирование ишемии ГМ путем одномоментной компрессии общих сонных артерий (ОСА) не позволяет изучить происходящие адаптационные процессы в динамике в связи с тяжестью повреждения ткани ГМ и быстрой гибелью животных. С этой целью осуществлено моделирование субтотальной ишемии ГМ путем «ступенчатой» компрессии ОСА, суть которой заключается в последовательной перевязке ОСА с различными интервалами. Нейроны коры больших полушарий ГМ и гиппокампа (в особенности его поля CA1) наиболее чувствительны к

недостатку кислорода. Кроме того, нейроны 5-го слоя ТК выполняют важную функцию, связывая кору мозга с подкорковыми узлами, ядрами головных нервов и передними рогами спинного мозга [2].

Целью исследования явился анализ морфологических нарушений нейронов ТК и гиппокампа ГМ крыс при его ступенчатой субтотальной ишемии.

Материал и методы

Эксперименты выполнены на 42 самцах беспородных белых крыс массой 240 ± 20 г с соблюдением требований Директивы Европейского Парламента и Совета № 2010/63/EU от 22.09.2010 о защите животных, используемых для научных целей. Животных содержали в кондиционируемом помещении (22 °С) при смешанном освещении на стандартном рационе вивария и свободном доступе к корму и воде не более 5 особей в клетке [5].

Использование крыс обусловлено сходством ангиоархитектоники и морфологии коры ГМ у крыс и человека [2]. В отличие от классической субтотальной ишемии ГМ, моделируемой путём одномоментной перевязки обеих ОСА, ступенчатую субтотальную ишемию ГМ осуществляли следующим образом: сначала перевязывали одну ОСА, моделируя при этом частичную ишемию ГМ (опыт, $n = 36$), затем с интервалом 1 сутки (подгруппа 1), 3 суток (подгруппа 2) или 7 суток (подгруппа 3) перевязывали вторую ОСА. В каждой из подгрупп было по 12 животных, материал забирали через 1 ч ($n = 6$) и 1 сутки ($n = 6$) после операции. Контрольную группу ($n = 6$) составили ложноперированные самцы крыс аналогичной массы. В подгруппе 1 из-за выраженного нарушения кровоснабжения ГМ продолжительность жизни крыс после второй перевязки не превышала двух суток. После декапитации у животных быстро извлекали ГМ, кусочки отдела ТК больших полушарий фиксировали в жидкости Карнуа. Серийные парафиновые срезы окрашивали 0,1%-м толуидиновым синим по методу Ниссля.

Изучение гистологических препаратов, их микрофотографирование и морфометрию про-

водили с помощью микроскопа Axioscop 2 plus (Zeiss, Германия), цифровой видеокамеры (LeicaDFC 320, Германия) и программы анализа изображения ImageWarp (Bitflow, США). Локализацию ТК и гиппокампа в гистологических препаратах мозга крыс определяли с помощью стереотаксического атласа [17]. У каждого животного оценивали не менее 30 нейронов пятого слоя ТК и пирамидного слоя поля СА1 гиппокампа, что обеспечивало достаточный объем выборки для анализа. Площадь нейронов (S) и форму их перикарионов оценивали по форм-фактору (ФФ, степень округлости тел нейронов) и фактору элонгации (ФЭ, степень вытянутости тел нейронов). Среди нейронов дифференцировали клетки по интенсивности окраски цитоплазмы (хроматофилии): нормохромные нейроны (НН) – умеренно окрашенные; гиперхромные нейроны (ГН) – темные; гиперхромные сморщенные нейроны (ГиперСН) – очень темные, с деформированными перикарионами; гипохромные нейроны (ГипоН) – светлоокрашенные; клетки-тени – почти прозрачные, а также гиперхромные сморщенные с перичеселлярным отеком. Подсчитывали количество клеток каждого типа на 1 мм².

Полученные данные анализировали методами непараметрической статистики. Результаты представлены в виде Me (LQ; UQ), где Me – медиана, LQ – значение нижнего квартиля; UQ – значение верхнего квартиля. Оценку различий изучаемых показателей осуществляли по сравнению с контрольной группой, между подгруппами и в пределах подгруппы спустя 1 ч и 1 сут после перевязки ОСА. Достоверными считали различия при значениях $p < 0,05$ (тест Краскелла – Уоллиса с поправкой Бонфферони).

Результаты

Показатели морфометрии перикарионов нейронов. По сравнению со значениями показателей в контрольной группе, площадь перикарионов (S) нейронов ТК ГМ крыс подгруппы 1 (интервал 1 сут) статистически значимо ($p < 0,05$) уменьшилась на 55 % спустя один час после полной перевязки, на 60 % – спустя одни сутки; в подгруппе 2 (интервал 3 сут) – на 53 и 49 %, а в подгруппе 3 (интервал 7 сут) – на 48 и 39 % соответственно (таблица). При этом в подгруппе 1 S нейронов спустя один час уменьшилась по сравнению с S в подгруппе 2 на 11 %, а спустя одни сутки – на 17 %, по сравнению с подгруппой 3 – на 25 и 26 % соответственно. При этом в подгруппе 2 по сравнению со значениями в подгруппе 3 S нейронов была меньше на 10 % спустя один час и на 16 % спустя одни сутки.

В гиппокампе по сравнению с S нейронов в контрольной группе ее значение в подгруппе 1 спустя один час статистически значимо ($p < 0,05$) уменьшилась на 47 %, спустя одни сутки – на 48 %, в подгруппе 2 – на 40 и 34 %, в подгруппе 3 – на 28 и 19 % соответственно. При этом в подгруппе 1 S нейронов спустя один час была меньше, чем в подгруппе 2, на 12 %, спустя одни сутки – на 21 %; по сравнению с подгруппой 3 уменьшилась на 27 и 36 %, а в подгруппе 2 – на 17 и 18 % соответственно.

По сравнению со значениями ФФ перикарионов нейронов в контрольной группе, ФФ нейронов ТК в подгруппе 1 спустя один час после второй перевязки достоверно ($p < 0,05$) уменьшился на 11 %, спустя одни сутки – на 22 %, в подгруппе 2 – на 22 %, а в подгруппе 3 – на 11 %

Таблица. Размеры и форма перикарионов нейронов ТК и гиппокампа крыс со ступенчатой субтотальной ишемией ГМ

Table. Size and shape of parietal cortex and hippocampus neuron pericaryons of rats with brain steady subtotal ischemia

Группа		Площадь, мкм²		Форм-фактор, ед.		Фактор элонгации, ед.		
		ТК	Гиппокамп	ТК	Гиппокамп	ТК	Гиппокамп	
Контроль		1 ч	161 (143; 165)	96 (92; 100)	0,9 (0,8; 0,9)	0,8 (0,8; 0,9)	1,2 (1,8; 1,3)	1,1 (1,1; 1,2)
		1 сут	101 (85; 120)	89 (86; 89)	0,9 (0,9; 0,9)	0,9 (0,9; 0,9)	1,2 (1,2; 1,3)	1,2 (1,2; 1,3)
Ишемия ГМ	1 пг	1 ч	66 (62; 69)*	57 (55; 60)*	0,8 (0,75; 0,8)*	0,7 (0,7; 0,8)*	1,54 (1,4; 1,6)*	1,5 (1,4; 1,6)*
		1 сут	57 (54; 62)*	58 (49; 61)*	0,7 (0,6; 0,7)*	0,7 (0,7; 0,7)*	1,6 (1,5; 1,7)*	1,6 (1,6; 1,7)*
	2 пг	1 ч	69 (65; 71,5)*	66 (65; 68)*	0,7 (0,7; 0,8)*	0,7 (0,7; 0,7)*	1,4 (1,4; 1,4)*	1,4 (1,4; 1,4)*
		1 сут	74 (70; 83,5)**	72 (66; 78)**	0,74 (0,7; 0,8)*	0,8 (0,7; 0,8)*	1,4 (1,4; 1,4)**	1,4 (1,3; 1,4)**
	3 пг	1 ч	77 (76; 79)*	79 (75; 86)**	0,8 (0,75; 0,8)*	0,8 (0,8; 0,8)*	1,3 (1,3; 1,3)**	1,3 (1,3; 1,3)**
		1 сут	88 (77; 89)	88 (85; 93)**#	0,8 (0,75; 0,8)*	0,8 (0,7; 0,8)*	1,3 (1,3; 1,3)**#	1,3 (1,3; 1,3)**

Примечание. Обозначены статистически значимые ($p < 0,05$) отличия от величин соответствующих показателей: * – группы контроля, + – подгруппы 1, # – $p < 0,05$ подгруппы 2.

спустя час и сутки соответственно (см. таблицу). В гиппокампе изменения ФФ нейронов не отличались от таковых в ТК ($p > 0,05$). По сравнению со значениями ФЭ перикарионов нейронов контрольной группы, в ТК в подгруппе 1 спустя один час после перевязки статистически значимо увеличился на 20 %, спустя одни сутки – на 25 %, в подгруппе 2 – на 14 % и в подгруппе 3 – на 8 % в обоих временных промежутках. В гиппокампе отмечались изменения ФЭ нейронов, аналогичные изменениям в ТК ($p > 0,05$). Значимых изменений показателей морфометрии в пределах одной подгруппы спустя один час и одни сутки после перевязки ОСА не выявлено.

Итак, наиболее выраженное изменение показателей морфометрии по сравнению с контрольной группой наблюдалось при перевязке ОСА с интервалом 1 сутки (подгруппа 1). Размеры (S) и ФФ перикарионов нейронов ТК и гиппокампа существенно уменьшались, в то время как ФЭ увеличивался.

Изменения хроматофилии цитоплазмы нейронов. В популяции нейронов коры ГМ на препаратах, окрашенных по методу Ниссля, проводили анализ типов клеток по степени хроматофилии цитоплазмы нейронов (интенсивности окраски). После перевязки обеих ОСА во всех подгруппах происходило снижение количества нормохромных нейронов как в ТК, так и в гиппокампе, возрастала доля патологических форм (рис. 1). По сравнению со значениями показателей в контрольной группе количество НН в ТК в подгруппе 1 спустя один час после второй перевязки уменьшилось на 35 %, спустя одни сутки – на 40 %, в подгруппе 2 – на 39 и 24 %, в подгруппе 3 – на 28 и 20 % соответственно, все изменения статистически значимы. При этом в подгруппе 1 количество НН спустя один час было достоверно меньше, чем в подгруппе 2, на 6 %, спустя сутки – на 21 %, а по сравнению с подгруппой 3 – на 16 и 25 % соответственно; в подгруппе 2 – на 21 % спустя один час и на 6 % спустя одни сутки по сравнению с подгруппой 3. В гиппокампе количество НН в подгруппе 1 спустя один час после второй перевязки достоверно уменьшилось на 36 % по сравнению с их числом в контрольной группе, спустя одни сутки – на 38 %, в подгруппе 2 – на 38 и 38 %, в подгруппе 3 – на 20 и 19 % соответственно. В подгруппах 1 и 2 количество НН существенно не отличалось ($p > 0,05$). При этом по сравнению с подгруппой 3 в подгруппе 1 оно было значимо меньше на 19 % спустя один час и на 23 % – спустя одни сутки, в подгруппе 2 – соответственно на 23 и 19 %.

Количество ГиперСН в ТК по сравнению со значениями показателей в контрольной группе

в подгруппе 1 с интервалом одни сутки между перевязками ОСА спустя один час после двухсторонней компрессии сосудов возросло на 78 %, спустя одни сутки – на 83 %, в подгруппе 2 – на 80 и 82 %, в подгруппе 3 – на 75 и 72 % соответственно, все различия статистически значимы. При этом в подгруппе 1 количество ГиперСН спустя один час по сравнению с их количеством в подгруппе 2 увеличилось на 8 %, а спустя одни сутки – на 10 %, а по сравнению с их числом в подгруппе 3 – на 11 и 42 % соответственно. В подгруппе 2 по сравнению с подгруппой 3 их количество было больше на 20 % спустя один час и на 36 % спустя одни сутки. В гиппокампе количество ГиперСН в подгруппе 1 спустя один час после перевязки второй ОСА по сравнению со значениями показателей в контрольной группе увеличилось на 95 %, спустя одни сутки – на 96 %, в подгруппе 2 – на 95 %. В подгруппе 3 в обоих временных промежутках оно было больше на 92 %. В подгруппах 1 и 2, при сравнении их друг с другом, количество ГиперСН спустя один час после двухсторонней перевязки не изменялось, а в подгруппе 2 спустя одни сутки оно было на 25 % меньше, чем в подгруппе 1. По сравнению с подгруппой 3 в подгруппе 1 количество ГиперСН было больше на 40 % спустя один час и на 50 % – спустя одни сутки после сдавления второй ОСА, в подгруппе 2 – соответственно на 40 и 33 %.

В ТК количество клеток-теней в подгруппе 1 спустя один час после второй перевязки достоверно возросло на 62 %, спустя одни сутки – на 67 %, в подгруппе 2 – на 67 и 50 %, в подгруппе 3 – на 50 и 50 % соответственно. В подгруппах 1 и 2 количество клеток-теней спустя час было одинаковым, а спустя одни сутки в подгруппе 1 их было на 24 % больше, чем в подгруппе 2. По сравнению с подгруппой 3, в подгруппе 1 количество клеток-теней было больше на 24 % спустя час и на 34 % спустя сутки, в подгруппе 2 – на 31 % спустя один час, а спустя одни сутки значения не отличались. По сравнению со значениями показателей в контрольной группе, в гиппокампе количество клеток-теней в подгруппе 1 спустя один час и одни сутки после второй перевязки увеличилось на 50 %, в подгруппе 2 – на 50 и 67 % соответственно, в подгруппе 3 не изменилось. В подгруппах 1 и 2 спустя один час оно было одинаковым, спустя одни сутки в подгруппе 1 клеток-теней было на 20 % больше, чем в подгруппе 2. По сравнению с подгруппой 3 в подгруппе 1 количество клеток-теней спустя один час и спустя одни сутки было на больше 50 и 50 %, в подгруппе 2 – на 50 и 60 % соответственно (рис. 1, 2).

Максимальное количество гиперхромных сморщенных нейронов и клеток-теней наблюда-

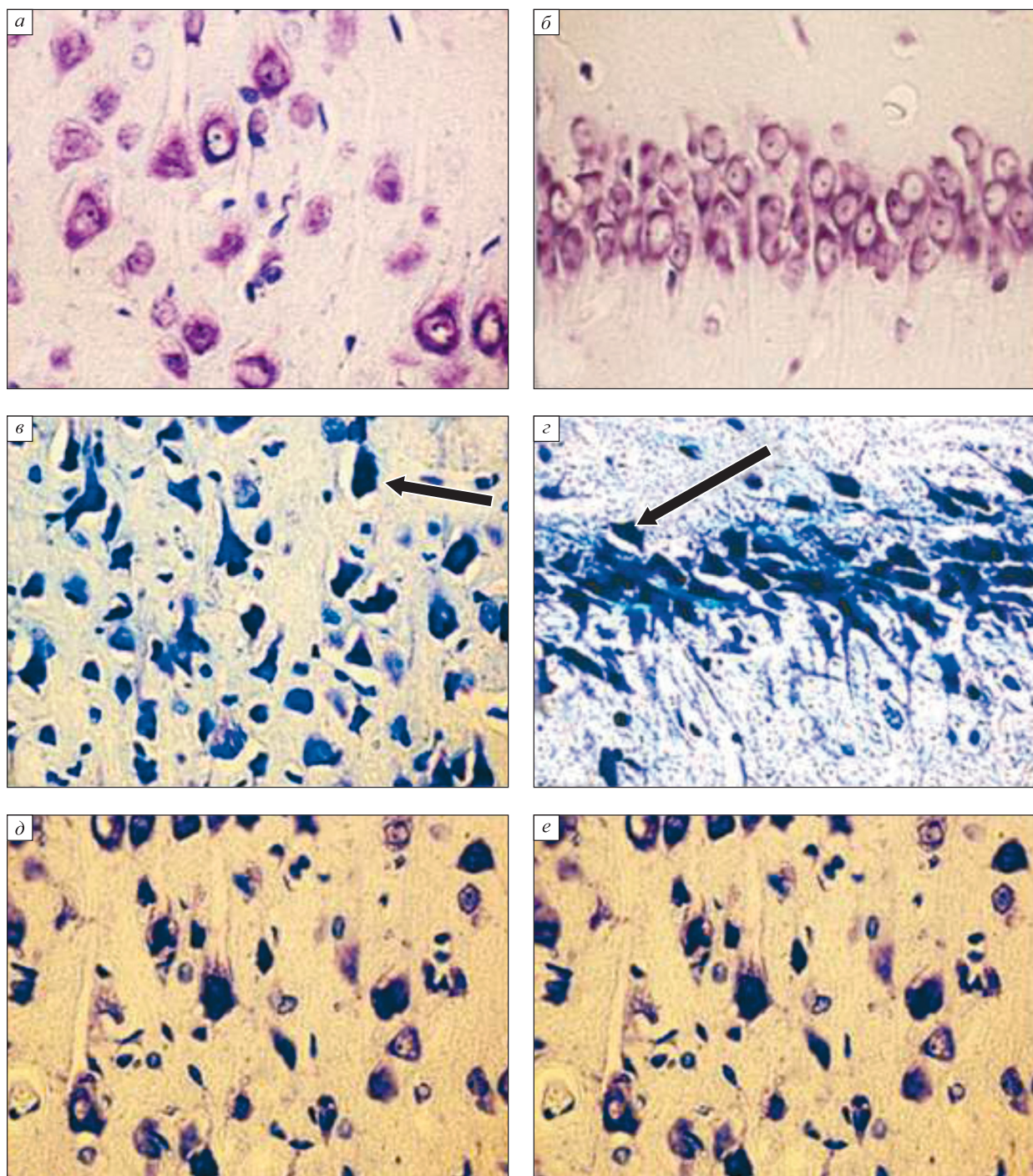


Рис. 1. Нейроны пятого слоя теменной коры (а, в, д) и пирамидного слоя гиппокампа (б, з, е). а, б – контроль; в, з – подгруппа 1, спустя одни сутки после перевязки второй ОСА; д, е – подгруппа 3, спустя одни сутки после перевязки второй ОСА. Цифровая микрофотография. Окраска по Нислю. Ув. объектива $\times 40$. Стрелками указаны клетки с перичеселлярным отеком

Fig. 1. Neurons of parietal cortex fifth layer (a, b, d) and hippocampus pyramidal layer of the (б, з, е). а, б – control; в, з – subgroup 1, 1 day following second common carotid artery ligation; д, е – subgroup 3, 1 day following second common carotid artery ligation. Digital microphotography. Nissl staining. Magnification $\times 40$. Arrows indicate cells with pericellular edema

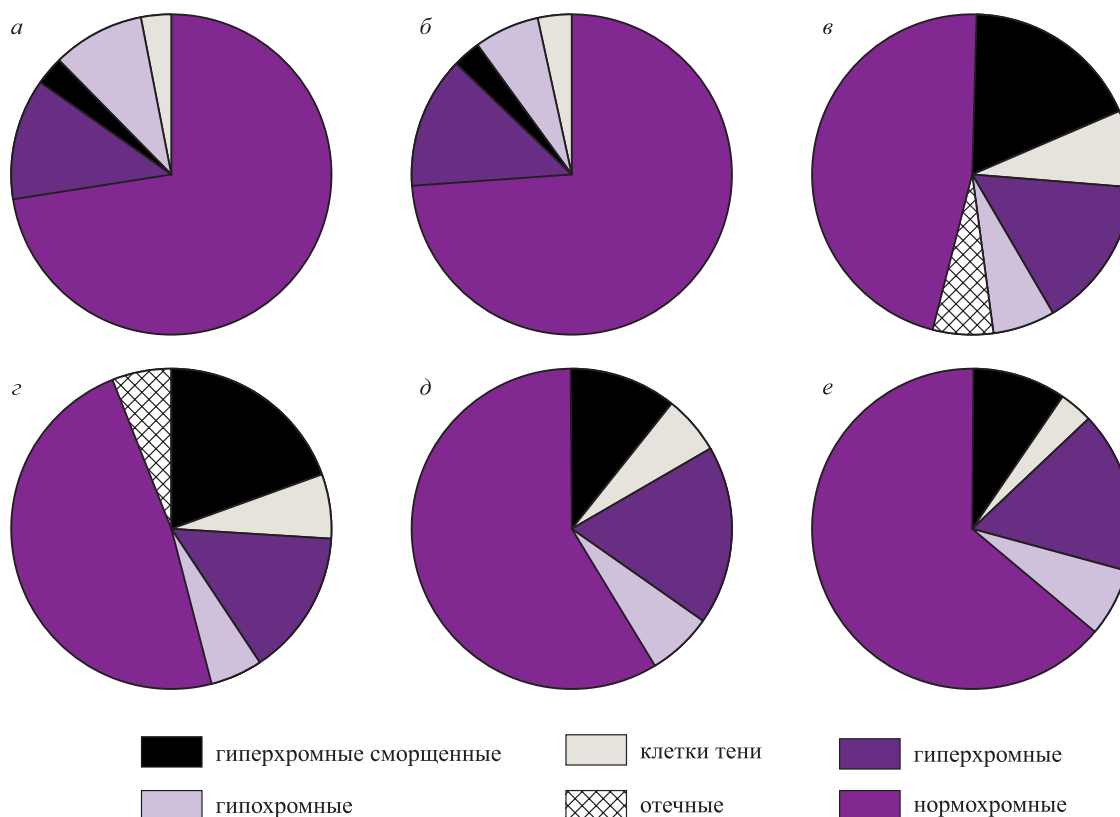


Рис. 2. Соотношение нейронов с различной степенью хромотофилии цитоплазмы пятого слоя ТК ГМ (а, в, д) и пирамидного слоя гиппокампа (б, з, е). а, б – контроль; в, з – подгруппа 1, спустя одни сутки после перевязки второй ОСА; д, е – подгруппа 3, спустя одни сутки после перевязки второй ОСА

Fig. 2. The ratio of neurons with varying degrees of chromatophilia of the cytoplasm of parietal cortex fifth layer (a, b, d) and hippocampus pyramidal layer (б, з, е). а, б – control; в, з – subgroup 1, 1 day following second common carotid artery ligation; д, е – subgroup 3, 1 day following second common carotid artery ligation

лось в подгруппе 1 через сутки после второй перевязки в теменной коре. Кроме того, в подгруппе 1 через одни сутки после второй перевязки ОСА в ТК и гиппокампе появлялись клетки с периферическим отеком (см. рис. 1). Гиперхромных сморщенных нейронов в подгруппе 2 в гиппокампе было меньше на 25 % ($p < 0,05$) и отечных клеток не наблюдалось. Значимых изменений в количестве гипохромных и гиперхромных нейронов в изучаемых подгруппах выявлено не было.

Итак, в обоих изучаемых отделах изменения хромотофилии были однонаправленными, но наиболее выражены в ТК, как более чувствительной к недостатку кислорода.

Обсуждение

В исследовании установлено, что ступенчатая двухсторонняя перевязка ОСА с интервалом в одни сутки приводит к необратимым повреждениям нейронов ТК и гиппокампа крыс, что про-

является в уменьшении их размеров, деформации перикарионов, увеличении количества сморщенных нейронов и клеток-теней. При дефиците кислорода в головном мозге происходит структурная перестройка нейронов ткани головного мозга. Известно, что на ранних этапах ишемии активизируется биосинтез нуклеиновых кислот и белка в нервных клетках для собственных потребностей, в дальнейшем происходит деформация перикарионов, связанная с нарушением водного баланса клетки [3, 4, 6–9, 11, 12]. Выявленные изменения наиболее выражены в подгруппе 1, в которой интервал между перевязками обеих ОСА составил одни сутки. Они были аналогичны изменениям, которые происходят при одномоментной перевязке обеих сонных артерий [4, 5].

При перевязке обеих ОСА с интервалом 3 суток нарушения были не столь выраженными, как в подгруппе 1 – нейроны были больше по размерам, клеток с перичеселлюлярным отеком не наблюдалось. Сутки спустя после второй пере-

вязки усугубления состояния, как в подгруппе 1, не происходило, что свидетельствует о попытке адаптации нейронов к ишемии. При перевязке обеих ОСА с интервалом 7 суток патологических изменений было меньше, особенно в гиппокампе: размеры перикарионов нейронов и соотношение нейронов по степени хроматофилии цитоплазмы отличались несущественно от показателей в контрольной группе, свидетельствуя о том, что данный интервал является достаточным для адаптации ГМ к ишемии.

Полученные результаты согласуются с данными литературы, согласно которым гипоксия способствует развитию адаптивных механизмов, способствующих улучшению микроциркуляции: увеличивается количество и диаметр капилляров, мозговой кровоток становится более интенсивным [13]. Улучшение мозгового кровообращения является одним из важных эффектов адаптации к гипоксии. В его основе лежит увеличение плотности сосудов [16, 18].

Ангиогенез ГМ после его ишемии объясняется продукцией NO и активацией транскрипционного фактора, индуцируемого гипоксией (hypoxia inducible factor 1 α , HIF-1 α) [16]. HIF-1 α регулирует адаптивные ответы клетки на изменения оксигенации тканей, способствует улучшению доставки кислорода вследствие стимуляции эритропоэза, ангиогенеза, метаболических процессов (активации транспорта глюкозы, усиления гликолитической продукции АТФ, транспорта ионов) и клеточной пролиферации. К гипоксии чувствительны и другие транскрипционные факторы – металлотранскрипционный фактор (metaltranscription factor-1, MTF-1), ядерный фактор κ B (nuclear factor κ B, NF- κ B), фосфорилированный CREB (c-AMP response element binding protein), c-Fos и c-Jun и т.д. При адаптации мозга к гипоксии возрастает экспрессия NF- κ B и CREB, особенно в гиппокампе [8, 14–16, 18]. В нейронах увеличивается активность ключевого фермента дыхательной цепи NADPH-цитохром с-оксидоредуктазы. Снижается его сродство к NADPH, что увеличивает устойчивость митохондрий к кислороду. При уменьшении интенсивности окислительных процессов отмечена более эффективная работа дыхательной цепи – «парадоксальный эффект» адаптации к гипоксии [13].

Полученные данные о наличии менее выраженных изменений нейронов при ишемии ГМ в гиппокампе по сравнению с ТК подтверждают сведения о зависимости между филогенетическим возрастом коры ГМ и его устойчивости к гипоксии [8]. Проведенное исследование показало зависимость тяжести повреждения головного мозга от интервала между прекращением крово-

тока по обеим ОСА. Адаптация лучше проходила при 7-суточном интервале между перевязками, в то время как при перевязке с интервалом одни сутки степень морфологических изменений была максимальной, что указывает на недостаточность ресурсов для реализации адаптационных механизмов.

Таким образом, при ступенчатой двухсторонней перевязке обеих ОСА с интервалом в 7 суток негативные изменения были наименее выражены, особенно в гиппокампе. Чем больше интервал между перевязками, тем более эффективно происходит адаптация нейронов к недостатку кислорода, что позволит в дальнейшем более детально изучить динамику механизмов развития повреждений и приспособительных изменений в ГМ.

Список литературы / References

1. Бонь Е.И., Максимович Н.Е. Способы моделирования и морфофункциональные маркеры ишемии головного мозга. *Биомедицина*. 2018; (2): 9–71.
2. Bon E.I., Maksimovich N.E. Methods of modeling morphological and functional markers of cerebral ischemia. *Biomeditsina = Biomedicine*. 2018; (2): 59–71. [In Russian].
3. Бонь Е.И., Зиматкин С.М. Микроскопическая организация изокортекса крысы. *Новости мед.-биол. наук*. 2017; 16 (2): 80–88.
4. Bon E.I., Zimatkin S.M. Microscopic organization of the rat isocortex. *Novosti mediko-biologicheskikh nauk = News of Biomedical Sciences*. 2017; 16 (2): 80–88. [In Russian].
5. Бонь Е.И., Максимович Н.Е., Зиматкин С.М. Морфофункциональные нарушения в гиппокампе крыс при субтотальной ишемии. *Вестник Смоленской государственной медицинской академии*. 2018; 17 (1): 24–29.
6. Bon E.I., Maksimovich N.Ye., Zimatkin S.M. Morphofunctional disturbances in the hippocampus of rats after incomplete ischemia. *Vestnik Smolenskoj gosudarstvennoy meditsinskoj akademii = Vestnik of Smolensk State Medical Academy*. 2018; 17 (1): 24–29. [In Russian].
7. Дубченко Е.А., Иванов А.В., Бойко А.Н., Спирина Н.Н., Гусев Е.И., Кубатиев А.А. Гипергомоцистеинемия и эндотелиальная дисфункция при сосудистых и аутоиммунных заболеваниях головного мозга. *Журн. неврологии и психиатрии*. 2019; 119(11): 133–138. doi: 10.17116/jnevro2019119111133
8. Dubchenko E.A., Ivanov A.V., Boiko A.N., Spirina N.N., Gusev E.I., Kubatiev A.A. Hyperhomocysteinemia and endothelial dysfunction in patients with cerebral vascular and autoimmune diseases. *Zh. Nevrol. Psikiatr. Im S.S. Korsakova*. 2019; 119 (11): 133–138. doi: 10.17116/jnevro2019119111133

5. Каркищенко Н.Н., Грачева С.В. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских исследованиях. М.: Профиль-2С, 2010. 358 с.
- Karkishchenko N.N., Gracheva S.V. Guide to laboratory animals and alternative models in biomedical research. Moscow: Profil-2S, 2010. 358 p. [In Russian].
6. Самойлов М.О. Влияние умеренной гипобарической гипоксии в режиме прекондиционирования на экспрессию транскрипционных факторов pCREB И NF-κB в гиппокампе мозга крыс до и после тяжелой гипоксии. *Морфология*. 2009; 136 (6): 38–42.
- Samoilov M.O. The effect of mild hypobaric hypoxia in preconditioning regime on the expression of pcreb and nf-κb transcription factors in rat hippocampus before and after severe hypoxia. *Morfologiya = Morphology*. 2009; 136 (6): 38–42. [In Russian].
7. Семченко В.В., Степанов С.С., Алексеева Г.В. Постаноксическая энцефалопатия. Омск, 1999. 446 с.
- Semchenko V.V., Stepanov S.S., Alekseeva G.V. Postanoxic encephalopathy. Omsk, 1999. 446 p. [In Russian].
8. Шмидт-Ниельсен К. Физиология животных: приспособление и среда: в 2 кн. Т. 1. М.: Мир, 1982. 416 с.
- Shmidt-Niel'sen K. Physiology of animals: adaptation and environment: in 2 books. Vol. 1. Moscow: Mir, 1982. 416 p. [In Russian].
9. Ярыгин Н.Е., Ярыгин В.Н. Патологические и приспособительные изменения нейрона. М.: Медицина, 1973. 191 с.
- Yarygin N.E., Yarygin V.N. Pathological and adaptive changes in the neuron. Moscow: Meditsina, 1973. 191 p. [In Russian].
10. Bon L.I., Maksimovich N.E., Zimatkin S.M. Effects of experimental cerebral ischemia on metabolic characteristics of parietal cortex neurons. *Bio-process Engineering*. 2018; 2 (1): 1–5. doi: 10.11648/j.be.20180201.11
11. Karakayali O., Utku U., Yilmaz S., Uzuner N. Neurological symptoms and evaluation of cerebral blood flow changes with synthetic cannabinoids use. *J. Coll. Physicians. Surg. Pak*. 2019; 29 (12): 1183–1188. doi: 10.29271/jcsp.2019.12.1183
12. Kotoda M., Hishiyama S., Ishiyama T., Mitsui K., Matsukawa T. Amiodarone exacerbates brain injuries after hypoxic-ischemic insult in mice. *BMC Neurosci*. 2019; 20 (1): 62–67. doi: 10.1186/s12868-019-0544-2
13. LaManna J.C., Vendel L.M., Farrell R.M. Brain adaptation to chronic hypobaric hypoxia in rats. *J. Appl. Physiol*. 1992; 72: 2238–2243. doi: 10.1152/jappl.1992.72.6.2238
14. Meerson F.Z., Malyshev I.Yu., Zamotrin'sky A.V. Differences in adaptive stabilization of structures in response to stress and hypoxia relate with the accumulation of hsp 70 isoforms. *Mol. Cell Biochem*. 1992; 111: 87–95. doi: 10.1007/bf00229578
15. Murphy B.J., Andrews G.K., Bittel D., Discher D.J., McCue J., Green C.J., Yanovsky M., Giaccia A., Sutherland R.M., Laderoute K.R., Webster K.A. Activation of metallothionein gene expression by hypoxia involves metal response elements and metal transcription factor-1. *Cancer Res*. 1999; 59 (6): 1315–1322.
16. Patt S., Sampaolo S., Théallier-Jankó A., Tschairkin I., Cervós-Navarro J. Cerebral angiogenesis triggered by severe chronic hypoxia displays regional differences. *J. Cereb. Blood Flow Metab*. 1997; 17: 801–806. doi: 10.1097/00004647-199707000-00010
17. Paxinos G., Watson C. The Rat Brain in stereotaxic coordinates. Australia: Academic Press, 1998. 472 p.
18. Risau W. Mechanisms of angiogenesis. *Nature*. 1997; 386: 671–674. doi: 10.1038/386671a0

Информация об авторах:

Елизавета Игоревна Бонь, к.б.н., e-mail: asphodela@list.ru

Наталья Евгеньевна Максимович, д.м.н., профессор, e-mail: mne@grsmu.by

Сергей Михайлович Зиматкин, д.б.н., профессор, ORCID , e-mail: smzimatkin@mail.ru

Никита Андреевич Валько, e-mail: mailbox@grsmu.by

Виктория Николаевна Кот, e-mail: mailbox@grsmu.by

Information about the authors:

Elizaveta I. Bon, candidate of biological science, e-mail: asphodela@list.ru

Natalia E. Maksimovich, doctor of medical science, professor, e-mail: mne@grsmu.by

Sergey M. Zimatkin, doctor of biological science, professor, e-mail: smzimatkin@mail.ru

Nikita A. Valko, e-mail: mailbox@grsmu.by

Victoria N. Kot, e-mail: mailbox@grsmu.by

Поступила в редакцию 25.10.2019

После доработки 27.12.2019

Принята к публикации 16.03.2020

Received 25.10.2019

Revision received 27.12.2019

Accepted 16.03.2020

Композиция на основе оксида алюминия и полидиметилсилоксана – матрица для повышения эффективности доставки лекарственных препаратов

М.А. Королев, Л.Н. Рачковская, В.И. Коненков, А.Ю. Летагин, П.Г. Мадонов

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

Резюме

Методологические подходы, развиваемые в НИИ клинической и экспериментальной лимфологии в течение ряда лет, позволили сформулировать важность встраивания в структуру пористых носителей (сорбентов) активных фармацевтических ингредиентов (АФИ). Композиция носителя и АФИ является энтеральной системой для пролонгированного дозирования фармакологических агентов, позволяющей обеспечивать специфический фармакологический эффект и безопасность применения. Поры носителей (сорбентов) выполняют роль контейнеров для АФИ. Особенно это важно для быстро всасывающихся лекарств, к которым относятся, например, препараты лития, применяющиеся в узких концентрационных пределах из-за их побочного действия. В настоящий момент разработана и внедрена инновационная технология создания новых лекарственных препаратов с улучшенным сочетанием эффективности и безопасности (фармакологический апгрейд). Сущность технологии заключается в создании композиции оксида алюминия и полидиметилсилоксана (матрица) и активного фармакологического ингредиента (АФИ). Исследование двух лекарственных препаратов на основе матрица/цитрат лития и матрица/мелатонин показало сохраняющуюся специфическую фармакологическую активность АФИ, лучшую фармакокинетику и лучшие параметры безопасности. Матрица из оксида алюминия и полидиметилсилоксана обеспечивает апгрейд фармакологических свойств лекарственных препаратов для дозированной и безопасной доставки АФИ в зону их терапевтического воздействия.

Ключевые слова: оксид алюминия, полидиметилсилоксан, композиция лития, фармакологический апгрейд.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Автор для переписки: Рачковская Л.Н., e-mail: noolit@niikel.ru

Для цитирования: Королев М.А., Рачковская Л.Н., Коненков В.И., Летагин А.Ю., Мадонов П.Г. Композиция на основе оксида алюминия и полидиметилсилоксана – матрица для повышения эффективности доставки лекарственных препаратов. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2020; 40 (2): 40–46. doi: 10.15372/SSMJ20200205

Composition based on aluminum oxide and polydimethylsiloxane – matrix for enhancing drug targeting

M.A. Korolev, L.N. Rachkovskaya, V.I. Konenkov, A.Yu. Letyagin, P.G. Madonov

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

Abstract

Methodological approaches developed at Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology for a number of years allow formulating the importance of embedding active pharmaceutical ingredients (API) in the structure of porous carriers (sorbents). The composition of the carrier and API is an enteral system for prolonged dosing of pharmacological agents, which allows providing a specific pharmacological effect and safety of use. The pores of the media (sorbents)

act as containers for API. This is especially important for rapidly absorbed drugs, which include, for example, lithium preparations that are used in narrow concentration limits due to their side effects. At the moment, an innovative technology for creating new medicines with an improved combination of efficiency and safety (pharmacological upgrade) has been developed and implemented. The essence of the technology is to create a composition of aluminum oxide and polydimethylsiloxane (matrix) and an active pharmacological ingredient (API). A study of two drugs based on matrix / lithium citrate and matrix / melatonin showed continued specific pharmacological activity of API, better pharmacokinetics, and better safety parameters. The matrix of aluminum oxide and polydimethylsiloxane provides an upgrade of the pharmacological properties of drugs for the dosed and safe delivery of API to the zone of their therapeutic effect.

Key words: aluminum oxide, polydimethylsiloxane, lithium compositions, pharmacological upgrade.

Conflict of interest. The Authors declare that there is no conflict of interest.

Corresponding author: Rachkovskaya L.N., e-mail: noolit@niikel.ru

Citation: Korolev M.A., Rachkovskaya L.N., Kononov V.I., Letyagin A.Yu., Madonov P.G. Composition based on aluminum oxide and polydimethylsiloxane – matrix for enhancing drug targeting. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2020; 40 (2): 40–46. [In Russian]. doi: 10.15372/SSMJ20200205

Введение

Сохранение здоровья населения является важнейшей задачей государства. Это, в свою очередь, предъявляет высокие требования к эффективности и безопасности проводимого лечения. Инновационная модель развития фармакологии и фармацевтической промышленности, изложенная в программных документах Правительства Российской Федерации, предполагает не только поиск, разработку и внедрение абсолютно оригинальных лекарственных средств, но и улучшение фармакологических свойств тех препаратов, которые уже присутствуют в обращении. Это направление имеет существенное значение как для клинической медицины, так и для экономики страны на разных уровнях. Разработка и внедрение традиционных лекарственных препаратов с улучшенными фармакологическими свойствами позволяет достичь лучшего соотношения эффективности и безопасности их применения, снизить затраты на лечение.

Фармакотерапия психических расстройств не имеет в своем составе большого количества инновационных лекарственных препаратов. Между тем некоторые источники указывают, что до 40 % больных общесоматической патологией имеют показания к лечению психотропными средствами как с профилактической, так и лечебной целью [1, 3, 4, 8].

В настоящее время лекарственные препараты на основе лития остаются важными средствами в списке психофармакологических препаратов. По ВОЗ, депрессией страдают примерно 26 % женщин и 12 % мужчин [12]. Число пациентов с психическими расстройствами, обратившихся в психоневрологические организации Россий-

ской Федерации, в 2018 г. составило почти 4 млн человек (абсолютное число – 3 933 156 человек) [6]. В недавнем обзоре [10], посвященном клиническому применению лития в США, автор указывает, что использование соединений лития для лечения расстройств настроения остается довольно редким, особенно по сравнению с некоторыми европейскими странами. Проблемы отказа от терапии препаратами лития рассматриваются в нескольких обзорах 2018 г. [9, 11]. Причиной неудовлетворенности результатами лечения препаратами лития является то обстоятельство, что литий в организме человека имеет «узкое терапевтическое окно». Диапазон безопасного применения находится в пределах двукратного повышения дозы. Это обстоятельство, в свою очередь, предъявляет строгие ограничения к болюсному введению препаратов лития.

Трудности применения солей лития инициируют внедрение лекарственных препаратов других групп для лечения биполярных расстройств. Однако не всегда проведенные клинические исследования достигают поставленной цели. Например, препарат брекспиперазол (Brexpirazole) датской компании H. Lundbeck A/S и японской Otsuka Pharmaceutical не достиг первичной конечной точки в двух клинических исследованиях III фазы, в которых изучали его применение при маниакальных эпизодах у пациентов с биполярным расстройством I типа. Этот препарат под торговым наименованием Rexulti (США) и Rxulti (ЕС) был зарегистрирован для терапии у взрослых с большим депрессивным расстройством и взрослых с шизофренией. FDA одобрило рексулти для медицинского применения на территории США в 2015 г. В 2017 г. он зарегистрирован в Канаде, в 2018 г. – в ЕС. Очевидно, что

абсолютно инновационная фармакологическая разработка для лечения депрессии и шизофрении потерпела поражение на хорошо изученном нозологическом поле биполярных расстройств.

Таким образом, фактически имеет место научно-практический «вызов», сформулированный как неудовлетворенность лекарственными формами солей лития наряду с хорошо изученными их положительными фармакологическими эффектами. Одним из вариантов решения этой проблемы видится создание композиционных лекарственных препаратов лития с пролонгированным высвобождением при энтеральном приеме. При этом все первичные фармакологические эффекты, присущие литию, должны сохраняться в полной мере.

Нами проведены масштабные экспериментальные исследования по разработке порошкообразного лекарственного средства (частицы белого цвета с размером 0,1 мм) на основе композиции цитрата лития и сорбента (оксида алюминия с иммобилизованным на его поверхности модификатором – полидиметилсилоксаном) и его доклинические исследования (работа выполнена по Государственному контракту № 14 № 08.12.1041 от 28.08.2015 г.). Сорбент, входящий в его препарата, выполняет функцию матрицы-носителя и обеспечивает пролонгированную доставку лития [2]. Такой же подход реализован и при разработке композиций с мелатонином [5].

В качестве перспективных материалов с развитой пористой структурой следует выделить кислородсодержащие соединения оксида алюминия (гамма-оксид алюминия, оксид-гидроксид алюминия), выступающих в роли пористых тел – как носителей, так и сорбентов с развитой мезо- и макропористой структурой. По своей природе кислородсодержащие соединения оксида алюминия являются продуктами крупнотоннажной химической промышленности: рентгеноструктурный гамма-оксид алюминия ($\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$), рентгеноаморфный оксид-гидроксид алюминия, получаемый термическим разложением гидроксида алюминия, однако они не имеют соответствующей документации, регламентирующей использование в медицинской промышленности [7]. Помимо этого, монокомпонент кислородсодержащего соединения алюминия не является привлекательным материалом для использования в области медицины, поскольку его поверхность характеризуется наличием кислых и основных центров разной силы.

Для получения «мягкой» химической природы пористого кислородсодержащего соединения алюминия перспективно использовать гидрофобизирующий модификатор – кремнийорганическую полиметилсилоксановую жидкость,

призванную нивелировать сильные кислотные и основные центры на поверхности матрицы. В качестве компонента, обуславливающего гидрофобные свойства, мы использовали кремнийорганические полидиметилсилоксановые жидкости, получаемые по ГОСТ 13032-77, в виде водных эмульсий марок П-814 (содержание кремния 20,6 %), П-841 (содержание кремния 25,5 %) и КЭ-1001 (содержание кремния 25–28 %). Последняя, согласно паспортным данным, имеет молекулярную массу 18000–19000 Да, а его эмульсии представляют собой однородные жидкости от белого до слегка окрашенного цвета, обладающие низкой текучестью, с примерным диаметром частиц эмульсии 60 мкм. Эмульсии не обладают токсичным действием на организм человека и не обладают раздражающим действием на кожу (4-й класс опасности). Для приготовления эмульсий с нужной концентрацией по полимеру полиметилсилоксану использовали дистиллированную воду по ГОСТ 6709-72.

В качестве матрицы-носителя в комплексе нами использован $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$ и оксид-гидроксид алюминия производства ОАО «Катализатор» (Новосибирск, Россия), а также $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$ производства Ангарского завода катализаторов и органического синтеза (фракция частиц размером 0,1 мм после размола более крупных черенкообразных гранул) (Ангарск, Россия). Это однородные рассыпчатые порошки белого цвета со следующими гранулометрическими характеристиками: размер гранул от 40 мкм до 1,0 мм, поверхность до 220 м²/г, преимущественный размер пор 10–100 нм, суммарный объемом пор до 0,6 см³/г (влагоемкость), насыпной вес 0,7–1,1 г/см³. Характеристики носителей представлены в табл. 1. Все носители не токсичны, пожаро- и взрывобезопасны, согласно ГН 2.2.5.1313-03 «Предельно допустимые концентрации (ПДК) вредных веществ в воздухе рабочей зоны» относятся к веществам четвертого класса опасности, применяются в качестве сорбентов-осушителей, носителей для катализаторов, основы для сорбента медицинского назначения (углеродминеральный энтеросорбент – ФС 42-2202-93, Рег. Уд. 93/174/7 и гемосорбент СУМС-1 – ТУ 64-6-401-89, МЗ СССР, Прот. 3, 30.10.87).

Для решения задачи десорбции АФИ из матрицы использовали специальные технологические приемы иммобилизации лития цитрата и полидиметилсилоксана на поверхности кислородсодержащего соединения алюминия, позволившие проводить синтез в одну стадию.

Принципиально важным обстоятельством является стабильность матрицы-носителя (оценка

Таблица 1. Характеристики кислородсодержащих соединений алюминия, использованных в качестве носителей при иммобилизации цитрата лития

Table 1. Characteristics of oxygen-containing aluminum compounds used as carriers in the immobilization of lithium citrate

Кислород-содержащее соединение алюминия	Производитель	НТД	Размер частиц, мм	$S_{уд}$, м ² /г	V_{Σ} , см ³ /г	d , nm	ρ , г/см ³
γ -Al ₂ O ₃	ОАО «Катализатор» (Новосибирск)	ТУ 6-68-185-2013	0,2–0,8	180–200	0,40	10–100	0,75
γ -Al ₂ O ₃	ОАО «Катализатор» (Новосибирск)	ТУ 6-68-224-2008	0,1	220	0,35	20-60	0,80
γ -Al ₂ O ₃ (размолотый)	Ангарский завод катализаторов и органического синтеза (Ангарск)	ТС 2163-004-04610600-2003	0,1	220	0,65	100	0,80
Оксид-гидроксид алюминия	ОАО «Катализатор» (Новосибирск)	ТУ 6-68-141-2015	0,04	до 100	0,18	100	1,0

Примечание. НТД – нормативно-техническая документация, $S_{уд}$ – удельная поверхность, V_{Σ} – суммарный объем пор, d – преимущественный диаметр пор, ρ – насыпная плотность.

Таблица 2. Некоторые физико-химические свойства полученных композиций на основе носителя (оксида алюминия и полидиметилсилоксана) и соединения лития (средние величины для трех серий)

Table 2. Some physical and chemical properties of the resulting compositions based on a carrier (aluminum oxide and polydimethylsiloxane) and a lithium compound (average values for three series)

№ серии	Композиция	АФИ, %	Размер частиц, мм	$S_{уд}$, м ² /г	Высвобождение за 30 мин, %	Адсорбция МГ, мг/г сорбента
1	Al ₂ O ₃ /ПДМС@Li	0,5 ± 0,04	0,1	165,2 ± 0,05	56 ± 0,5	26,2 ± 0,04
2	Al ₂ O ₃ /ПДМС@ Li	0,5 ± 0,02	0,1	160,0 ± 0,05	58 ± 0,7	23,3 ± 0,05
3	Al ₂ O ₃ /ПДМС@ Li	0,5 ± 0,04	0,1	162,0 ± 0,04	57 ± 0,7	23,5 ± 0,02

Примечание. $S_{уд}$ – удельная поверхность, МГ – метиленовый голубой. ПДМС – полидиметилсилоксан.

проводилась по методике «ускоренного хранения» в соответствии с ОФС – Общей фармакопейной статьей лекарственных средств). Данные аналитического контроля по содержанию лития в образцах в зависимости от времени хранения при повышенной температуре и при длительном температурном воздействии (55 °С) практически не изменяются. При контакте образцов лекарственного средства с водой в течение 30 мин в зависимости от времени их хранения при повышенной температуре установлено, что высвобождение лития с поверхности образцов при длительном температурном воздействии (55 °С) практически не изменяется. Величины удельной поверхности и объем пор образцов при длительном температурном воздействии (55 °С) остаются практически без изменений, т.е. изменений в пористой структуре не происходит, что подтверждает постоянство фазового состава матрицы. Величины

адсорбционной активности образцов, находящихся при длительном температурном воздействии (55 °С) не претерпевают значительных изменений по сравнению с исходными образцами.

Аналитический контроль трех серий опытных образцов лекарственного средства (методика «ускоренного хранения») на основе лития цитрата, оксида алюминия и полидиметилсилоксана в готовой лекарственной форме показал, что все они стабильны и практически сохраняют показатели исходных образцов. Из табл. 2 видно, что представленный препарат нормотимического лекарственного средства Al₂O₃/ПДМС@Li позволяет пролонгированно высвобождать литий с твердой поверхности и тем самым обеспечивать расширение терапевтического окна лития. Проведенные доклинические исследования имели формат, сравнительный с традиционным препаратом – карбонатом лития. При изучении спе-

цифической фармакологической активности показано, что $Al_2O_3/ПДМС@Li$ превосходит карбонат лития по антиагрессивным свойствам и влиянию на условно-рефлекторное поведение в условиях различных нарушений последнего.

Результаты фармакокинетических исследований концентраций лития в плазме крови кроликов показали, что максимальная концентрация была достигнута через 2 ч после однократного внутрижелудочного введения $Al_2O_3/ПДМС@Li$ в дозе 200 мг/кг и составила 0,34 мг/кг, константа абсорбции равнялась $1,9 \text{ ч}^{-1}$. Для более точной оценки констант расчет проводили в рамках двухкамерной модели. На терминальном участке кривой в координатах $\ln(C) - t$ были выделены две фазы элиминации с коэффициентами корреляции 1 и 0,99. Периоды полураспределения и полувыведения равнялись соответственно 2,9 и 14,6 ч. Величина кажущегося объема распределения лития в центральной камере составила 1,06 л/кг, что соответствует для кроликов средней величине по градации размеров параметра. Значение среднего времени удерживания MRT (21 ч) свидетельствует о длительном выведении его из организма. Биодоступность составила 54 %.

При изучении острой токсичности $Al_2O_3/ПДМС@Li$ в эксперименте на мышах и крысах показано, что после однократного внутрижелудочного введения у мышей в дозе до 12000 мг/кг наблюдалась гиподинамия в течение 15–20 мин, но гибели животных не отмечено. При запланированной эвтаназии на 15-й день проведен осмотр желудка (место введения), при этом никаких макроскопических признаков, свидетельствующих о его поражении (гиперемии, нарушении целостности слизистой оболочки) не обнаружено. Согласно ГОСТ 12.1.007-76 по результатам наблюдения на мышах и крысах препарат может быть отнесен к 4-му классу опасности (5000 мг/кг и более). Таким образом, $Al_2O_3/ПДМС@Li$ при внутрижелудочном введении в изученных дозах не обладает местнораздражающим действием. Исходная средняя масса, а также динамика изменения массы тела и прирост массы тела мышей и крыс (самок и самцов) во всех группах на протяжении всего исследования у экспериментальных животных достоверно не отличались от показателей контрольной группы.

При изучении хронической токсичности $Al_2O_3/ПДМС@Li$ получены данные, что изученное средство не оказывает токсического влияния на исследованные органы и системы экспериментальных животных при внутрижелудочном введении крысам в дозах 400, 2000, 4000 мг/кг и кроликам в дозах 110 и 2200 мг/кг в течение 90 суток.

Таким образом, полученные результаты позволяют сделать вывод о перспективности выбранного направления. Представлен инновационный и оригинальный лекарственный препарат, который позволил наилучшим образом проявить фармакологические свойства лития. Технология иммобилизации активных фармакологических ингредиентов на матрице из оксида алюминия и полидиметилсилоксана позволяет получать эффективные и безопасные лекарственные препараты.

Список литературы / References

1. Бородин Ю.И., Коненков В.И., Пармон В.Н., Любарский М.С., Рачковская Л.Н., Бгатова Н.П., Летагин А.Ю. Биологические свойства сорбентов и перспективы их применения. *Успехи соврем. биологии*. 2014; 134 (3): 236–248.
2. Бородин Ю.И., Рачковская Л.Н., Дарнева И.С., Новоселова Т.И. Энтеросорбент Ноолит для физической и психологической реабилитации. Новосибирск: Сова, 2006. 220 с.
3. Бородин Ю.И., Рачковская Л.Н., Дарнева И.С., Новоселова Т.И. Enterosorbent Noolit for physical and psychological rehabilitation. Novosibirsk: Sova, 2006. 220 p. [In Russian].
4. Коненков В.И., Рачковская Л.Н., Летагин А.Ю., Суслов Н.И., Шурлыгина А.В., Робинсон М.В., Королев М.А., Котлярова А.А., Попова Т.В., Рачковский Э.Э., Поветьева Т.Н., Шилова Н.В., Нестерова Ю.В., Афанасьева О.Г., Кульпин П.В. Влияние комплекса лития цитрата, полиметилсилоксана и оксида алюминия на условно-рефлекторное поведение интактных мышей при кофеиновой и алкогольной интоксикации. *Рос. физиол. журн.* 2017; 103 (10): 1125–1134.
5. Коненков В.И., Рачковская Л.Н., Летагин А.Ю., Суслов Н.И., Шурлыгина А.В., Робинсон М.В., Королев М.А., Котлярова А.А., Попова Т.В., Рачковский Э.Э., Поветьева Т.Н., Шилова Н.В., Нестерова Ю.В., Афанасьева О.Г., Кульпин П.В. The influence of the complex of lithium citrate, polymethylsiloxane and aluminum oxide on conditional reflector behavior of intact mice and mice with caffeine and alcohol intoxication. *Rossiyskiy fiziologicheskii zhurnal imeni Ivana Mikhaylovicha Sechenova = Russian Journal of Physiology*. 2017; 103 (10): 1125–1134. [In Russian].
6. Коненков В.И., Рачковская Л.Н., Летагин А.Ю., Суслов Н.И., Шурлыгина А.В., Робинсон М.В., Королев М.А., Котлярова А.А., Попова Т.В., Рачковский Э.Э., Поветьева Т.Н., Шилова Н.В., Нестерова Ю.В., Афанасьева О.Г., Кульпин П.В. The influence of the complex of lithium citrate, polymethylsiloxane and aluminum oxide on conditional reflector behavior of intact mice and mice with caffeine and alcohol intoxication. *Rossiyskiy fiziologicheskii zhurnal imeni Ivana Mikhaylovicha Sechenova = Russian Journal of Physiology*. 2017; 103 (10): 1125–1134. [In Russian].

- Попова Т.В., Рачковский Э.Э., Поветьева Т.Н., Шилова И.В., Нестерова Ю.В., Афанасьева О.Г., Кульпин П.В. Влияние нового лекарственного средства на основе комплекса лития цитрата, полиметилсилоксана и оксида алюминия на адаптацию животных к физическим нагрузкам, социальную адаптацию и агрессивное поведение. *Эксперим. и клин. фармакология*. 2019; 82 (1): 3–7. doi: 10.30906/0869-2092-2019-82-1-3-7
- Konenkov V.I., Rachkovskaya L.N., Letyagin A.Yu., Suslov N.I., Shurlygina A.V., Robinson M.V., Korolev M.A., Kotlyarova A.A., Popova T.V., Rachkovsky E.E., Poveteveva T.N., Chilova I.V., Nesterova Yu.V., Afanaseva O.G., Kulpin P.V. Influence of a new drug based on a complex of lithium citrate, polymethylsiloxane and aluminum oxide on the adaptation of animals to physical activity, social adaptation and aggressive behavior. *Ekspierimental'naya i klinicheskaya farmakologiya = Experimental and Clinical Pharmacology*. 2019; 82 (1): 3–7. [In Russian]. doi: 10.30906/0869-2092-2019-82-1-3-7
5. Мичурина С.В., Лetyагин А.Ю., Шурлыгина А.В., Королев М.А., Ищенко И.Ю., Васендин Д.В., Архипов С.А. Гепато-иммуно-эпифизарная ось межсистемных взаимодействий. Мелатонин и структурно-функциональные изменения печени и иммунной системы при ожирении и сахарном диабете 2 типа. Новосибирск: Манускрипт, 2019. 303 с.
- Michurina S.V., Letyagin A.Yu., Shurlygina A.V., Korolev M.A., Ishchenko I.Yu., Vasendin D.V., Arkhipov S.A. Hepato-immuno-epiphyseal axis of intersystem interactions. Melatonin and structural and functional changes in the liver and immune system in obesity and type 2 diabetes. Novosibirsk: Manuscript, 2019. 300 p. [In Russian].
6. Социально-значимые заболевания населения России в 2018 году (Статистические материалы). М., 2019. 37 с. <https://www.rosminzdrav.ru/ministry/61/22/stranitsa-979/statisticheskie-i-informatsionnye-materialy/statisticheskii-sbornik-2018-god>
- Socially significant diseases of the Russian population in 2018 (Statistical materials). Moscow, 2019. 37 p. <https://www.rosminzdrav.ru/ministry/61/22/stranitsa-979/statisticheskie-i-informatsionnye-materialy/statisticheskii-sbornik-2018-god> [In Russian]
7. Чукин Г.Д. Строение оксида алюминия и катализаторов гидрообессеривания. Механизмы реакций. М.: Принта, 2010. 288 с.
- Chukin G.D. Structure of aluminum oxide and hydrodesulfurization catalysts. Reaction mechanism. Moscow: Printa, 2010. 288 p. [In Russian].
8. Эпидемиологические показатели и показатели психиатрических служб в Российской Федерации (2005–2013 гг.). Статистический справочник. М., 2015. 570 с.
- Epidemiological indicators and indicators of psychiatric services in the Russian Federation (2005–2013). Statistical reference book. Moscow, 2015. 570 p. [In Russian]
9. Öhlund L. Ott M., Oja S., Bergqvist M., Lundqvist R., Sandlund M., Salander Renberg E., Werneke U. Reasons for lithium discontinuation in men and women with bipolar disorder: a retrospective cohort study. *BMC Psychiatry*. 2018; 18 (1): 37. doi: 10.1186/s12888-018-1622-1
10. Post R.M. The new news about lithium: an underutilized treatment in the United States. *Neuropsychopharmacology*. 2018; 43 (5): 1174–1179. doi: 10.1038/npp.2017.238
11. Rybakowski J.K. Challenging the Negative Perception of Lithium and Optimizing Its Long-Term Administration. *Front. Mol. Neurosci*. 2018; (11): 349. doi: 10.3389/fnmol.2018.00349
12. World Health Organization. ICD-11 for mortality and morbidity statistics: Bipolar or related disorders. <https://icd.who.int/browse11/l-m/en>

Сведения об авторах:

Максим Александрович Королев, к.м.н., ORCID: 0000-0002-4890-0847, e-mail: kormax@bk.ru

Любовь Никифоровна Рачковская, к.х.н., ORCID:0000-0001-9622-5391, e-mail: noolit@niikel.ru

Владимир Иосифович Коненков, д.м.н., проф., академик РАН, ORCID: 0000-0001-7385-6270,
e-mail: vikonenkov@gmail.com

Андрей Юрьевич Лetyагин, д.м.н., проф., ORCID: 0000-0002-9293-4083, e-mail: letyagin-andrey@yandex.ru

Павел Геннадьевич Мадонов, д.м.н., проф., ORCID: 0000-0002-1093-8938, e-mail: pmadonov@yandex.ru

Information about the authors:

Maksim A. Korolev, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0002-4890-0847, e-mail: kormax@bk.ru

Lyubov N. Rachkovskaya, candidate of chemical sciences, ORCID:0000-0001-9622-5391, e-mail: noolit@niikel.ru

Vladimir I. Konenkov, doctor of medical sciences, professor, academician of RAS, ORCID: 0000-0001-7385-6270,
e-mail: vikonenkov@gmail.com

Andrey Yu. Letyagin, doctor of medical sciences, professor, ORCID: 0000-0002-9293-4083,
e-mail: letyagin-andrey@yandex.ru

Pavel G. Madonov, doctor of medical sciences, professor, ORCID: 0000-0002-1093-8938,
e-mail: pmadonov@yandex.ru

Поступила в редакцию 31.01.2020

После доработки 12.02.2020

Принята к публикации 04.03.2020

Received 31.01.2020

Revision received 12.02.2020

Accepted 04.03.2020

Безопасность применения кондиционной среды, полученной при направленной остеогенной индукции мезенхимальных стволовых клеток костного мозга крыс

Л.А. Покровская¹, Е.Ю. Шерстобоев^{1,2}, С.В. Надеждин³, М.Г. Данилец²,
Е.С. Трофимова², А.А. Лигачева², А.А. Чуринов², Т.Ю. Дубская²

¹ Национальный исследовательский Томский государственный университет
634050, г. Томск, просп. Ленина, 36

² НИИ фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга,
Томский национальный исследовательский медицинский центр РАН
634028, г. Томск, просп. Ленина, 3

³ Белгородский государственный национальный исследовательский университет
308015, г. Белгород, ул. Победы, 85

Резюме

Цель исследования: изучить цитотоксичность *in vitro* и подострую токсичность *in vivo* кондиционной среды (КС), полученной при направленной остеогенной индукции мезенхимальных стволовых клеток (МСК) костного мозга крыс. **Материал и методы.** Кондиционную среду получали при культивировании МСК костного мозга крыс, индуцированных в остеогенном направлении. **Результаты и их обсуждение.** КС МСК костного мозга крыс, индуцированных в остеогенном направлении, не обладает существенным цитотоксическим действием на культуру клеток аденокарциномы Эрлиха и мононуклеары периферической крови здоровых доноров *in vitro*. Введение КС МСК не оказывало негативного влияния на состояние экспериментальных крыс SD, общую массу животных и ее прирост. Патоморфологическое исследование не выявило отклонений от общепринятой нормы, связанных с действием вводимого препарата. **Заключение.** Применение КС МСК костного мозга крыс, стимулированных в остеогенном направлении, как *in vitro* в отношении линии опухолевых клеток (аденокарцинома Эрлиха) и мононуклеаров периферической крови здоровых доноров, так и *in vivo* при введении экспериментальным животным является безопасным.

Ключевые слова: мезенхимальные стволовые клетки костного мозга крыс, кондиционная среда, цитотоксичность, подострая токсичность, крысы SD.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Благодарности. Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования РФ, соглашение № 14.575.21.0164, идентификатор RFMEFI57517X0164.

Автор для переписки: Шерстобоев Е.Ю., e-mail: sherstoboev_eu@pharmso.ru

Для цитирования: Покровская Л.А., Шерстобоев Е.Ю., Надеждин С.В., Данилец М.Г., Трофимова Е.С., Лигачева А.А., Чуринов А.А., Дубская Т.Ю. Безопасность применения кондиционной среды, полученной при направленной остеогенной индукции мезенхимальных стволовых клеток костного мозга крыс. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2020; 40 (2): 47–55. doi: 10.15372/SSMJ20200206

The safety of the use of the conditioned medium obtained by directed osteogenic induction of rat bone marrow mesenchymal stem cells

L.A. Pokrovskaya¹, E.Yu. Sherstoboev^{1,2}, S.V. Nadezhdin³, M.G. Danilets²,
E.S. Trofimova², A.A. Ligacheva², A.A. Churin², T.Yu. Dubskaya²

¹ National Research Tomsk State University
634050, Tomsk, Lenin av., 36

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

³ Belgorod National Research University
308015, Belgorod, Pobedy str., 85

Abstract

The purpose of the study was to evaluate *in vitro* cytotoxicity and *in vivo* sub-acute toxicity of conditioned medium obtained from rat bone marrow-derived mesenchymal stem cells directed to osteogenic differentiation. **Material and methods.** Conditioned medium was obtained by culturing rat bone marrow-derived MSCs induced under osteogenic condition. **Results and discussion.** Conditioned medium from rat bone marrow-derived MSCs was shown to have no significant cytotoxic effect on Ehrlich adenocarcinoma cell culture and *in vitro* expanded peripheral blood mononuclear cells from healthy donors. The use of MSC-CM did not have a significant effect on the state of experimental SD rats, the total body weight and growth rate of animals. A pathomorphologic study revealed no any abnormalities associated with MSC-CM injection. **Conclusion.** The use of conditioned medium from rat bone marrow-derived mesenchymal stem cells stimulated under osteogenic condition was found to be safe for both *in vitro* studies (with respect to Ehrlich adenocarcinoma cell line and peripheral blood mononuclear cells from healthy donors) and *in vivo* studies (injection of MSC-CM to animals).

Key words: rat bone marrow mesenchymal stem cells, conditioned medium, cytotoxicity, subacute toxicity, SD rats.

Conflict of interests. Authors declare lack of the possible conflicts of interests.

Acknowledgments. The study was supported by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, agreement No. 14.575.21.0164, identifier RFMEFI57517X0164.

Corresponding author: Sherstoboev E.Yu., e-mail: sherstoboev_eu@pharmso.ru

Citation: Pokrovskaya L.A., Sherstoboev E.Yu., Nadezhdin S.V., Danilets M.G., Trofimova E.S., Ligacheva A.A., Churin A.A., Dubskaya T.Yu. The safety of the use of the conditioned medium obtained by directed osteogenic induction of rat bone marrow mesenchymal stem cells. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2020; 40 (2): 47–55. [In Russian]. doi: 10.15372/SSMJ20200206

Введение

В травматологии и ортопедии существует постоянная необходимость в использовании костных имплантатов при повреждениях и заболеваниях костно-суставной системы. Считается, что для замещения костного дефекта эффективно использование аутогенного костного трансплантата, которое до сих пор является «золотым стандартом» для процедур костной трансплантации. Однако известно, что при заборе аутокости увеличивается время оперативного вмешательства, потеря крови, продолжительность госпитализа-

ции. Кроме того, аутоотрансплантат быстро резорбируется и, как правило, часто деградирует еще до полного заживления костного дефекта. В наши дни алло- и ксенотрансплантаты коммерчески доступны [1, 5]. Тем не менее, помимо того, что этим материалам трудно придать желаемую форму, костные аллоимплантаты отличаются медленной остеоинтеграцией, риском передачи от донора к реципиенту различных заболеваний бактериальной или вирусной этиологии, возможностью развития реакции гистонесовместимости и хронического гранулематозного воспаления, высокой стоимостью аллокости [5].

Использование синтетического биоинертного материала (полимеры, фосфаты кальция, пластмассы, металлы и т.д.) ксеногенного и аллопластического происхождения частично решает проблемы размера и формы, обеспечения механической прочности и иных специфических требований к имплантатам, но по остеоиндуктивным и остеокондуктивным свойствам они все же значительно уступают аутологичным или аллогенным материалам [4, 13]. В настоящее время данная проблема решается производством индивидуальных имплантатов с добавлением биоактивных веществ на основе носителей (скаффолдов) из синтетических биорезорбируемых материалов, которые заселяются аутологичными стволовыми клетками пациента, вследствие чего с большой точностью по структурным и биомеханическим особенностям соответствуют поврежденному участку, а также не имеют иммунологического отторжения [6]. В качестве биоактивных веществ, стимулирующих остеогенную дифференцировку, рассматривались такие ростовые факторы, как костные морфогенетические белки (BMP), инсулиноподобный фактор роста 1 и 2 (IGF-1, -2), трансформирующий фактор роста $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$), тромбоцитарный фактор роста (PDGF) и фактор роста фибробластов 2 (FGF-2), которые могут усилить остеогенную дифференцировку клеток [22, 24]. Однако эти остеогенные факторы роста имеют высокую стоимость, могут усиливать воспалительные реакции и для эффективности должны применяться в дозах, значительно превышающих их физиологический уровень [17, 23].

Мезенхимальные стволовые клетки (МСК) являются привлекательным кандидатом для регенерации тканей благодаря их способности дифференцироваться во многие типы клеток, включая кости, хрящи, жировую ткань и мышцы [7, 14]. Хотя и были показаны успехи в регенерации костей с использованием МСК, однако проведение этой процедуры сопряжено с рядом проблем, таких как большие капитальные вложения, дорогостоящее культивирование клеток, сложности в управлении безопасностью и качеством при обращении с клетками и инвазивность процедуры при сборе МСК из костного мозга у пациентов. Более того, недавние исследования трансплантации МСК при повреждении спинного мозга показали, что имплантированные клетки выживали лишь в течение 1–2-х недель после пересадки [9, 11]. Из-за ограниченной выживаемости и дифференцировки трансплантированных МСК предполагается, что паракринный эффект секреции МСК является основным механизмом регенерации ткани [8].

В некоторых исследованиях изучалось влияние кондиционной среды (КС) МСК на различные заболевания и состояния, такие как заживление ран, сердечные и ишемические заболевания [15], сращивание кости у крыс [20], повреждение спинного мозга [2], артрит [10]. Применение КС МСК имеет ряд преимуществ по сравнению с использованием стволовых клеток, таких как легкий сбор КС и транспортировка [15]. Однако кроме изучения эффективности применения КС МСК необходимо уделить большое внимание безопасности ее использования.

Целью данного исследования является изучение цитотоксических эффектов КС МСК в отношении ряда клеточных популяций *in vitro* и подострой токсичности на животных *in vivo*.

Материал и методы

МСК костного мозга крыс. Первичную культуру МСК получали из бедренной и большеберцовой костей аутобредных крыс Wistar. Животное усыпляли передозировкой углекислого газа, обрабатывали шерсть 70%-м спиртовым раствором, разрезали кожу по средней линии живота, оголяли задние конечности. Кожу обрабатывали 70%-м спиртовым раствором. Стерильными остроконечными ножницами вскрывали кожу и мягкие ткани, выделяли трубчатые кости конечностей. Кости переносили в пробирку с культуральной средой DMEM/F12 («Росмедбио», РФ) с антибиотиками (100 ЕД/мл пенициллина, 100 ЕД/мл стрептомицина, «Sigma», США). Затем кости очищали от мягких тканей с помощью фосфатно-солевого буфера (ФСБ, «Sigma») и переносили в чашку Петри. Ножницами срезали эпифизы, при помощи шприца вымывали костный мозг средой DMEM/F12 в чистую пробирку, разбивали костный мозг на отдельные клетки с помощью пропускания через шприц. Полученную взвесь клеток центрифугировали при 250 g в течение 5 мин, надосадочную жидкость сливали, к клеткам добавляли 0,83%-й раствор хлорида аммония для разрушения кроветворных клеток, перемешивали 5 раз. Дважды отмывали клетки от хлорида аммония ФСБ центрифугированием при 250 g в течение 5 мин, ресуспендировали в 10 мл полной культуральной среды (ПКС) DMEM/F12 с 10 % эмбриональной телячьей сыворотки («HyClone», США), 1 % антибиотика (Penicillin-Streptomycin, «Gibco», США) и 1 % глутамина («Lonza», Швейцария). Полученную суспензию клеток в ПКС переносили в отдельный флакон с площадью 25 см² и помещали в CO₂-инкубатор, культивировали 2 суток при 37 °C, 5 % CO₂, 100 % влажности. ПКС с не прилипшими к пластику

клетками сливали. В данном флаконе остались только прилипающие клетки, содержащие фракцию МСК. Было проведено фенотипирование культуры МСК крыс (определение положительной экспрессии CD90, CD29 и отрицательной экспрессии CD45, CD31) методом проточной цитофлуориметрии.

КС МСК костного мозга крыс. МСК культивировали в пластиковых культуральных флаконах в ПКС в условиях 5 % CO₂ во влажной атмосфере при 37 °С для получения достаточного количества клеток (около 700 млн клеток). Далее питательную среду удаляли, монослой клеток промывали ФСБ. Для стимуляции дифференцировки МСК в остеогенном направлении использовали полную питательную среду, содержащую дексаметазон (0,1 мкМ), аскорбиновую кислоту (50 мкМ) и β-глицерофосфат натрия (10 мМ) согласно протоколу M.F. Pittenger et al. [19]. Через несколько суток остеоиндуктивную среду удаляли, монослой клеток промывали ФСБ и добавляли такое же количество бессывороточной питательной среды DMEM без добавок. После завершения культивирования всю КС собирали и центрифугировали при 3000 об/мин в течение 10 мин. Полученный супернатант пропускали через фильтр 0,22 мкм. КС концентрировали путем ультрафильтрации в тангенциальном потоке при помощи системы Vivaflow® 200 (Sartorius, Германия). Полученный концентрат подвергали диализу при помощи системы Vivaflow® 200 (Sartorius), добавляя деионизованную воду в емкость для пробы/диафильтрации. Очищенный от солей концентрат КС высушивали в вакуумном ротационном испарителе Rotavapor® R-210 (Buchi, Швейцария). Полученную фракцию хранили в морозильной камере при температуре –20 °С, для более длительного хранения – при –80 °С. Для изучения безопасности сухой образец белковых факторов КС разбавляли в бессывороточной среде DMEM/F12, пропускали через фильтр с размером пор 0,22 мкм в асептических условиях и использовали в конечной концентрации 0,33 мг/мл.

Цитотоксичность КС МСК *in vitro*. Для исследования цитотоксичности использовали линию клеток аденокарциномы Эрлиха и мононуклеарные лейкоциты крови здоровых доноров. Опухолевая клеточная линия до исследования хранилась при температуре –195 °С в жидком азоте в культуральной среде, содержащей криопротектор (диметилсульфоксид), затем была разморожена и культивировалась на мышках линии C57Bl/6 в асцитном варианте. Мононуклеарные лейкоциты выделяли из крови здоровых доноров (10 мужчин в возрасте 18–25 лет), взятой утром

натощак из локтевой вены и стабилизированной раствором гепарина (10 ЕД/мл). У доноров брали информированное согласие на участие в исследовании. 10 мл цельной крови инкубировали в термостате 37 °С 1 ч, затем осторожно снимали верхние 4 мл и наслаивали на 2 мл жидкости для сепарации клеток Histopaque-1077 (Sigma) с плотностью 1,077 г/мл. После 15-минутного центрифугирования на градиенте плотности при 400 g собирали клетки, сформировавшие кольцо на границе растворов, трижды отмывали холодной средой 199 с 5 % эмбриональной телячьей сыворотки, переносили и ресуспендировали в ПКС следующего состава: 90 % культуральной среды RPMI-1640 (Sigma), 10 % эмбриональной телячьей сыворотки, 10 мМ буфера Hepes (Sigma), 2 мМ L-глутамин (Sigma), 40 мкг/мл гентамицина (Sigma).

Пипетировали 10 раз клеточную линию с целью равномерного распределения клеток в ПКС перед смешиванием с объектом исследования. Добавляли взвесь выбранных для тестирования здоровых или опухолевых клеток в культуральную посуду, смешивали с КС МСК, взятой в конечном разведении 50, 25 и 12,5 %. Отдельно смешивали клетки с отрицательным или положительным контролем в конечном разведении 50, 25 и 12,5 %. Конечная концентрация применяемых клеток составила 1×10^6 кариоцитов (ядросодержащих клеток)/мл. Все пробы выполняли не менее чем в пяти дублях. В качестве отрицательного контроля цитотоксичности использовали культуральную среду, которая подвергалась воздействию тех же условий и процедур, что и культуральная среда, используемая для получения КС МСК. В качестве положительного контроля цитотоксичности, согласно ГОСТ ISO 10993-5-2011, применяли разведение фенола. В концентрации 0,01 % фенол вызывает 90 % гибель клеток.

Помещали культуры в CO₂-инкубатор на 24 часа при 37 °С, 5 % CO₂ и 100 % влажности, далее определяли *in vitro* цитотоксичность объекта исследования методом качественной и количественной оценки. Качественная оценка цитотоксичности: осматривали клетки через световой микроскоп Ergaval Carl Zeiss Jena (Германия), оценивали общую морфологию, вакуолизацию, расщепление, лизис клеток и целостность мембран. Результаты выражали в процентах при подсчете 100 клеток. Количественная оценка цитотоксичности: подсчитывали число живых и погибших клеток с использованием суправитальной окраски 0,4%-м раствором трипанового синего, долю выживших (неокрашенных) клеток определяли по формуле $B (\%) = 100 \% - П$, где

В – процент выживших клеток; П – процент погибших (окрашенных) клеток.

Животные. Для получения МСК костного мозга использовали крысу-самца Wistar массой 330 граммов в возрасте 2,5 месяца. Для изучения безопасности КС МСК использовали аутбредных конвенциональных крыс стока SD, всего 24 животных обоего пола (по 6 самцов и 6 самок в опытной и контрольной группах) массой 200–350 г в возрасте 2,5 месяца. Эксперименты с животными выполнялись с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации, в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных».

Подострая токсичность КС МСК *in vivo*. КС МСК вводили 12 крысам обоего пола в объеме 1 мл/кг с концентрацией белковых компонентов 0,33 мг/мл внутримышечно в область бедра, ближе к надкостнице, так как предполагается использовать остеогенные свойства КС для эндогенной стимуляции костеобразования (опытная группа). Контрольной группе животных аналогичным образом вводили растворитель (культуральная среда DMEM/F12). Наблюдение за животными осуществляли в течение 28 дней после введения КС или растворителя.

Выявление смертности, тяжелого состояния, общего состояния здоровья и признаков токсичности проводили 1–2 раза в день (в первой и во второй половине дня) во всех группах в течение всего периода наблюдения. Животных осматривали в клетке, на руках и, при необходимости, на открытой поверхности. Оценивали характер экскреции, состояние шерсти, кожных покровов, слизистых оболочек, аппетит, дыхание, подвижность, нервно-мышечную возбудимость, походку, агрессивность, миоз/мидриаз/экзофтальм и другие признаки отклонений от здоровья. Массу тела регистрировали в опытной и контрольной группах перед первым введением, затем еженедельно на протяжении всего периода наблюдения. Потребление корма и воды оценивали визуально (отклонение от нормы) еженедельно в течение всего периода наблюдения. Эвтаназию выполняли через 28 суток наблюдения в CO₂-камере.

Статистический анализ. Для всех данных применена описательная статистика: подсчитаны среднее значение (M) и стандартная ошибка среднего (m), результаты представлены в виде $M \pm m$. Проверку на нормальность распределения проводили с помощью критерия Шапиро – Уилка. Сравнение выборочных средних осуществляли с использованием t -критерия Стьюдента в случае нормального распределения или с помощью

непараметрического критерия Манна – Уитни в случае распределения, отличающегося от нормального. Критический уровень значимости нулевой статистической гипотезы (p) принимали равным 0,05.

Результаты

Качественная оценка цитотоксичности КС МСК *in vitro*. Исследование влияния КС МСК, стимулированных в остеогенном направлении, показало, что добавление ее в концентрациях 12,5 и 50 % от конечного объема в культуру опухолевых клеток достоверно повышало долю клеток, не имеющих отклонения в морфологии, по сравнению с отрицательным контролем, а при использовании концентрации 25 % относительное число клеток, не имеющих морфологических отклонений, было на уровне отрицательного контроля (табл. 1). При добавлении КС МСК в культуру мононуклеаров периферической крови здоровых доноров в различных концентрациях относительное число клеток, не имеющих морфологических отклонений, достоверно снижалось по сравнению со значениями отрицательного контроля, хотя при этом показатели опытных групп были в пределах целевых значений (80–100 %), представленных в ГОСТ ISO 10993-5-2011 «Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 5. Исследования на цитотоксичность: методы *in vitro*». Добавление в культуру опухолевых клеток и мононуклеаров крови доноров раствора фенола (положительный контроль) в различных концентрациях значительно снижало процент клеток, не имеющих отклонения в морфологии, по сравнению с соответствующими показателями опытной группой.

Количественная оценка цитотоксичности КС МСК *in vitro*. Исследование влияния КС МСК, стимулированных в остеогенном направлении, показало, что добавление ее в концентрациях 25 и 50 % от конечного объема в культуру опухолевых клеток достоверно повышало количество живых клеток по сравнению с соответствующими значениями отрицательного контроля, а в концентрации 12,5 % не влияло на изучаемый показатель (см. табл. 1). При добавлении КС МСК в культуру мононуклеаров периферической крови здоровых доноров в различных концентрациях относительное число живых клеток достоверно не изменялось по сравнению со значениями отрицательного контроля. Добавление в культуру опухолевых клеток и мононуклеаров крови доноров раствора фенола (положительный контроль) значительно увеличивало процент гибели клеток по сравнению с опытной группой.

Таблица 1. Влияние КС МСК на количество клеток аденокарциномы Эрлиха и мононуклеаров периферической крови здоровых доноров

Table 1. The effect of MSC conditioned medium on the number of cells (%) of Ehrlich adenocarcinoma and healthy donor peripheral blood mononuclear cells

Экспериментальная группа	Концентрация, %	Клетки, не имеющие отклонений в морфологии		Живые клетки	
		Опухоль Эрлиха	Мононуклеары	Опухоль Эрлиха	Мононуклеары
Отрицательный контроль (культуральная среда)	12,5	92,20 ± 1,20	91,80 ± 1,07	94,60 ± 1,44	95,40 ± 1,08
	25	88,80 ± 2,08	92,00 ± 0,89	87,80 ± 2,31	91,80 ± 1,24
	50	87,00 ± 1,48	91,60 ± 0,81	85,20 ± 2,29	90,20 ± 1,16
Опыт (кондиционная среда)	12,5	95,40 ± 0,68*#	82,00 ± 2,02*#	97,20 ± 0,58#	95,80 ± 0,86#
	25	92,80 ± 1,07#	83,20 ± 1,28*#	95,20 ± 0,73*#	92,20 ± 1,02#
	50	91,00 ± 0,84*#	85,80 ± 0,86*#	91,80 ± 0,80*#	86,20 ± 1,71#
Положительный контроль (фенол)	12,5	35,20 ± 1,39	35,20 ± 4,14	34,00 ± 1,61	35,00 ± 4,55
	25	31,40 ± 1,12	30,20 ± 2,35	29,20 ± 1,83	29,60 ± 2,29
	50	14,20 ± 1,53	13,80 ± 0,97	12,80 ± 0,86	12,40 ± 1,63

Примечание. Обозначены статистически значимые ($p < 0,05$) отличия от величин соответствующих показателей: * – отрицательного контроля, # – положительного контроля.

Таблица 2. Общая масса тела (г) и прирост массы тела (%) самцов и самок крыс в течение 28 дней после введения КС МСК

Table 2. Total body weight (g) and weight gain (%) of male and female rats during 28 days after the injection of MSC conditioned medium

День взвешивания	Самцы		Самки	
	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
1-й	299,67 ± 11,43	307,33 ± 9,58	241,00 ± 5,63	246,33 ± 5,16
7-й	319,83 ± 11,80	337,67 ± 7,76	265,17 ± 5,49	256,67 ± 4,00
14-й	334,67 ± 14,73	350,50 ± 6,08	273,33 ± 5,90	271,00 ± 4,91
21-й	351,50 ± 16,75	369,17 ± 6,35	282,33 ± 4,84	284,33 ± 6,04
28-й	370,17 ± 16,76	391,50 ± 5,54	300,00 ± 3,41	299,33 ± 4,39
Прирост на 7-е сутки	6,80 ± 1,53	10,05 ± 1,40	10,12 ± 1,52	4,27 ± 1,03
Прирост на 14-е сутки	11,64 ± 2,25	14,35 ± 2,14	13,57 ± 2,51	10,06 ± 0,94
Прирост на 21-е сутки	17,16 ± 2,28	20,46 ± 2,37	17,35 ± 2,47	15,45 ± 1,06
Прирост на 28-е сутки	23,45 ± 2,46	27,80 ± 2,79	24,72 ± 2,32	21,62 ± 1,35

Исследование подострой токсичности КС МСК *in vivo*. Введение КС МСК, стимулированных в остеогенном направлении, не вызвало гибели животных, изменений состояния шерсти, кожи, слизистых оболочек и других показателей, включая массу тела животных, как самцов, так и самок (табл. 2). Отклонений в потреблении корма и воды в сравнении с контрольными группами животных не наблюдалось. В ходе визуального исследования внешнего состояния тела животных, внутренних поверхностей и проходов, поло-

сти черепа, грудной, брюшной и тазовой полостей с находящимися в них органами и тканями, шеи с органами и тканями, каркаса и скелетно-мышечной системы при плановой некропии через 28 сут после введения КС МСК морфологических признаков отклонения от общепринятой нормы, связанных с действием вводимого препарата, выявлено не было. Различий в цитотоксичности *in vivo* в отношении миелокариоцитов костного мозга крыс между контрольными и экспериментальными группами не выявлено (рисунок).

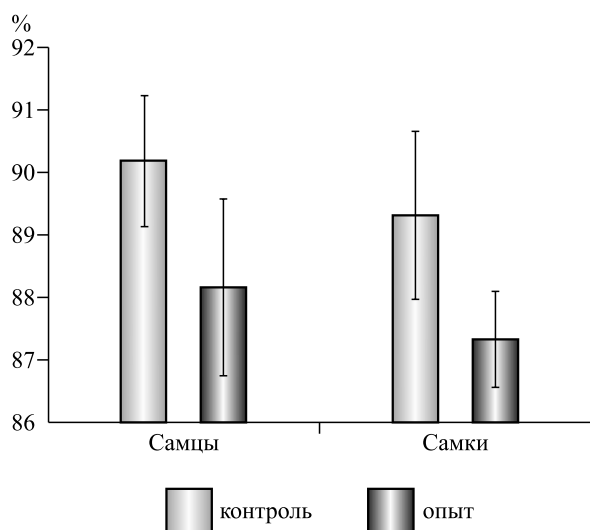


Рис. Влияние КС МСК на количество живых клеток (%) костного мозга у аутбредных крыс через 28 дней после внутримышечного введения в объеме 1 мл/кг

Fig. The effect of MSC conditioned medium on the number of living cells (%) of bone marrow in outbred rats after intramuscular injection in a volume of 1 ml/kg after 28 days

Обсуждение

Тканевая инженерия является многообещающей стратегией для лечения заболеваний костей и восстановления их дефектов [3, 16]. Как правило, тканеинженерные конструкции включают в себя культуру МСК, которую часто выращивают на каркасах из биоматериалов в условиях *in vitro* в присутствии остеогенных факторов роста и питательных веществ. Стандартная процедура для индукции остеогенной дифференцировки МСК *in vitro* заключается в культивировании клеток в присутствии смеси дексаметазона, аскорбиновой кислоты и β -глицерофосфата [18, 21]. Однако *in vivo* ни одна из этих добавок не регулирует физиологическую дифференцировку остеопрогениторных клеток. Вместо этого паракринные факторы, продуцируемые различными типами клеток, такими как МСК, эндотелиальные клетки-предшественники и хондроциты, вносят вклад в остеогенную дифференцировку.

Показано, что КС МСК обладает высоким потенциалом заживления кости, опосредованным цитокинами, такими как TGF- β 1, IGF-1, VEGF и BMP-1. Эти факторы регулируют процесс остеогенеза, ангиогенез, миграцию клеток, а также пролиферацию и дифференцировку остеобластов [12]. Таким образом, положительные эффекты МСК при регенерации поврежденных тканей, включая костную, обусловлены не непосредственным участием МСК в процессах реге-

нерации, а опосредованы паракринными механизмами путем продукции ростовых факторов и цитокинов. На основании этого для целей регенеративной медицины можно будет использовать не сами МСК, а полученную при их культивировании КС. Возможность усиления регенерации кости путем имплантации КС МСК, а не стволовых клеток, является новой концепцией в тканевой инженерии и регенеративной медицине. Этот биомедицинский продукт для регенерации костей может значительно снизить стоимость терапии и сократить ее продолжительность. Доставка КС МСК к месту перелома или дефекта кости возможна в составе тканеинженерных конструкций при заключении КС, содержащей факторы роста, в полимерные биodeградируемые капсулы. Однако необходимо изучить безопасность применения КС МСК в начале животного, а затем и человеческого происхождения в отношении различного типа клеток *in vitro* и общетоксические свойства *in vivo*.

В результате проведенных исследований показано, что добавление КС МСК крыс, стимулированных в остеогенном направлении, в различных объемах в культуру клеток аденокарциномы Эрлиха и мононуклеаров периферической крови здоровых доноров не оказывает существенного негативного влияния на их морфологию и жизнеспособность. Введение исследуемой КС крысам не оказывало существенного влияния на их состояние: не вызвало гибели, изменения состояния шерсти, кожи, слизистых оболочек и др., общая масса и процент прироста животных опытных групп не отличались от данных показателей в контрольной группе животных в течение всего исследования. В ходе визуального исследования внешнего состояния тела животных, внутренних поверхностей и проходов, полости черепа, грудной, брюшной и тазовой полостей с находящимися в них органами и тканями, шеи с органами и тканями, каркаса и скелетно-мышечной системы при плановой некропии на 28-е сутки морфологических признаков отклонения от общепринятой нормы, связанных с действием вводимого препарата, не выявлено. Местнораздражающее действие КС не оказывала. При изучении влияния на жизнеспособность клеток костного мозга крыс, которым была введена КС МСК, цитотоксичности в отношении миелокариоцитов не обнаружено.

Заключение

Таким образом, показана безопасность применения КС МСК костного мозга крыс, стимулированных в остеогенном направлении, как *in vitro* в отношении линии опухолевых клеток

(аденокарцинома Эрлиха) и моноклеаров периферической крови здоровых доноров, так и *in vivo* при введении КС МСК экспериментальным животным.

Список литературы/References

1. Athanasiou V.T., Papachristou D.J., Panagopoulos A., Saridis A., Scopa C.D., Megas P. Histological comparison of autograft, allograft-DBM, xenograft, and synthetic grafts in a trabecular bone defect: an experimental study in rabbits. *Med. Sci. Monit.* 2010; 16: 24–31.
2. Cantinieaux D., Quertainmont R., Blacher S., Rossi L., Wanet T., Noël A., Brook G., Schoenen J., Franzen R. Conditioned medium from bone marrow derived mesenchymal stem cells improves recovery after spinal cord injury in rats: an original strategy to avoid cell transplantation. *PLoS One.* 2013; 8: e69515, doi: 10.1371/journal.pone.0069515
3. Dawson J.I., Oreffo R.O. Bridging the regeneration gap: stem cells, biomaterials and clinical translation in bone tissue engineering. *Arch. Biochem. Biophys.* 2008; 473: 124–131. doi: 10.1016/j.abb.2008.03.024
4. Eppley B.L., Morales L., Wood R., Pensler J., Goldstein J., Havlik R.J., Habal M., Losken A., Williams J.K., Burstein F., Rozzelle A.A., Sadove A.M. Resorbable PLLA-PGA plate and screw fixation in pediatric craniofacial surgery: clinical experience in 1883 patients. *Plast. Reconstr. Surg.* 2004; 114: 850–856. doi: 10.1097/01.prs.0000132856.69391.43
5. Eppley B.L., Pietzak W.S., Blanton M.W. Allograft and alloplastic bone substitutes: a review of science and technology for the craniomaxillofacial surgeon. *J. Craniofac. Surg.* 2005; 16: 981–989. doi: 10.1097/01.scs.0000179662.38172.dd
6. Grayson W.L., Frohlich M., Yeager K., Bhuriratana S., Chan M.E., Cannizzaro C., Wan L.Q., Liu X.S., Guo X.E., Vunjak-Novakovic G. Engineering anatomically shaped human bone grafts. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2010; 107: 3299–3304. doi: 10.1073/pnas.0905439106
7. Han Y., Li X., Zhang Y., Han Y., Chang F., Ding J. Mesenchymal stem cells for regenerative medicine. *Cells.* 2019; 13; 8 (8). doi: 10.1007/5584_2018_213
8. Horie M., Choi H., Lee R.H., Reger R.L., Ylostalo J., Muneta T., Sekiya I., Prockop D.J. Intra-articular injection of human mesenchymal stem cells (MSCs) promote rat meniscal regeneration by being activated to express Indian hedgehog that enhances expression of type II collagen. *Osteoarthritis Cartilage.* 2012; 20: 1197–1207. doi: 10.1016/j.joca.2012.06.002
9. Ide C., Nakai Y., Nakano N., Seo T.B., Yamada Y., Endo K., Noda T., Saito F., Suzuki Y., Fukushima M., Nakatani T. Bone marrow stromal cell transplantation for treatment of sub-acute spinal cord injury in rat. *Brain Res.* 2010; 1332: 32–47. doi: 10.1016/j.brainres.2010.03.043
10. Kay A.G., Long G., Tyler G., Stefan A., Broadfoot S.J., Piccinini A.M., Middleton J., Kehoe O. Mesenchymal stem cell-conditioned medium reduces disease severity and immune responses in inflammatory arthritis. *Sci. Rep.* 2017; 7: e18019. doi: 10.1038/s41598-017-18144-w
11. Kinnaird T., Srabille E., Burnett M.S., Shou M., Lee C.W., Barr S., Fuchs S., Epstein S.E. Local delivery of marrow-derived stromal cells augments collateral perfusion through paracrine mechanisms. *Circulation.* 2004; 109: 1543–1549. doi: 10.1161/01.CIR.0000124062.31102.57
12. Linero I., Chaparro O. Paracrine effect of mesenchymal stem cells derived from human adipose tissue in bone regeneration. *PLoS One.* 2014; 10: e107001, doi: 10.1371/journal.pone.0107001
13. Minenna L., Herrero F., Sanz M., Trombelli L. Adjunctive effect of a polylactide/polyglycolide copolymer in the treatment of deep periodontal intra-osseous defects: a randomized clinical trial. *J. Clin. Periodontol.* 2005; 32: 456–461. doi: 10.1111/j.1600-051X.2005.00696.x
14. Patel D.M., Shah J., Srivastava A.S. Therapeutic potential of mesenchymal stem cells in regenerative medicine. *Stem. Cells Int.* 2013; 2013: 496218. doi: 10.1155/2013/496218
15. Pawitan J.A. Prospect of stem cell conditioned medium in regenerative medicine. *BioMed. Res. Int.* 2014; 2014: 1–14. doi: 10.1155/2014/965849
16. Perez J.R., Kouroupis D., Li D.J., Best T.M., Kaplan L., Correa D. Tissue Engineering and Cell-Based Therapies for Fractures and Bone Defects. *Front. Bioeng. Biotechnol.* 2018; 6: 105. doi: 10.3389/fbioe.2018.00105
17. Perri B., Cooper M., Lauryssen C., Anand N. Adverse swelling associated with use of rh-BMP-2 in anterior cervical discectomy and fusion: a case study. *Spine J.* 2007; 7: 235–239. doi: 10.1016/j.spinee.2006.04.010
18. Peter S.J., Liang C.R., Kim D.J., Widmer M.S., Mikos A.G. Osteoblastic phenotype of rat marrow stromal cells cultured in the presence of dexamethasone, beta-glycerolphosphate, and L-ascorbic acid. *J. Cell Biochem.* 1998; 71: 55–62. doi: 10.1002/(sici)1097-4644(19981001)71:1<55::aid-jcb6>3.0.co;2-0
19. Pittenger M.F., Mbalaviele G., Black M., Mosca J.D., Marshak D.R. Mesenchymal Stem Cells. In: *Human cell culture*. Eds. M.R. Koller, B.O. Palsson, J.R.W. Masters. Dordrecht: Springer, 2001. Vol. 5: 189–207. doi: 10.1007/0-306-46870-0_9
20. Sanchooli T., Norouzi M., Ardeshirylajimi A., Ghoreish S.K., Abdollahifar M.A., Nazarian H., Piryaei A. Adipose derived stem cells conditioned media in combination with bioceramic collagen scaffolds improved calvarial bone healing in hypothyroid rats. *Iran. Red. Crescent. Med. J.* 2017; 19: e45516. doi: 10.5812/ircmj.45516

21. Song I.H., Caplan A.I., Dennis J.E. *In vitro* dexamethasone pretreatment enhances bone formation of human mesenchymal stem cells *in vivo*. *J. Orthop. Res.* 2009; 27: 916–921. doi: 10.1002/jor.20838
22. Um S., Kim H.Y., Seo B.M. Effects of BMP-2 on the osteogenic differentiation of bone marrow stem cells in fibrous dysplasia. *Oral. Dis.* 2018; 6: 1057–1067. doi: 10.1111/odi.12869
23. Visser R., Rico-Llanos G.A., Pulkkinen H., Becerra J. Peptides for bone tissue engineering. *J. Controlled Release.* 2016; 244: 122–135. doi: 10.1016/j.jconrel.2016.10.024
24. Yun Y.R., Jang J.H., Jeon E., Kang W., Lee S., Won J.E., Kim H.W., Wall I. Administration of growth factors for bone regeneration. *Regen. Med.* 2012; 7: 369–385. doi: 10.2217/rme.12.1

Сведения об авторах:

Любовь Анатольевна Покровская, e-mail: pokrovskaya@ect-center.com
Евгений Юрьевич Шерстобоев, д.м.н., проф., ORCID: 0000-0002-6178-5329,
e-mail: sherstoboev_eu@pharmso.ru
Сергей Викторович Надеждин, к.б.н., e-mail: sergey_nadezhdin@yahoo.com
Марина Григорьевна Данилец, д.б.н., e-mail: danilets_mg@pharmso.ru
Евгения Сергеевна Трофимова, к.м.н., e-mail: eugenie76@mail.ru
Анастасия Александровна Лигачева, к.б.н., e-mail: vittelli@mail.ru
Алексей Александрович Чуринов, д.м.н., e-mail: churin_aa@pharmso.ru
Татьяна Юрьевна Дубская, к.м.н., e-mail: tatatox@mail.ru

Information about the authors:

Lyubov' A. Pokrovskaya, e-mail: pokrovskaya@ect-center.com
Evgeniy Yu. Sherstoboev, doctor of medical sciences, professor, ORCID: 0000-0002-6178-5329,
e-mail: sherstoboev_eu@pharmso.ru
Sergey V. Nadezhdin, candidate of biological sciences, e-mail: sergey_nadezhdin@yahoo.com
Marina G. Danilets, doctor of biological sciences, e-mail: danilets_mg@pharmso.ru
Evgeniya S. Trofimova, candidate of medical sciences, e-mail: eugenie76@mail.ru
Anastasiya A. Ligacheva, candidate of biological sciences, e-mail: vittelli@mail.ru
Aleksey A. Churin, doctor of medical sciences, e-mail: churin_aa@pharmso.ru
Tat'yana Yu. Dubskaya, candidate of medical sciences, e-mail: tatatox@mail.ru

Поступила в редакцию 05.11.2019
После доработки 12.12.2019
Принята к публикации 16.02.2020

Received 05.11.2019
Revision received 12.12.2019
Accepted 16.02.2020

Двухпортовые операции в хирургии буллезной эмфиземы легких

Е.А. Дробязгин^{1,2}, Ю.В. Чикинев^{1,2}, К.И. Щербина², В.Ф. Хусаинов^{1,2}

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

² Государственная Новосибирская областная клиническая больница
6630087, г. Новосибирск, ул. Немировича-Данченко, 130

Резюме

Цель исследования – провести оценку периоперационного периода и ближайших результатов двухпортовых операций у пациентов с буллезной эмфиземой легких. **Материал и методы.** Двухпортовые операции выполнены 36 пациентам с буллезной эмфиземой легких (31 мужчина, 5 женщин). Средний возраст пациентов составил 28,9 года. Во всех случаях диагноз был установлен на основании данных спиральной компьютерной томографии органов грудной клетки. Оценивались длительность оперативного вмешательства, сроки расправления легкого, длительность стояния плеврального дренажа, выраженность болевого синдрома, интра- и послеоперационных осложнений. **Результаты и их обсуждение.** На этапе внедрения методики двухпортовых операций длительность вмешательства составляла от 70 до 125 минут, в настоящее время в большинстве случаев она не превышает 80 минут. Интраоперационных осложнений не отмечено. У 27 (75 %) пациентов длительность утечки воздуха по плевральному дренажу составляла до одних суток. Длительность послеоперационного обезболивания в большинстве случаев (28) не превышала одних суток. В раннем послеоперационном периоде осложнения были у 2 пациентов (у одного – внутриплевральное кровотечение, у второго – серома послеоперационной раны). В обоих случаях осложнения были купированы. Предложенный способ доступа при хирургии буллезной эмфиземы легких может быть использован в широкой клинической практике. Для определения места этого способа необходимо его сравнение с другими малоинвазивными вмешательствами.

Ключевые слова: буллезная эмфизема легких, спонтанный пневмоторакс, видеоторакоскопия, двухпортовые операции.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Автор для переписки: Дробязгин Е.А., e-mail: evgenyidrob@inbox.ru

Для цитирования: Дробязгин Е.А., Чикинев Ю.В., Щербина К.И., Хусаинов В.Ф. Двухпортовые операции в хирургии буллезной эмфиземы легких. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2020; 40 (2): 56–60. doi: 10.15372/SSMJ20200207

Dual-port operations in surgery of bullous lung emphysema

Е.А. Drobyazgin^{1,2}, Yu.V. Chikinev^{1,2}, K.I. Tshcherbina², V.F. Khusainov^{1,2}

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

² Novosibirsk State Regional Clinical Hospital
6630087, Novosibirsk, Nemirovicha-Danchenko str., 130

Abstract

The purpose of the study is to assess the perioperative period and the immediate results of dual-port operations in patients with bullous emphysema. **Material and methods.** The analysis of the perioperative period and the immediate results of two-port operations in patients with bullous emphysema of the lungs were performed. This surgical intervention was performed in 36 cases with bullous emphysema of the lungs (men – 31, women – 5). The average age of patients was 28.91 years. In all cases, the diagnosis was made on multispiral computer tomography of the chest. The duration of the surgical intervention, the periods of lung spread, the duration of the pleural drainage standing, the assessment of the pain syndrome, intra- and postoperative complications were assessed. **Results and discussion.** The intervention

duration ranged from 70 to 125 minutes at the stage of implementation of the dual-port operations procedure. Now the intervention duration does not exceed 80 minutes for most cases. There were not registered any intraoperative complications. The duration of air leakage through pleural drainage was up to 1 day in 27 (75 %) patients. The duration of postoperative pain in most cases (28) did not exceed 1 day. Early postoperative complications were in 2 cases (1 – intrapleural bleeding; 1 – postoperative wound seroma). These complications were cured in both cases. The proposed access method for the surgery of bullous emphysema of the lungs can be used in a wide clinical practice. To determine the location of this method, it is necessary to compare it with other minimally invasive interventions.

Key words: bullous emphysema of the lungs, spontaneous pneumothorax, video-assisted thoracoscopy, dual-port operations.

Conflict of interests. Authors declare lack of the possible conflicts of interests.

Correspondence author: Droblyazgin E.A., e-mail: evgenyidrob@inbox.ru

Citation: Droblyazgin E.A., Chikinev Yu.V., Tshcherbina K.I., Khusainov V.F. Dual-port operations in surgery of bullous lung emphysema. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal* = *Siberian Scientific Medical Journal*. 2020; 40 (2): 56–60. [In Russian]. doi: 10.15372/SSMJ20200207

Введение

Частота выявления буллезной эмфиземы легких продолжает оставаться достаточно высокой. В большинстве публикаций указывается, что именно буллезная эмфизема легких является самой частой причиной спонтанного пневмоторакса [1, 3, 9, 13, 20]. Оперативное лечение является методом выбора при этой патологии. Предпочтение отдается малоинвазивным технологиям, самым распространенным вариантом служит видеоторакоскопия [1, 4, 5, 12, 21, 25, 28].

Все чаще появляются публикации, посвященные разработке и внедрению различных вариантов видеоторакоскопических операций с уменьшением количества устанавливаемых портов – видеоассистированные торакоскопические операции (VATS), операции через один порт (single port surgery). Все они имеют свои преимущества и недостатки. Выбор доступа зависит от опыта клиники, мануальных навыков хирурга, соблюдения стандартов оказания медицинской помощи. Применение таких доступов требует и использования специального инструментария, что не всегда возможно в большинстве лечебных учреждений из-за высокой стоимости инструментов [2, 6–11, 14–19, 22–24, 26, 27]. Удачным вариантом сочетания методик может быть двухпортовый метод вмешательства, но публикаций, посвященных его применению, нет.

Цель исследования – анализ и оценка ближайших результатов двухпортовых операций у пациентов с буллезной эмфиземой легких.

Материал и методы

За период с 2018 по 2019 г. в клинике кафедры госпитальной и детской хирургии лечебно-го факультета Новосибирского государственного

медицинского университета на базе отделения торакальной хирургии Государственной Новосибирской областной клинической больницы двухпортовые операции выполнены 36 пациентам с буллезной эмфиземой легких (31 мужчина, 5 женщин). Средний возраст пациентов составил 28,9 года (медиана, нижний и верхний квартили – соответственно 28,5, 20,0 и 34,0 года). Во всех случаях диагноз был установлен на основании данных спиральной компьютерной томографии органов грудной клетки.

Оперативные вмешательства проводились под эндотрахеальным наркозом с раздельной интубацией бронхов. После обработки операционного поля выполнялся разрез длиной 4–5 см в IV межреберье по средней аксиллярной линии. Дополнительно через разрез длиной 1 см в VIII межреберье по задней аксиллярной линии устанавливался троакар и вводилась оптика. Проводилась аппаратная резекция буллезно-измененного участка легочной ткани и после гидропневмоторакса выполнялась субтотальная париеетальная плевроэктомия. Далее проводились санация и дренирование плевральной полости через ранее установленный троакар в VIII межреберье по задней аксиллярной линии с послойным ушиванием разреза в IV межреберье по средней аксиллярной линии.

Оценивались длительность операции, интраоперационные осложнения; в послеоперационном периоде анализировались длительность сброса воздуха по дренажу из плевральной полости, срок его удаления, болевой синдром с применением визуальной аналоговой шкалы, послеоперационные осложнения.

Распределение показателей в группах проверено на нормальность с использованием критерия Шапиро – Уилка. Статистическая обработка результатов исследования выполнялась с при-

менением методов анализа непараметрических данных, различия при межгрупповых сравнениях оценивались на основании критериев Вилкоксона, принимаемый уровень достоверности – не менее 95 %. Характеристики выборок представлены в виде средних (М) и медианных значений (Ме) с интерквартильными размахами (25; 75).

Результаты

Основные периоперационные параметры представлены в табл. 1. На этапе внедрения методики двухпортовых операций длительность вмешательства составляла от 70 до 125 мин, в настоящее время в большинстве случаев (25) она не превышает 80 мин. Интраоперационных осложнений не отмечено. В раннем послеоперационном периоде осложнения были у двух пациентов: в одном случае – внутриплевральное кровотечение, потребовавшее выполнения реторакоскопии и его остановки, во втором – серома послеоперационной раны. В обоих случаях осложнения были купированы.

У 27 (75 %) пациентов длительность утечки воздуха по плевральному дренажу составляла до одних суток. Удаление дренажей из плевральной полости проводили при отсутствии сброса воздуха по плевральным дренажам и расправлении лёгкого, что подтверждено данными рентгенографии органов грудной клетки. Длительность послеоперационного обезбоживания в большинстве случаев (28) не превышала одних суток. Важным моментом являлась оценка послеоперационного болевого синдрома. Сравнительная оценка болевого синдрома по визуально-аналоговой шкале боли в первые трое суток послеоперационного периода представлена в табл. 2. Время нахождения

Таблица 1. Периоперационные параметры оперативного вмешательства

Table 1. Perioperative parameters of surgery

Параметр	М (Ме (25; 75))
Длительность вмешательства, мин	87,77 (90,0 (65,0; 75,0))
Длительность дренирования плевральной полости после операции, сут	3,38 (3,0 (2,0; 4,0))
Длительность сброса воздуха после операции, сут	0,55 (0,0 (0; 1,0))
Длительность обезбоживания после операции, сут	1,36 (1,0 (1,0; 2,0))
Длительность послеоперационного периода, сут	4,8 (4,5 (4,0; 6,0))

Таблица 2. Анализ болевого синдрома с применением визуальной аналоговой шкалы боли

Table 2. Analysis of pain with the use of visual analog pain scale

Срок	М (Ме (25; 75))
1-е сутки	4,02 (4,0 (3,0; 5,0))
2-е сутки	3,13 (3,0 (2,04 4,0))
3-и сутки	2,02 (2,0 (1,5; 3,0))*

Примечание. *, ** обозначены статистически значимые ($p < 0,05$) отличия от величины соответствующего показателя на 1-е и 2-е сутки послеоперационного периода соответственно.

пациентов в стационаре составляло от 3 до 11 суток, в большинстве наблюдений (25) выписка осуществлялась на 3–5-е сутки.

Обсуждение

Проблема выбора доступа в торакальных операциях остается актуальной и в настоящее время. Анатомические особенности, сложности манипуляций в плевральной полости, длительная послеоперационная реабилитация диктуют необходимость разработки и внедрения различных малоинвазивных вмешательств. Имеющиеся на сегодняшний момент в арсенале торакального хирурга малоинвазивные доступы обладают как позитивными, так и негативными сторонами, не всегда обеспечивая должный результат в плане уменьшения числа интра- и послеоперационных осложнений и уменьшая длительность госпитализации. В связи с этим применение двухпортовых операций может явиться перспективным направлением в хирургии буллезной эмфиземы легких. Ни одного случая интраоперационных осложнений не зафиксировано. Небольшая длительность оперативного вмешательства, короткий период дренирования плевральной полости, малое количество назначений обезбоживающих препаратов и малый период нахождения в стационаре указывают на возможность широкого применения данного метода. Безусловно, требуется продолжение изучения особенностей этих операций и его сравнение с другими малоинвазивными вмешательствами.

Заключение

Таким образом, предложенный способ доступа при хирургии буллезной эмфиземы легких может быть использован в широкой клинической практике. Для определения места этого способа необходимо его сравнение с другими малоинвазивными вмешательствами.

Список литературы / References

1. Михеев А.В., Баскевич М.А. Аспекты хирургического лечения пациентов со спонтанным пневмотораксом. *Наука молодых (Eruditio Juvenium)*. 2013; 4: 44–51.
2. Mikheev A.V., Baskevich M.A. Aspects of surgical treatment of patients with spontaneous pneumothorax. *Nauka molodykh (Eruditio Juvenium) = Science of Youth (Eruditio Juvenium)*. 2013; 4: 44–51. [In Russian].
3. Мотус И.Я., Неретин А.В. Видеоторакоскопия в хирургии спонтанного пневмоторакса. *Эндоскоп. хирургия*. 2006; 12 (4): 44–48.
4. Motus I.Ya., Neretin A.V. Videothoracoscopy in the surgery of spontaneous pneumothorax. *Endoskopicheskaya khirurgiya = Endoscopic Surgery*. 2006; 12 (4): 44–48. [In Russian].
5. Полянецв А.А., Быков А.В., Полянецв (мл.) А.А., Котрунов В.В., Зимин А.Г., Дьячкова Ю.А. Ошибки, опасности, осложнения при первом эпизоде спонтанного пневмоторакса. *Хирургия*. 2018; (3): 64–69.
6. Polyantsev A.A., Bykov A.V., Polyantsev A.A., Kotrunov V.V., Zimin A.G., Dyachkova Yu.A. The first episode of spontaneous pneumothorax (errors, hazards, complications). *Khirurgiya = Surgery*. 2018; (3): 64–69. [In Russian].
7. Татур А.А., Пландовский А.В. Современные технологии лечения спонтанного пневмоторакса. *Khirurgiya. Vostochnaya Yevropa = Surgery. Eastern Europe*. 2012. 4 (4). 13–21.
8. Tatur A.A., Plandovskiy A.V. Modern aspects of technology spontaneous pneumothorax treatment. *Khirurgiya. Vostochnaya Yevropa = Surgery. Eastern Europe*. 2012; 4 (4): 13–21. [In Russian].
9. Чикинев Ю.В., Дробязгин Е.А., Литвинцев А.Ю. Анализ осложнений торакоскопических оперативных методов лечения буллезной эмфиземы легких. *Сиб. науч. мед. журн.* 2018; 38 (1): 65–68. doi: 10.15372/SSMJ20180110
10. Chikinev Yu.V., Droblyazgin E.A., Litvintsev A.Yu. Complications of surgical thoracoscopic methods of bullous emphysema treatment. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2018; 38 (1): 65–68. [In Russian]. doi: 10.15372/SSMJ20180110
11. Шевченко Ю.Л., Мальцев А.А. Тактика хирургического лечения и профилактика рецидива спонтанного пневмоторакса. *Вестн. Нац. мед.-хирург. центра им. Н.И. Пирогова*. 2013; 8 (1): 116–119.
12. Shevchenko Yu.L., Maltsev A.A. Surgical treatment and prevention of recurrent spontaneous pneumothorax. *Vestnik Natsional'nogo mediko-khirurgicheskogo tsentra imeni Nikolaya Ivanovicha Pirogova = Bulletin of Pirogov National Medical and Surgical Center*. 2013; 8 (1): 116–119. [In Russian].
13. Al-Mourgi M., Alshehri F. Video-assisted thoracoscopic surgery for the treatment of first-time spontaneous pneumothorax versus conservative treatment. *Int. J. Health Sci. (Qassim)*. 2015; 9 (4): 428–432.
14. Bertolaccini L., Pardolesi A., Brandolini J., Solli P. Uniportal video-assisted thoracic surgery for pneumothorax and blebs/bullae. *J. Vis. Surg.* 2017; 21 (3): 107. doi: 10.21037/jovs.2017.07.04
15. Cardillo G., Bintliffe O.J., Carleo F., Carbone L., di Martino M., Kahan B.C., Maskell N.A. Primary spontaneous pneumothorax: a cohort study of VATS with talc poudrage. *Thorax*. 2016; 71 (9): 847–853. doi: 10.1136/thoraxjnl-2015-207976
16. Cardillo G., Ricciardi S., Rahman N., Walker S., Maskell N.A. Primary spontaneous pneumothorax: time for surgery at first episode? *J. Thorac. Dis.* 2019; 11 (9): 1393–1397. doi: 10.21037/jtd.2019.03.22
17. Divisi D., di Leonardo G., Crisci R. Vats versus axillary minithoracotomy in the management of the second episode of spontaneous pneumothorax: cost-benefit analysis. *World J. Surg.* 2016; 40 (9): 2171–2177. doi: 10.1007/s00268-016-3558-2
18. Foroulis C.N. Surgery for primary spontaneous pneumothorax. *J. Thorac. Dis.* 2016; 8 (12): 1743–1745. doi: 10.21037/jtd.2016.12.31
19. Habibi B., Achachi L., Hayoun S., Raoufi M., Herrak L., Ftouh M.E. Management of spontaneous pneumothorax: about 138 case. *Pan. Afr. Med. J.* 2017; 26: 152. doi: 10.11604/pamj.2017.26.152.11437
20. Hamaji M., Tanaka T., Tachi H., Ohsumi A. Thoracoscopic 360 degree apical pleurodesis with turned-over parietal pleura. *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* 2014; 46 (2): 327–328.
21. Jeon H.W., Kim Y.D. Does 11.5 mm guided single port surgery has clinical advantage than multi-port thoracoscopic surgery in spontaneous pneumothorax? *J. Thorac. Dis.* 2016; 8 (10): 2924–2930.
22. Kang D.K., Min H.K., Jun H.J., Hwang Y.H., Kang M.K. Early outcomes of single-port video-assisted thoracic surgery for primary spontaneous pneumothorax. *Korean J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2014; 47 (4): 384–388. doi: 10.5090/kjtcs.2014.47.4.384
23. Kim K.S. Single-staged uniportal VATS in the supine position for simultaneous bilateral primary spontaneous pneumothorax. *J. Cardiothorac. Surg.* 2017; 12 (1): 25. doi: 10.1186/s13019-017-0591-7
24. Kim M.S., Yang H.C., Bae M.K., Cho S., Kim K., Jheon S. Single-port video-assisted thoracic surgery for secondary spontaneous pneumothorax: preliminary results. *Korean J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2015; 48 (6): 387–392. doi: 10.5090/kjtcs.2015.48.6.387
25. Lin K.C., Luh S.P. Video-assisted thoracoscopic surgery in the treatment of patients with bullous emphysema. *Int. J. Gen. Med.* 2010; 3: 215–220.
26. Luh S.P. Review: Diagnosis and treatment of primary spontaneous pneumothorax. *J. Zhejiang Univ. Sci. B*. 2010; 11 (10): 735–744.

21. Ndiaye A., Nkomo D.D.B., Diatta S., Ba P.S., Gaye M., Doumbia M., Dieng P.A., Ciss A.G., Ndiaye M. Indications et résultats de la chirurgie de résection des bulles d'emphysème pulmonaire. *Pan. Afr. Med. J.* 2018; 31: 48. doi: 10.11604/pamj.2018.31.48.16160

Ndiaye A., Nkomo D.D.B., Diatta S., Ba P.S., Gaye M., Doumbia M., Dieng P.A., Ciss A.G., Ndiaye M. Indications and results of surgical resection of bubbles arising from pulmonary emphysema. *Pan. Afr. Med. J.* 2018; 31: 48. [In French]. doi: 10.11604/pamj.2018.31.48.16160

22. Ooi A., Ling Z. Uniportal video assisted thoracoscopic surgery bullectomy and double pleurodesis for primary spontaneous pneumothorax. *J. Vis. Surg.* 2016; 2: 17. doi: 10.3978/j.issn.2221-2965.2016.01.07

23. Perikleous P., Rathinam S., Waller D.A. VATS and open chest surgery in diagnosis and treatment of benign pleural diseases. *J. Vis. Surg.* 2017; 3: 84. doi: 10.21037/jovs.2017.05.03

24. Qin S.L., Huang J.B., Yang Y.L., Xian L. Uniportal versus three-port video-assisted thoracoscopic

surgery for spontaneous pneumothorax: a meta-analysis. *J. Thorac. Dis.* 2015; 7 (12): 2274–2287. doi: 10.3978/j.issn.2072-1439.2015.12.56

25. Van Schil P.E. Treatment of pneumothorax: minimally or maximally invasive? *Eur. J. Cardiothorac. Surg.* 2016; 49 (3): 868–869. doi: 10.1093/ejcts/ezv237

26. Xu W., Wang Y., Song J., Mo L., Jiang T. One-port video-assisted thoracic surgery versus three-port video-assisted thoracic surgery for primary spontaneous pneumothorax: a meta-analysis. *Surg. Endosc.* 2017; 31 (1): 17–24. doi: 10.1007/s00464-016-4940-8

27. Yang Y., Dong J., Huang Y. Single-incision versus conventional three-port video-assisted surgery in the treatment of pneumothorax: a systematic review and meta-analysis. *Interact. Cardiovasc. Thorac. Surg.* 2016; 23 (5): 722–728. doi: 10.1093/icvts/ivw217

27. Zhu C., Chen Z., Chen B., Zhu H., Rice-Narusch W., Cai X., Shen J., Yang C. Thoracoscopic treatment of giant pulmonary bullae. *J. Surg. Res.* 2019; 10 (243): 206–212. doi: 10.1016/j.jss.2019.05.009

Сведения об авторах:

Евгений Александрович Дробязгин, д.м.н., ORCID: 0000-0002-3690-1316, e-mail: evgenyidrob@inbox.ru

Юрий Владимирович Чикинев, д.м.н., проф., ORCID: 0000-0002-6795-6678, e-mail: chikinev@mail.ru

Константин Игоревич Щербина, ORCID: 0000-0002-0670-6464

Виталий Фанурович Хусаинов, ORCID: 0000-0001-5007-3759

Information about the authors:

Evgeniy A. Drobyazgin, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0002-3690-1316, e-mail: evgenyidrob@inbox.ru

Yuriy V. Chikinev, doctor of medical sciences, professor, ORCID: 0000-0002-6795-6678, e-mail: chikinev@mail.ru

Konstantin I. Tshcherbina, ORCID: 0000-0002-0670-6464

Vitaliy F. Khusainov, ORCID: 0000-0001-5007-3759

Поступила в редакцию 14.07.2019

После доработки 12.08.2019

Принята к публикации 09.01.2020

Received 14.07.2019

Revision received 12.08.2019

Accepted 09.01.2020

Сравнительный анализ влияния бета-блокаторов и аналогов простагландинов на изменения глазной поверхности у больных глаукомой

М.М. Пупышева^{1,2}, О.Г. Гусаревич¹, А.А. Гусаревич^{1,2}, Т.Л. Полоз²

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

² Клиническая больница «РЖД-Медицина»
630003, г. Новосибирск, Владимировский спуск, 2а

Резюме

Связь глаукомы и патологии глазной поверхности выявляется все отчетливее по мере возрастающего изучения этих хронических и прогрессирующих заболеваний. **Цель работы** – оценка влияния бета-блокаторов и аналогов простагландинов на глазную поверхность у больных первичной открытоугольной глаукомой. **Материал и методы.** Обследовано 25 пациентов (25 глаз) с первичной открытоугольной глаукомой: группа I – 10 пациентов (10 глаз), применяющих для лечения бета-блокаторы (монотерапия тимолола малеатом); группа II – 15 пациентов (15 глаз), применяющих аналоги простагландинов (монотерапия); контрольная группа – 15 лиц (15 глаз) без глаукомы, не закапывающих капли. **Результаты.** По суммарной слезопродукции (тест Ширмера), стабильности слезной пленки (проба Норна), степени прокрашивания конъюнктивы и роговицы бенгальским розовым, величине индекса заболевания глазной поверхности пациенты I и II групп не различались, при этом отличаясь от лиц контрольной группы. Измерение высоты слезного мениска с помощью оптической когерентной томографии показало, что у больных I группы она была выше, чем у пациентов II группы, но в обоих случаях меньше, чем у лиц контрольной группы. В ходе цитологического исследования в группе I выявлены атрофия и дискератоз; в группе II отмечена пролиферация; в группе III – картина нормального эпителия конъюнктивы. **Заключение.** При цитологическом исследовании эпителия конъюнктивы наблюдаются атрофия и дискератоз, которые нарушают функции эпителия. Проллиферация может быть причиной усиленного кровоснабжения ткани, что проявляется гиперемией слизистой оболочки. Учитывая изменения эпителия конъюнктивы, отмеченные при цитологическом исследовании, предпочтительнее назначать аналоги простагландинов.

Ключевые слова: глаукома и изменения глазной поверхности, бета-блокаторы, аналоги простагландинов; ОКТ-менискометрия, цитология, эпителий конъюнктивы, атрофия, пролиферация.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Автор для переписки: Пупышева М.М., e-mail: maria6449@yandex.ru

Для цитирования: Пупышева М.М., Гусаревич О.Г., Гусаревич А.А., Полоз Т.Л. Сравнительный анализ влияния бета-блокаторов и аналогов простагландинов на изменения глазной поверхности у больных глаукомой. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2020; 40 (2): 61–67. doi: 10.15372/SSMJ20200208

Comparing the impact of beta-blockers and prostaglandin analogues on ocular surface change in glaucoma patients

M.M. Pupyshcheva^{1,2}, O.G. Gusarevich¹, A.A. Gusarevich^{1,2}, T.L. Poloz²

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

² Railway Clinical Hospital on the Station Novosibirsk-Glavniy
630003, Novosibirsk, Vladimirovskiy ramp, 2a

Abstract

The connection between glaucoma and ocular surface disease (OSD) is determined more distinct due to increasing research of these chronic and progressive diseases. **The purpose of research** – an assessment of an impact of beta-blockers and prostaglandin analogues on ocular surface in glaucoma patients. **Data and methods.** 25 patients (25 eyes) with primary open-angle glaucoma (POAG) were examined: group I – 10 patients (10 eyes) receiving antihypertensive therapy with beta-blocker timolol maleate (monotherapy); group II – 15 patients (15 eyes) receiving prostaglandin analogues (monotherapy); control group – 15 patients (15 eyes) without POAG not receiving eye drops). **Results.** Total tear production (Schirmer test), the stability of the tear film (Norn test), the degree of conjunctiva and cornea staining with the Bengal pink, ocular surface disease index were similar in patients of groups I and II, while differed from the control group. Measurement of the height of the tear meniscus using optical coherence tomography showed that in patients of group I it was higher than in patients of group II, but in both cases less than in individuals of the control group. Cytological results shows us atrophy, dyskeratosis in group I; proliferation in group II and no changes in normal conjunctival epithelium in group III. **Conclusion.** Atrophy and dyskeratosis are shown in conjunctival epithelium by using cytological method. These changes lead to abnormality of functioning of conjunctival epithelium. Proliferation may cause an increased blood supply and therefore a hyperemia of conjunctiva. Considering the changes of conjunctival epithelium PA therapy is preferable.

Key words: glaucoma and ocular surface changes, beta-blockers, prostaglandin analogues, tear meniscus by OCT, cytology, conjunctival epithelium, atrophy, proliferation.

Conflict of interests. Authors declare lack of the possible conflicts of interests.

Correspondence author: Pupysheva M.M., e-mail: maria6449@yandex.ru

Citation: Pupysheva M.M., Gusarevich O.G., Gusarevich A.A., Poloz T.L. Comparing the impact of beta-blockers and prostaglandin analogues on ocular surface change in glaucoma patients. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal* = *Siberian Scientific Medical Journal*. 2020; 40 (2): 61–67. [In Russian]. doi: 10.15372/SSMJ20200208

Введение

Глаукома – ведущая причина необратимой слепоты в мире. Число страдающих ею пациентов (в возрасте от 40 до 80 лет) возрастет на 18,3 % (до 76 млн) к 2020 г. и на 74 % (до 111,8 млн) к 2040 г. в сравнении с 2013 г. [13]. Единственной доказанной эффективной стратегией лечения заболевания является местная гипотензивная терапия, нередко ассоциирующаяся с симптомами воспаления, аллергическими реакциями, нарушением стабильности прероговичной слезной пленки и другими разнообразными клиническими проявлениями синдрома «сухого глаза», объединяемыми в настоящее время термином «патология глазной поверхности» [1]. Эффективное лечение может приостановить или замедлить глаукомное повреждение, что позволит пациентам сохранить хорошие зрительные функции. По данным ряда исследований, большинство пациентов с глаукомой, находящихся на местной гипотензивной терапии, испытывают «жжение», «ощущение инородного тела», «ощущения сухости в глазу»; частота возникновения и выраженность симптомов возрастает при использовании большего числа препаратов и зависит от пола, возраста, продолжительности заболевания и лечения [9, 13].

Проводится немало исследований, изучающих вопрос о том, что потеря гомеостаза слез-

ной пленки у пациентов с первичной открытоугольной глаукомой (ПОУГ), которые длительное время находятся на лечении местными гипотензивными препаратами, происходит вторично, или ятрогенно (т.е. вследствие воздействия медицинского вмешательства – местного препарата). Ятрогенный (вторичный) синдром сухого глаза может возникать из-за аллергического, токсического, иммуновоспалительного эффектов местных гипотензивных препаратов, оказываемых ими на глазную поверхность [10].

Исследования по гистопатологии и импрессионной цитологии конъюнктивы и теноновой капсулы продемонстрировали увеличение числа макрофагов, лимфоцитов, тучных клеток, фибробластов наряду с уменьшением количества бокаловидных клеток [12], а также плоскоклеточную метаплазию, субконъюнктивальный фиброз и фиброз теноновой капсулы, связанные с применением гипотензивных капель с консервантами [4–8, 11, 13, 14]. По данным импрессионной цитологии эпителиальной выстилки конъюнктивы выявлено снижение плотности бокаловидных клеток и выработки ими муцина, что способствует дестабилизации слезной пленки [4]. Эти изменения могут быть объединены в большую неоднородную группу реактивных изменений эпителия, что, в свою очередь, не может быть безоговорочно отнесено к изменениям эпителия, присущим только синдрому сухого глаза.

Вышеизложенное объясняет актуальность выявления эффекта продолжительной местной гипотензивной терапии на состояние переднего отрезка глаза, расширения методов диагностики его изменений, определения оптимальной комбинации местных гипотензивных препаратов с минимальным ощущением дискомфорта у пациентов во время инстилляций и после нее и минимальным отрицательным воздействием на структуру переднего отрезка глаза.

В научной литературе мы не нашли именно сравнительного исследования влияния различных групп гипотензивных препаратов на состояние глазной поверхности, в частности, на эпителий конъюнктивы с применением цитологического метода. Исследования касались изменений глазной поверхности в общем на фоне местного лечения гипотензивными препаратами. Также в литературе не встречалось использование цитологического метода, который был применен в данной работе, и подобные изменения эпителия конъюнктивы.

Цель нашей работы – выявление и сравнение особенностей влияния бета-блокаторов и аналогов простагландинов на глазную поверхность у больных ПОУГ, определение наиболее информативного метода обнаружения этих особенностей.

Материал и методы

Обследовано 25 пациентов (25 глаз) с ПОУГ, разделенных на две группы. I группу составили 10 пациентов (10 глаз), применяющих для лечения бета-блокаторы (тимолола малеат) в качестве монотерапии (консервант бензалкония хлорид 0,01 %). Из них 7 мужчин и 3 женщин, средний возраст $72,0 \pm 8,2$ года. Во II группу вошли 15 пациентов (15 глаз), применяющих аналоги простагландинов (траватан (травопрост 0,004 %) и ксалатан (латанопрост 0,005 %)) в качестве монотерапии (консервант бензалкония хлорид 0,015 %, 0,02 %). Из них 6 мужчин и 9 женщин, средний возраст $69,0 \pm 8,8$ года. Препараты у пациентов I и II групп использовались не менее двух лет. Контрольную группу (III) составили 15 человек (15 глаз) без ПОУГ, не закапывающих капли (10 мужчин и 5 женщин, средний возраст $65,2 \pm 8,4$ года). Всем пациентам проводилось стандартное офтальмологическое обследование: автокераторефрактометрия, визометрия, ультразвуковая биометрия, пахиметрия, тонометрия по Маклакову, статическая периметрия, биомикроскопия, биомикроофтальмоскопия, микрогониоскопия.

Кроме того, выполнялось дополнительное обследование, включающее анкетирование по

опроснику OSDI (ocular surface disease index, индекс заболевания глазной поверхности), тест Ширмера, пробу Норна, окраску бенгальским розовым с последующей оценкой прокрашивания по шкале Брона, ОКТ-менискометрию (измерение высоты слезного мениска с помощью оптической когерентной томографии), цитологическое исследование бульбарной конъюнктивы. Материал для цитологического исследования бульбарной конъюнктивы у всех пациентов получали двумя методами. Первый метод: всем пациентам под местной инстилляционной анестезией препаратом проксиметакаин 0,5 % производили соскоб со слизистой бульбарной конъюнктивы предметным стеклом, высушивали и окрашивали азуром II и эозином. Второй метод: тем же пациентам в ходе глазных операций иссекали фрагмент ткани бульбарной конъюнктивы в нижневнутреннем квадранте размером $1 \times 1,5$ мм, делали отпечатки с фрагментов ткани слизистой оболочки на предметное стекло, высушивали и окрашивали азуром II и эозином. Полученные препараты исследовали методом световой микроскопии.

Пациенты получили информацию о целях, задачах и ходе исследования и дали информированное согласие на участие в нем. Переменные представлены в виде среднего арифметического и среднеквадратического отклонения ($M \pm SD$), для оценки различий использовали критерий Стьюдента. Критический уровень значимости нулевой статистической гипотезы (p) принимали равным 0,05.

Результаты

По суммарной слезопродукции (тест Ширмера), стабильности слезной пленки (проба Норна), степени прокрашивания конъюнктивы и роговицы бенгальским розовым, величине индекса заболевания глазной поверхности пациенты I и II групп не различались, при этом отличаясь от лиц контрольной группы (таблица). Измерение высоты слезного мениска с помощью оптической когерентной томографии показало, что у больных I группы она была выше, чем у пациентов II группы, но в обоих случаях меньше, чем у лиц контрольной группы (см. таблицу).

В ходе цитологического исследования выявлены изменения эпителия бульбарной конъюнктивы в I и II группах по сравнению с нормальной цитологической картиной в группе контроля. По результатам первого и второго методов получена идентичная цитологическая картина. В I группе преобладали дискератоз и атрофия эпителия конъюнктивы (70 %), рис. 1. Во II группе отмечена пролиферация клеток цилиндрического сли-

Таблица. Величины исследуемых показателей у пациентов с ПОУГ групп I и II и лиц контрольной группы

Table. The values of the studied parameters in patients with POAG (groups I and II) and in control group

Показатель	Группа I, n = 10	Группа II, n = 15	Контрольная группа, n = 15
Тест Ширмера, мм	7,18 ± 3,54*	7,47 ± 3,89*	11,13 ± 2,72
Проба Норна, с	10,00 ± 2,58*	9,13 ± 2,17*	13,67 ± 274
Степень прокрашивания конъюнктивы и роговицы бенгальским розовым, баллов	3,60 ± 3,03*	5,13 ± 2,64*	0,20 ± 0,41
Индекс заболевания глазной поверхности, баллов	38,69 ± 21,49*	46,66 ± 20,00*	14,53 ± 3,11
Высота слезного мениска, мкм	199,10 ± 53,50*	160 ± 29,21*. [#]	331,00 ± 32,13

Примечание. Обозначены статистически значимые ($p < 0,05$) отличия от величин соответствующих показателей: * – лиц контрольной группы, # – пациентов группы I.

зепродуцирующего эпителия (рис. 2). В группе контроля преобладает картина нормального плоского и железистого (цилиндрического) эпителия конъюнктивы (80 %), рис. 3.

Обсуждение

В ходе нашего исследования не выявлено убедительных преимуществ назначения бета-блокаторов или аналогов простагландинов в контексте изменения глазной поверхности по результатам дополнительного обследования (тест Ширмера, проба Норна, степень прокрашивания конъюнктивы и роговицы бенгальским розовым, индекс заболевания глазной поверхности). По данным

импрессионной цитологии, у больных ПОУГ, длительно получавших гипотензивное лечение, выявлено снижение плотности бокаловидных клеток, что проявлялось вторичной недостаточностью муцинового слоя, а также значительное снижение данных теста Ширмера и времени разрыва слезной пленки (недостаточность водного и липидного компонента) [2–4]. Достоверные различия при сравнении I и II групп выявлены только по данным ОКТ-менискометрии. Проведение ОКТ переднего отрезка глаза не доставляет пациенту дискомфорта, а также является неинвазивным, объективным, быстрым, количественным методом. Однако результаты ОКТ-менискометрии противостоят наиболее показательному методу выявления

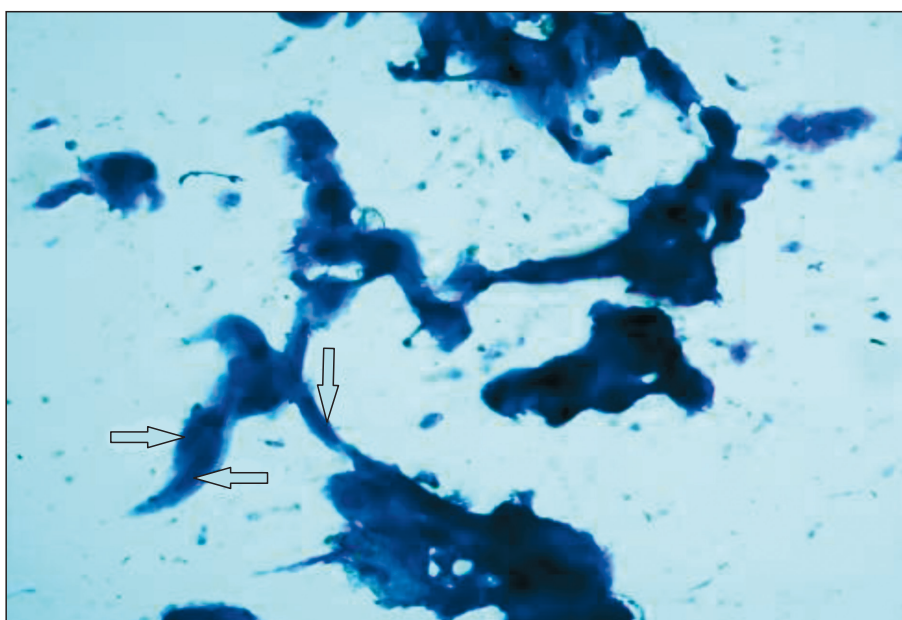


Рис. 1. Группы клеток плоского эпителия с явлениями дискератоза (указаны стрелками). Ув. × 400

Fig. 1. Groups of squamous epithelium cells with dyskeratosis (indicated by arrows). Magnification × 400

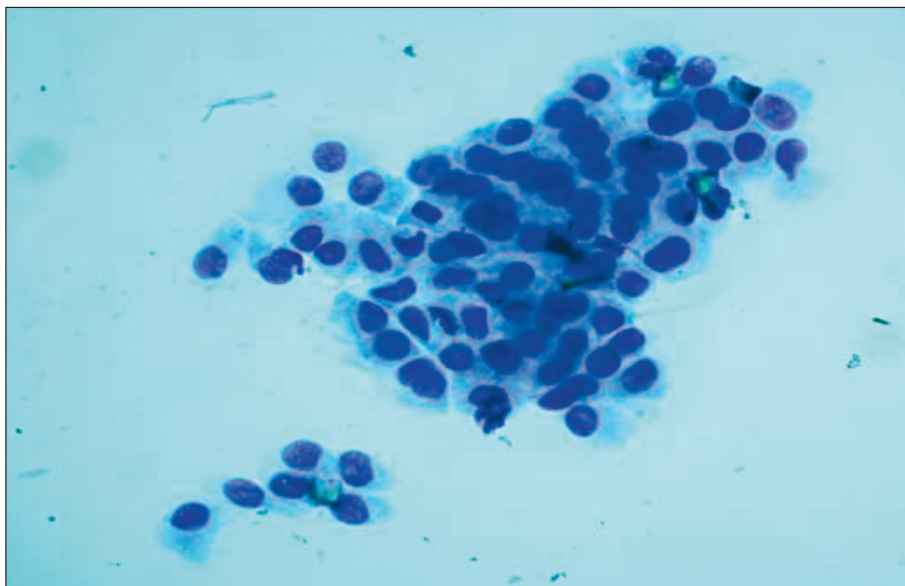


Рис. 2. Пласт клеток пролиферирующего цилиндрического эпителия. Ув. $\times 400$

Fig. 2. Layer of proliferating cylindrical epithelium cells. Magnification $\times 400$

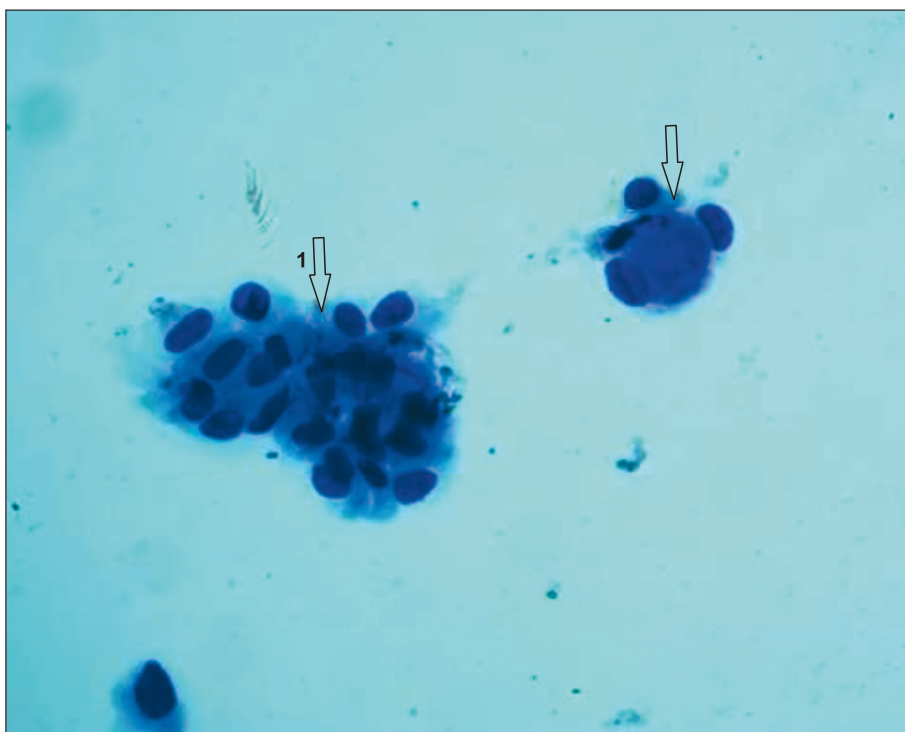


Рис. 3. Клетки цилиндрического эпителия (указаны стрелкой 1), продукция слизи (указано стрелкой). Ув. $\times 400$

Fig. 3. Cylindrical epithelium cells (indicated by arrow 1), mucus production (indicated by arrow). Magnification $\times 400$

изменений глазной поверхности в нашей работе – цитологическому исследованию слезистой. Цитологическая картина демонстрирует реактивные изменения эпителия конъюнктивы в виде атрофии, дискератоза в I группе. Дискератоз – патологические изменения в плоском эпителии, при которых происходит нарушение дифференцировки клеток и явления гиперкератоза. Во II группе отмечена регенерация с пролиферацией клеток цилиндрического слезепроизводящего эпителия. Проллиферация цилиндрического эпителия конъюнктивы может быть причиной усиленного кровоснабжения ткани.

Заключение

По результатам нашей работы наиболее объективные и информативные данные получены в ходе цитологического исследования слезистой. При применении бета-блокаторов в эпителии бульбарной конъюнктивы наблюдаются атрофия и дискератоз, не характерные для нормально функционирующего эпителия конъюнктивы. Результатом этих изменений являются снижение чувствительности, пониженная секреция слезы, угнетение барьерной функции. Регенерация с пролиферацией цилиндрического эпителия конъюнктивы, отмеченная на фоне применения аналогов простагландинов, может быть причиной усиленного кровоснабжения ткани, что, вероятно, проявляется гиперемией слезистой. В ходе регенерации, пролиферации незрелые клетки эпителия увеличиваются в объеме, одновременно происходит возрождение кровеносных, лимфатических сосудов и нервных элементов. По результатам первого и второго методов получена идентичная цитологическая картина. Соскоб со слезистой предметным стеклом прост в выполнении, доступен, поэтому может быть применим для выявления характера изменений глазной поверхности у пациентов с ПОУГ, закапывающих гипотензивные капли, и в том числе для выбора группы гипотензивных препаратов и перехода с одной группы препаратов на другую. Таким образом, учитывая изменения эпителия конъюнктивы, отмеченные при цитологическом исследовании, предпочтительнее назначать аналоги простагландинов.

Список литературы/References

1. Абышева Л.Д., Авдеев Р.В., Александров А.С., Арапиев М.У., Бакунина Н.А., Баранова Н.А., Басинский А.С., Брежнев А.Ю., Газизова И.Р., Галимова А.Б., Гапонько О.В., Гарькавенко В.В., Гетманова А.М., Городничий В.В., Гусаревич А.А., Дорофеев Д.А., Жаворонков С.А., Завадский П.Ч., Захарова М.А., Захидов А.Б., Зверева О.Г., Исаков И.Н., Каримов У.Р., Кондракова И.В., Куроедов А.В., Ланин С.Н., Ловпаче Дж.Н., Лоскутов И.А., Молчанова Е.В., Нагорнова З.М., Онуфрийчук О.Н., Петров С.Ю., Рожко Ю.И., Селезнев А.В., Таштитова Л.Б., Хохлова А.С., Шапошникова И.В., Шахалова А.П. Влияние местной гипотензивной терапии глаукомы на развитие и прогрессирование синдрома «сухого глаза». *Рус. мед. журн.* 2017; (2): 74–82. doi: 10.21689/2311-7729-2017-17-2-74-82
2. Абышева Л.Д., Авдеев Р.В., Александров А.С., Арапиев М.У., Бакунина Н.А., Баранова Н.А., Басинский А.С., Брежнев А.Ю., Газизова И.Р., Галимова А.Б., Гапонько О.В., Гарькавенко В.В., Гетманова А.М., Городничий В.В., Гусаревич А.А., Дорофеев Д.А., Жаворонков С.А., Завадский П.Ч., Захарова М.А., Захидов А.Б., Зверева О.Г., Исаков И.Н., Каримов У.Р., Кондракова И.В., Куроедов А.В., Ланин С.Н., Ловпаче Дж.Н., Лоскутов И.А., Молчанова Е.В., Нагорнова З.М., Онуфрийчук О.Н., Петров С.Ю., Рожко Ю.И., Селезнев А.В., Таштитова Л.Б., Хохлова А.С., Шапошникова И.В., Шахалова А.П. Influence of local hypotensive glaucoma therapy on the development and progression of dry eye syndrome. *Russkiy meditsinskiy zhurnal = Russian Medical Journal*. 2017; (2): 74–82. [In Russian]. doi: 10.21689/2311-7729-2017-17-2-74-82
3. Еричев В.П., Ганковская Л.В., Ковальчук Л.В., Ганковская О.А., Дугина А.Е. Интерлейкин-17 и его возможное участие в репаративных процессах при глаукоме. *Глаукома*. 2009; (1): 23–26.
4. Еричев В.П., Ганковская Л.В., Ковальчук Л.В., Ганковская О.А., Дугина А.Е. Interleukin-17 and it's possible role in reparative processes in glaucoma. *Glaukoma = Glaucoma*. 2009; (1): 23–26. [In Russian].
5. Курешева Н.И., Винецкая М.И., Еричев В.П., Артамонов В.П., Успенская А.П. О проницаемости барьера кровь–водянистая влага при первичной открытоугольной глаукоме. *Вестн. офтальмологии*. 1998; (1): 10–13.
6. Kurysheva N.I., Vinetskaya M.I., Elichev V.P., Artamonov V.P., Uspenskaya A.P. Permeability of blood-aqueous barrier in primary open-angle glaucoma. *Vestnik oftal'mologii = The Russian Annals of Ophthalmology*. 1998; 1: 10–13. [In Russian]
7. Arici M.K., Arici D.S., Topalkara A., Güler C. Adverse effects of topical antiglaucoma drugs on the ocular surface. *Clin. Exp. Ophthalmol.* 2000; 28 (2): 113–117. doi: 10.1046/j.1442-9071.2000.00237.x
8. Aritürk N., Öge İ., Baris S., Erkan D., Süllü Y., Koc F. The effects of antiglaucomatous agents on conjunctiva used for various durations. *Int. Ophthalmol.* 1996; 20: 57–62. doi 10.1007/BF00212947
9. Brandt J.D., Wittpen J.R., Katz L.J., Steinmann W.N., Spaeth G.L. Conjunctival impression cytology in patients with glaucoma using long term topical

- medication. *Am. J. Ophthalmol.* 1991; 112: 297–301. doi 10.1016/s0002-9394(14)76730-3
7. Baudouin C., Garcher C., Haouat N., Bron A., Gastaud P. Expression of inflammatory membrane markers by conjunctival cells in chronically treated patients with glaucoma. *Ophthalmology.* 1994; 101: 454–460. doi: 10.1016/s0161-6420(94)31322-4
8. Becquet F., Goldschild M., Moldovan M.S., Ettaiche M., Gastaud P., Baudouin C. Histopathological effects of topical ophthalmic preservatives on rat corneconjunctival surface. *Curr. Eye Res.* 1998; 17: 419–425. doi: 10.1080/02713689808951223
9. Broadway D.C., Grierson I., O'Brien C., Hitchings R.A. Adverse effects of topical antiglaucoma medication. I. The conjunctival cell profile. *Arch. Ophthalmol.* 1994; 112: 1437–1445. doi: 10.1001/archophth.1994.01090230051020
10. Intersection of ocular surface disease and glaucoma. protecting ocular surface health in a glaucoma population. *Rev. Ophthalmol.* 2018; (Suppl.): 1–7. URL: https://www.reviewofophthalmology.com/CMSDocuments/2018/09/Akorn_RPi.pdf
11. Mietz H., Niesen U., Krieglstein G.K. The effect of preservatives and antiglaucomatous medication on the histopathology of the conjunctiva. *Graefe's Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 1994; 232: 561–565. doi 10.1007/BF00182000
12. Sherwood M.B., Grierson I., Millar L., Hitchings R.A. Long-term morphologic effects of antiglaucoma drugs on the conjunctiva and Tenon's capsule in glaucomatous patients. *Ophthalmology.* 1989; 96: 327–335. doi: 10.1016/s0161-6420(89)32888-0
13. Tham Y.C., Li X., Wong T.Y., Quigley H.A., Aung T., Cheng C.Y. Global prevalence of glaucoma and projections of glaucoma burden through 2040: a systematic review and meta-analysis. *Ophthalmology.* 2014; 121 (11): 2081–2090. doi 10.1016/j.ophtha.2014.05.013
14. Williams D.E., Nguyen K.D., Shapourifar-Tehrani S., Kitada S., Lee D.A. Effects of timolol, betaxolol, and levobunolol on human Tenon's fibroblasts in tissue culture. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 1992; 33: 2233–2241.

Сведения об авторах:

Мария Михайловна Пупышева, e-mail: maria6449@yandex.ru

Ольга Геннадьевна Гусаревич, д.м.н., проф., e-mail: olga.gusarevich@gmail.com

Анна Аркадьевна Гусаревич, к.м.н., ORCID: 0000-0002-8206-7510, e-mail: annagusarevich@gmail.com

Татьяна Львовна Полоз, д.м.н., e-mail: dkbcyto@mail.ru

Information about the authors:

Mariya M. Pupysheva, postgraduate, e-mail: maria6449@yandex.ru

Olga G. Gusarevich, doctor of medical sciences, professor, e-mail: olga.gusarevich@gmail.com

Anna A. Gusarevich, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0002-8206-7510,
e-mail: annagusarevich@gmail.com

Tatyana L. Poloz, doctor of medical sciences, e-mail: dkbcyto@mail.ru

Поступила в редакцию 29.09.2019

После доработки 16.12.2019

Принята к публикации 19.02.2020

Received 29.09.2019

Revision received 16.12.2019

Accepted 19.02.2020

Эндоскопическая дивертикулоэзофагостомия при дисфагии сочетанного генеза у возрастного пациента (клинический случай)

И.Е. Судовых¹, Е.А. Дробязгин^{1,2}, Ю.В. Чикинев²

¹ Государственная Новосибирская областная клиническая больница
630087, г. Новосибирск, ул. Немировича-Данченко, 130

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

Резюме

Глоточно-пищеводный дивертикул Ценкера встречается чаще у пожилых пациентов, проявляется дисфагией и опасен аспирационными осложнениями. Клинический случай описывает сочетание впервые выявленного дивертикула Ценкера больших размеров, пневмонии, неврологической симптоматики у возрастного пациента 86 лет с афагией. Несмотря на комбинациюотягощающих факторов, выполнена пероральная эндоскопическая дивертикулоэзофагостомия с использованием гибкого эндоскопа. После операции: нарушений акта глотания нет. Пациент питается жидкой и полужидкой пищей. Жалоб на дисфагию не предъявляет. При рентгенологическом контроле отмечается некоторая задержка контрастного вещества в дивертикуле, не препятствующая его опорожнению. Случай демонстрирует эффективность эндоскопического вмешательства при дивертикуле Ценкера больших размеров, возможность его выполнения у возрастных пациентов с сочетанной патологией, в том числе с неврологическим дефицитом, сохраняя шанс пациента на выздоровление.

Ключевые слова: дивертикул Ценкера, эндоскопическая дивертикулоэзофагостомия, эндоскопия, гибкая эндоскопия, дисфагия.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Автор для переписки: Дробязгин Е.А., e-mail: evgenyidrob@inbox.ru

Для цитирования: Судовых И.Е., Дробязгин Е.А., Чикинев Ю.В. Эндоскопическая дивертикулоэзофагостомия при дисфагии сочетанного генеза у возрастного пациента (клинический случай). *Сибирский научный медицинский журнал*. 2020; 40 (2): 68–72. doi: 10.15372/SSMJ20200209

Endoscopic diverticuloesophagotomy in dysphagia of combined genesis in aged patient (clinical case)

I.E. Sudovykh¹, E.A. Drobyazgin^{1,2}, Yu.V. Chikinev²

¹ State Novosibirsk Regional Clinical Hospital
630087, Novosibirsk, Nemirovicha-Danchenko str., 130

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

Abstract

Zenker's pharyngeal-esophageal diverticulum is more common in elderly patients, manifests itself with dysphagia and is dangerous with aspiration complications. The clinical case describes a combination of the first detected large Zenker diverticulum, pneumonia, neurological symptoms in an 86-year-old patient with aphagia. Despite the combination of aggravating factors, oral endoscopic ventriculostomy was performed using a flexible endoscope. After surgery: there are no violations of the act of swallowing. The patient eats liquid and semi-liquid food. No complaints of dysphagia

were presented. At x-ray control, there is some delay of the contrast agent in the diverticulum, which does not prevent its emptying. The case demonstrates the effectiveness of endoscopic intervention in large-sized Zenker diverticulum, the possibility of its implementation in age-related patients with combined pathology, including neurological deficiency, preserving the patient's chance of recovery.

Key words: Zenker's diverticulum, endoscopic diverticuliesophagostomy, endoscopy, эндоскопия, flexible endoscopyб dysphagia.

Conflict of interests. Authors declare lack of the possible conflicts of interests.

Correspondence author: Drobyazgin E.A., e-mail: evgenyidrob@inbox.ru

Citation: Sudovykh I.E., Drobyazgin E.A., Chikinev Yu.V. Endoscopic diverticuliesophagotomy in dysphagia of combined genesis in aged patient (clinical case). *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal* = *Siberian Scientific Medical Journal*. 2020; 40 (2): 68–72. [In Russian]. doi: 10.15372/SSMJ20200209

Клинический случай

Мужчина 86 лет доставлен родственниками в больницу в тяжелом состоянии с жалобами на нарастание явлений дисфагии в течение месяца, с невозможностью приема пищи и жидкости в течение последних двух дней. Также предъявлял жалобы на снижение массы тела, кашель с отхождением вязкой слизисто-гноной мокроты, одышку в покое, подъемы температуры тела до 38 °С. Со слов пациента и родственников жалобы на нарушения глотания длительное время (давность указать не может). Сопутствующая патология: хроническая обструктивная болезнь легких. Эмфизема легких. Дыхательная недостаточность I–II ст. ИБС. Недостаточность кровообращения I. При фиброэзофагогастродуоденоскопии диагностирован широкий глоточно-пищеводный ди-

вертикул Ценкера глубиной около 55 мм (рис. 1). В связи с тяжестью состояния помещен в отделение реанимации и интенсивной терапии. При дообследовании (рентгеноскопия органов грудной клетки) выявлена двусторонняя пневмония (вероятно, связанная с нарушением глотания пищи и жидкости). Для предоперационной подготовки и обеспечения энтерального питания пациенту установлен назогастральный зонд по струне-проводнику. Лечение проводилось в условиях отделения реанимации.

Далее из-за сохраняющегося нарушения глотания и дисфагии сложного генеза (консультация невролога с выставлением диагноза «бульбарный синдром неясного генеза» – рассматривался вариант токсического характера) выполнена эндоскопическая гастростомия. На фоне стабилизации состояния, излечения пневмонии диагноз «бульбарный синдром» был снят. Основной и единственной причиной дисфагии признан дивертикул Ценкера больших размеров. Пациенту выполнена эндоскопическая дивертикулоэзофагостомия с установкой гибкого дивертикулоскопа (рис. 2, 3). После выписки из стационара больной самостоятельно явился на контрольный осмотр через 3 мес.: дисфагия нивелирована, питается самостоятельно через рот без ограничений. Эндоскопически (рис. 4) и рентгенологически (рис. 5) сохраняется частичный объем дивертикула с задержкой контраста до 10–15 с, однако пациент отмечает комфортное глотание и прохождение пищевого комка по пищеводу.



Рис. 1. Эндоскопическая картина дивертикула Ценкера. Струна проведена в пищевод

Fig. 1. Endoscopic picture of Zenker diverticulum. The string is held in the esophagus

Обсуждение

Эндоскопическая дивертикулоэзофагостомия широко и эффективно применяется у пациентов с дивертикулами Ценкера небольших размеров, однако ее клиническая эффективность снижается при больших дивертикулах, при которых более

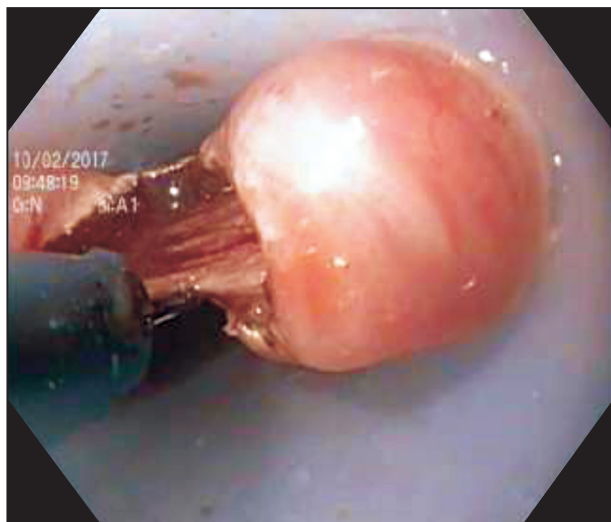


Рис. 2. Выполняется эндоскопическая дивертикулоэзофагостомия. Гибкий дивертикулоскоп позиционирован на перегородке между пищеводом и дивертикулом

Fig. 2. Endoscopic diverticulo-esophagotomy is performed. A flexible diverticuloscope is positioned on the septum between the esophagus and the diverticulum



Рис. 3. На рану после эндоскопической дивертикулоэзофагостомии наложена клипса. В пищевод проведен зонд

Fig. 3. A clip is placed on the wound after endoscopic diverticulo-esophagotomy. A probe was inserted into the esophagus



Рис. 4. Эндоскопическая картина через 3 месяца после вмешательства. Сохраняется перегородка и остаточная полость дивертикула. Просвет пищевода приоткрывается при инсуффляции газа во время исследования

Fig. 4. Endoscopic picture 3 months after the intervention. The septum and the residual cavity of the diverticulum are preserved. The lumen of the esophagus opens up during insufflation of gas during the study



Рис. 5. При рентгенологическом исследовании пищевода с бариевой взвесью определяется остаточная полость дивертикула с задержкой контраста

Fig. 5. The residual diverticulum cavity with delayed contrast is determined by X-ray examination of the esophagus with barium suspension

обоснована операция открытым хирургическим доступом, хотя она несет дополнительный риск осложнений [1, 2, 4–6]. Однако в ряде ситуаций эндоскопическое вмешательство оправдано даже при крупных дивертикулах [2, 4]. У возрастных пациентов с тяжелой сопутствующей патологией первостепенная задача – нивелировать дисфагию как фактор риска аспирации и обеспечить возможность питания через рот при минимальном риске хирургического вмешательства и анестезиологического пособия, и этим требованиям соответствует эндоскопическая дивертикулоэзофагостомия [2]. Возможность проведения эндоскопического вмешательства при сложной анатомии и деформациях осевого скелета, сочетание малой инвазивности, клинической эффективности, возможности повторной щадящей коррекции «по требованию» при неполном купировании дисфагии, низкий риск осложнений позиционируют эндоскопическую дивертикулоэзофагостомию в качестве операции выбора у сложных пациентов [2, 3, 5].

Показательно, что у данного пациента полное рассечение с сохранением остаточной полости дивертикула не сопровождается дисфагией и не требует дополнительной коррекции. Вполне возможно, что это связано с кратковременной (до 10–15 с) задержкой контрастного вещества, возрастом больного, особенностями пищевого поведения (преимущественный прием полужидкой и жидкой пищи). По мнению других авторов [1–5], именно отсутствие жалоб у пациента является основным показателем при оценке результатов оперативного вмешательства. При необходимости возможна повторная операция с формированием еще большего соустья. Описанный случай показателен как пример эффективности комплексного подхода при дисфагии у пожилого пациента.

Заключение

Эндоскопическая дивертикулоэзофагостомия может рассматриваться как метод выбора оперативной коррекции дисфагии при дивертикуле Ценкера больших размеров у возрастных пациентов с тяжелой сопутствующей патологией.

Список литературы / References

1. Ciuc D., Birlă R., Panaitescu E., Tanțău M., Constantinoiu S. Zenker diverticulum treatment: endoscopic or surgical? *Chirurgia (Bucur.)*. 2018; 113 (2): 234–243. doi: 10.21614/chirurgia.113.2.234
2. Costamagna G., Iacopini F., Bizzotto A., Familiari P., Tringali A., Perri V., Bella A. Prognostic variables for the clinical success of flexible endoscopic septotomy of Zenker's diverticulum. *Gastrointest. Endosc.* 2016; 83 (4): 765–773. doi: 10.1016/j.gie.2015.08.044
3. Dişibeyaz S., Kuzu U.B., Parlak E., Saygılı F., Öztaş E., Ari D., Şahin B. Endoscopic treatment of the Zenker diverticulum with flexible endoscopic myotomy: a single tertiary center experience. *Surg. Laparosc. Endosc. Percutan. Tech.* 2017; 27 (6): e136–e140. doi: 10.1097/SLE.0000000000000475
4. Jain D., Sharma A., Shah M., Patel U., Thosani N., Singhal S. Efficacy and safety of flexible endoscopic management of Zenker's diverticulum. *J. Clin. Gastroenterol.* 2018; 52 (5): 369–385. doi: 10.1097/MCG.0000000000000977
5. Pescarus R., Shlomovitz E., Sharata A.M., Cassera M.A., Reavis K.M., Dunst C.M., Swanström L.L. Trans-oral cricomyotomy using a flexible endoscope: technique and clinical outcomes. *Surg. Endosc.* 2016; 30 (5): 1784–1789. doi: 10.1007/s00464-015-4445-x
6. Tabola R., Lewandowski A., Cirocchi R., Augoff K., Kozminska U., Strzelec B., Grabowski K. Zenker diverticulum: Experience in surgical treatment of large diverticula. *Medicine (Baltimore)*. 2018; 97 (19): e0557. doi: 10.1097/MD.00000000000010557

Сведения об авторах:

Ирина Евгеньевна Судовых, к.м.н., ORCID: 0000-0002-4631-0384, e-mail: isudovykh@gmail.com

Евгений Александрович Дробязгин, д.м.н., ORCID: 0000-0002-3690-1316, e-mail: evgenyidrob@inbox.ru

Юрий Владимирович Чикинев, д.м.н., проф., ORCID: 0000-0002-6795-6678, e-mail: chilinev@inbox.ru

Information about the authors:

Irina E. Sudovykh, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0002-4631-0384, e-mail: isudovykh@gmail.com

Evgeniy A. Drobyazgin, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0002-3690-1316, e-mail: evgenyidrob@inbox.ru,

Yuriy V. Chikinev, doctor of medical sciences, professor, ORCID: 0000-0002-6795-6678, e-mail: chikinev@mail.ru

Поступила в редакцию 23.09.2019

После доработки 16.12.2019

Принята к публикации 13.02.2020

Received 2.09.2019

Revision received 16.12.2019

Accepted 13.02.2020

Изменения состояния сердечно-сосудистой системы у больных неходжкинскими лимфомами в динамике химиотерапии

А.-С.О. Бады, С.С. Федорова, Д.А. Яхонтов, Т.И. Пospelova

Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России
660091, г. Новосибирск, Красный просп., 52

Резюме

Химиотерапия является одним из самых надежных и проверенных методов лечения злокачественных опухолей и заболеваний крови, но вместе с тем на химиопрепараты возникают побочные реакции, к которым относится их кардиотоксичность. Наиболее часто сердечно-сосудистые осложнения связаны с назначением антрациклинов и родственных им препаратов (доксорубицин, даунорубицин, эпирубицин, идарубицин, митоксантрон), которые обычно используются в схемах лечения из-за широкого спектра действия и высокой эффективности. Риск развития кардиотоксичности и прогрессирования уже имеющихся сердечно-сосудистых заболеваний увеличивается в зависимости от дозы препарата, включенного в схему лечения, возраста пациента, наличия кардиоваскулярных факторов риска и сердечно-сосудистых заболеваний в анамнезе. **Материал и методы.** С целью оценки состояния сердечно-сосудистой системы и характера кардиоваскулярной патологии обследовано 88 больных с установленным диагнозом неходжкинской лимфомы – 33 пациента до начала химиотерапии и 55 пациентов в отдаленном периоде наблюдения (через год после начала полихимиотерапии). **Результаты.** Доказано, что кардиотоксичность противоопухолевых препаратов может проявиться в начале курса химиотерапии и в отдаленном периоде лечения. По данным инструментальных исследований выявлена дилатация полостей сердца, сопряженная с достоверным увеличением содержания в сыворотке крови NT-proBNP (N-концевой фрагмент предшественника натрийуретического пептида типа В) – основного биомаркера миокардиальной дисфункции.

Ключевые слова: кардиотоксичность, антрациклиновые антибиотики, неходжкинские лимфомы, химиотерапия, доксорубицин, NTproBNP, кардиомиопатия.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Автор для переписки: Федорова С.С., e-mail: soffka.tv@mail.ru

Для цитирования: Бады А.-С.О., Федорова С.С., Яхонтов Д.А., Пospelova Т.И. Изменения состояния сердечно-сосудистой системы у больных неходжкинскими лимфомами в динамике химиотерапии. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2020; 40 (2): 73–79. doi: 10.15372/SSMJ20200210

Cardiovascular system state changes in non-Hodgkin's lymphoma patients during chemotherapy

A.-S.O. Bady, S.S. Fedorova, D.A. Yakhontov, T.I. Pospelova

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

Abstract

Chemotherapy is one of reliable and proven methods of malignant tumor and blood diseases treatment but however the drug side effects (particularly cardiotoxicity) occur. More often cardiovascular complications connect with anthracyclines and related drugs (doxorubicin, daunorubicin, epirubicin, idarubicin, mitoxantron) which usually used at medical scheme because of wide spectrum of action and high effectiveness prescription. Risk of cardiotoxicity formation and existing diseases progression increases according to drug dose, patient's age, cardiovascular risk factors presence and cardiovascular diseases history. **Material and methods.** 88 patients with established non-Hodgkin's lymphoma diagnosis were examined in order to assess cardiovascular system state and pathology nature – 33 patients before chemotherapy and 55 patients in the long-term follow-up period (one year after the start of chemotherapy). **Results.**

It was found that antitumor drugs induced cardiotoxicity may manifest at the beginning of chemotherapy as well as following up period. The cardiac cameras dilation associated with the increase of NTproBNP serum content (N-terminal fragment of natriuretic peptide type B precursor) – the main biomarker of myocardial dysfunction has been revealed by instrumental research.

Kew words: cardiotoxicity, anthracyclines, non-Hodgkin's lymphoma, chemotherapy, doxorubicin, NTproBNP, cardiomyopathy.

Conflict of interests. Authors declare lack of the possible conflicts of interests.

Correspondence author: Fedorova S.S., e-mail: soffka.tv@mail.ru

Citation: Bady A.-S.O., Fedorova S.S., Yakhontov D.A., Pospelova T.I. Cardiovascular system state changes in non-Hodgkin's lymphoma patients during chemotherapy. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2020; 40 (2): 73–79. [In Russian]. doi: 10.15372/SSMJ20200210

Введение

Поражение сердца при лимфопролиферативных заболеваниях включает в себя лимфомы (исходная локализация опухоли в сердце) и вторичные (метастатические) очаги, преобладающие над первичными поражениями сердца [1, 2]. Частота первичных лимфом сердца колеблется от 0,25 до 1,3 % среди опухолей данной локализации, а частота метастазов в продвинутых этапах их развития составляет 10–20 %. При лимфопролиферативных процессах возможны заинтересованность правых отделов сердца, межпредсердной и/или межжелудочковой перегородки, прорастание лимфомных масс в систему полых вен [1]. Микроскопическая картина лимфомной инфильтрации миокарда представлена опухолевыми лимфомными клетками, выявляемыми иммуногистохимическими методами. Клиническая картина вовлеченности сердечно-сосудистой системы проявляется одышкой, нарушением ритма сердца, признаками перикардита и симптомокомплексом сердечной недостаточности, хотя все эти симптомы не являются диагностически специфичными [2].

Неходжкинские лимфомы (НХЛ) – гетерогенная группа лимфопролиферативных заболеваний, отличающихся по морфологическим вариантам, молекулярно-биологическим характеристикам (цитогенетике, экспрессии генов и онкопротейнов), иммунофенотипу, степени агрессивности и другим особенностям клинического течения. Все это наряду с возможностью обнаружения экстранодальных поражений практически любой локализации, первичных или в результате диссеминации опухолевого процесса, приводит к значительным трудностям при попытках выработки стандартных принципов лечения НХЛ и необходимости наряду с использованием общих его алгоритмов вносить изменения в терапевтическую стратегию и тактику в зависимости от характера клинических проявлений болезни даже в пределах одного и того же морфологического подтипа.

В целом же попытки объединения основных принципов лечения НХЛ должны неизбежно опираться на ряд факторов, определяющих его выбор. К таким факторам относятся: иммунофенотип (В-клеточный или Т-клеточный), морфологический вариант и его отношение к группам, различающимся по признаку агрессивности течения (индолентные и агрессивные НХЛ), степень распространения опухоли (стадия), наличие или отсутствие интоксикации (А и В симптомы), индивидуальный прогноз, определяемый как степень риска по так называемому Интернациональному прогностическому индексу (IPI). На выбор лечения влияет объем опухолевых поражений (более 5–10 см по наибольшему диаметру и более 1/3 диаметра грудной клетки – для медиастинальных масс), а также фактически непредсказуемая до проведения начального этапа лечения первичная или приобретенная рефрактерность к «стандартной» для данного варианта НХЛ химио- или лучевой терапии.

Именно ввиду необходимости учета перечисленных факторов в материалах специальных руководств приводится 2 варианта химиотерапии для индолентных и 42 – для НХЛ высокой степени злокачественности [7]. Для общих алгоритмов лечения НХЛ в каждом конкретном случае определяющим в выборе принципов лечения является разделение НХЛ на иммунофенотипы (В-клеточные и Т-клеточные) и внутри их – по характеру течения на индолентные, агрессивные и высокоагрессивные. Ориентиром в этом отношении должна служить последняя, выработанная Международной группой изучения лимфом, так называемая классификация REAL (Revised European and American Classification of Lymphoid Neoplasms), принятая в 1997 г. ВОЗ [6] и в отличие от прежних (Kiel, Working Formulation) основанная не только на морфологических критериях, но и учитывающая молекулярно-биологические и клинические особенности НХЛ. Эта классификация, используемая в настоящее время повсеместно

но, в подробностях приведена в руководствах и других материалах [9].

Полихимиотерапия (ПХТ) является одним из самых надежных и проверенных методов лечения злокачественных опухолей и заболеваний крови. Однако клинический эффект химиопрепаратов не всегда сопоставим с их профилем безопасности, поэтому возникает необходимость изучения проблем, связанных с побочными реакциями химиопрепаратов и, в частности, их кардиотоксичностью [5]. По данным Американского общества клинической онкологии и Национального института изучения и лечения рака США, вторым по значимости критерием оценки результатов противоопухолевого лечения после выживаемости является качество жизни пациентов, на которое существенно влияют отдаленные токсические последствия химиотерапии [3].

Интенсивно изучается проблема кардиотоксичности химиотерапевтических препаратов. Наиболее часто клиницисты сталкиваются с кардиотоксичностью антрациклиновых антибиотиков, широко используемых в практике вследствие их высокой противоопухолевой активности. В зависимости от скорости развития антрациклиновой кардиотоксичности ее разделяют на несколько видов:

- острая, развивающаяся менее чем в 1 % случаев, считается обратимой, но протекает тяжело;
- остро начавшаяся, хроническая, прогрессирующая, симптомы которой проявляются у 1,6–2,1 % пациентов в момент введения препаратов или в течение первого года;
- поздно начавшаяся, прогрессирующая, возникающая у 1,6–2,5 % пациентов через год после окончания лечения;
- отдаленная (поздно начавшаяся), проявляющаяся через 10–20 лет после завершения химиотерапии [10].

К факторам риска развития кардиотоксичности химиотерапии относят ее режим, а также возраст пациента, наличие у него ожирения, гиподинамии, сердечно-сосудистых заболеваний. Механизм токсического действия антрациклинов отличается от терапевтического и обусловлен множественным воздействием на кардиомиоциты, включая апоптоз, изменения в гомеостазе железа, дисрегуляцию кальциевого гомеостаза и митохондриальную дисфункцию. Еще одним механизмом повреждения сердца антрациклинами является активация перекисного окисления липидов. Индуцированное доксорубином нарушение систолической функции левого желудочка (ЛЖ) связано с ранними изменениями симпатико-парасимпатического баланса в сторону преобладания симпатического тонуса [11]. В отдален-

ном периоде противоопухолевого лечения часто наблюдается снижение фракции изгнания ЛЖ в пределах нормальных значений, сопровождающееся значимым увеличением конечно-систолического объема (КСО) ЛЖ без изменения конечно-диастолического объема (КДО) [4].

Основными причинами хронической сердечной недостаточности являются ишемическая болезнь сердца (постинфарктный кардиосклероз, хроническая постинфарктная аневризма), артериальная гипертензия и их сочетание, кардиомиопатии (чаще всего дилатационная) и миокардит. Все чаще в различных рекомендациях по диагностике и лечению сердечной недостаточности говорится о токсических и лучевых воздействиях на миокард в качестве ее этиологического фактора [6].

Широко представлены работы по изучению кардиотоксического действия антрациклинов у больных, которые получали высокие суммарные дозы этих препаратов, превышающие пороговую величину, однако малоизученными остаются оценка изменений сердечно-сосудистой системы у пациентов, получавших небольшие суммарные дозы антрациклинов в динамике химиотерапии, а также взаимосвязь течения основного заболевания с морфометрическими показателями миокарда и показателями центральной гемодинамики [8].

Цель исследования – оценить состояние сердечно-сосудистой системы и характер кардиоваскулярной патологии у больных НХЛ при различной агрессивности процесса в дебюте заболевания и в отдаленном периоде после химиотерапии.

Материал и методы

Обследовано 88 пациентов с установленным диагнозом НХЛ (40 мужчин и 48 женщин). Исследование проводилось в двух параллельных группах: 1-я группа – 33 пациента с впервые установленным диагнозом НХЛ до начала химиотерапии (14 мужчин и 19 женщин в возрасте $36,8 \pm 0,9$ года; 2-я группа – 55 пациентов в отдаленном периоде наблюдения, через один год после начала ПХТ (26 мужчин и 29 женщин в возрасте $37,7 \pm 0,6$ года).

Все больные наблюдались врачом-гематологом. Пациентам 1-й группы выполнено стандартное обследование перед началом ПХТ. Во 2-й группе пациентов проводилась ПХТ по протоколам BEACOPP (Bleomycin, Etoposide, Adriamycin, Cyclophosphamide, Oncovin, Procarbazine, Prednisolone – блеомицин, этопозид, доксорубин, циклофосфамид, винкристин, прокарбазин, преднизолон) и COP (Cyclophosphamide,

Oncovin, Prednisolone – циклофосфамид, винкристин, преднизолон), при этом выбор схемы лечения определялся в зависимости от нозологической формы и степени агрессивности процесса. При схеме COP доза циклофосфана составила 600 мг, винкристина 2 мг внутривенно капельно; в схеме BEACOPP доза доксорубина составила 40 мг, в некоторых случаях 50 мг внутривенно капельно, доза винкристина 2 мг, циклофосфана 650 мг в сутки.

В комплекс стандартного обследования входили первичный осмотр больного, электрокардиография (ЭКГ), эхокардиография, холтеровское мониторирование ЭКГ, ультразвуковое исследование (УЗИ) сонных артерий, определение содержания в сыворотке крови NT-proBNP (N-концевой фрагмент предшественника натрийуретического пептида типа B). Холтеровское мониторирование ЭКГ проводилось на регистраторе MT-100 (Schiller Americas Inc., США) с использованием программного обеспечения для оценки вариабельности сердечного ритма. Эхокардиографическое исследование осуществлялось на аппарате Acusot Sequoia 512 (Siemens AG, ФРГ) в соответствии с общепринятым протоколом и определением размеров правых и левых отделов сердца в В- и М-режимах с расчетом основных показателей. Систолические и диастолические размеры, а также толщину межжелудочковой перегородки измеряли методом Тейнхольца. Фракцию выброса ЛЖ определяли методом Симпсона. УЗИ сонных артерий выполнялось на аппарате Acusot Sequoia 512 (Siemens AG). Содержание NT-proBNP в сыворотке крови определяли с помощью хемилюминесцентного иммунного анализа.

В исследование не включались лица, не желавшие подписывать добровольное информированное согласие, больные с декомпенсированным сахарным диабетом, ВИЧ-инфекцией, декомпенсацией любого соматического заболевания, наличием любого инфекционного или гнойно-воспалительного процесса.

При проведении статистической обработки полученных результатов распределение считали нормальным при значении показателей от -2 до 2 . Непрерывные величины были представлены в виде $M \pm \sigma$, где M – выборочное среднее арифметическое, σ – стандартное отклонение среднего. Качественные признаки представлены в виде наблюдаемых частот процентов. В случаях нормального распределения количественных данных, а также равенства выборочных дисперсий для сравнения выборок использовали t -критерий Стьюдента, для номинальных данных – точный критерий Фишера. Критический уровень статистической значимости при проверке нулевой гипотезы принимали равным 0,05. Во всех случаях использовали двухсторонние варианты критериев. При сравнении нескольких групп между собой использовали поправку Бонферрони на множественность сравнений.

Результаты

Прежде всего был проведен анализ частоты кардиоваскулярных факторов риска. Курили в 1-й группе 9 (35,7 %), во 2-й – 8 (14,5 %) пациентов ($p = 0,02$). Малоподвижный образ жизни вели в 1-й группе 8 (38,7 %), во 2-й – 10 (18,1 %) человек ($p = 0,01$), злоупотребляли поваренной солью соответственно 4 (12,1 %) и 3 (5,4 %) пациента ($p = 0,04$). В 1-й группе у 26,7 % больных имела артериальная гипертония, во 2-й группе – у 41,1 % ($p = 0,04$), ее длительность составила $3,0 \pm 1,4$ и $6,0 \pm 1,6$ года соответственно. Результаты изучения кардиоваскулярного анамнеза представлены в табл. 1. В процессе наблюдения ни в одной из групп не было диагностировано случаев острого коронарного синдрома. В 1-й группе преобладала постоянная (персистирующая), во 2-й – пароксизмальная форма фибрилляции предсердий. У одного больного 2-й группы транзиторная ишемическая атака возникла в процессе ПХТ.

При проведении УЗИ сердца обнаружено увеличение значений КДО и КСО больных 2-й группы в динамике ПХТ. Фракция выброса во 2-й группе по сравнению с 1-й группой пациентов была меньше, а индекс массы миокарда левого желудочка (ИММЛЖ) – больше (табл. 2). По данным УЗИ брахиоцефальных артерий лишь у одного больного во 2-й группе обнаружен гемодинамически значимый стеноз. Атеросклеротические бляшки с гемодинамически незначимым стенозированием сонных артерий встречались в обеих группах примерно с одинаковой частотой.

Уровень NT-proBNP, раннего маркера миокардиальной дисфункции, у пациентов 2-й группы составил $131,1 \pm 0,9$ пг/мл и был выше, чем у пациентов 1-й группы до начала ПХТ ($92,0 \pm 0,7$ пг/мл; $p = 0,04$), при норме до 125 пг/мл. При анализе показателей липидного спектра было обнаружено, что более высокое содержание в крови общего холестерина (ОХС) и его атерогенных фракций имело место у больных 2-й группы (табл. 3), у которых также оказались значимо выше концентрации глюкозы, мочевины, креатинина и уровень микроальбуминурии. Заинтересованность почек подтверждается также снижением расчетной скорости клубочковой фильтрации (СКФ). Во 2-й группе были менее выраженные значения показателей, характеризующих активность опухолевого процесса (С-реактивный белок (СРБ) и фибрино-

Таблица 1. Заболевания сердечно-сосудистой системы у обследованных

Table 1. Diseases of the cardiovascular system in patients

Заболевание	1-я группа	2-я группа	<i>p</i>
Стенокардия	6 (18,1 %)	14 (25,4 %)	0,04
Длительность стенокардии, лет	4,0 ± 1,9	5,0 ± 2,1	> 0,05
Экстрасистолия	4 (12,1 %)	4 (7,2 %)	0,04
Фибрилляция предсердий	4 (12,0 %)	4 (7,2 %)	0,01
Инфаркт миокарда в анамнезе	4 (12,1 %)	4 (7,2 %)	0,03
Инсульт в анамнезе	3 (9,0 %)	2 (3,6 %)	0,02
ТИА в анамнезе	1 (3,0 %)	1 (1,8 %)	0,02
ХСН I NYHA	11 (33,3 %)	11 (20,0 %)	0,02
ХСН II NYHA	2 (6,1 %)	9 (16,4 %)	0,06
ХСН III NYHA	0	2 (3,6 %)	0,01
Сахарный диабет 2 типа в стадии медикаментозной компенсации	2 (6,0 %)	2 (3,6 %)	0,629

Примечание. NYHA – Нью-Йоркская ассоциация кардиологов (New York Heart Association).

Таблица 2. Показатели УЗИ сердца

Table 2. Indicators of heart ultrasound

Показатель	1-я группа	2-я группа	<i>p</i>
Размер полости левого предсердия, см	2,5 ± 0,5	3,1 ± 0,8	0,01
КДО, см	4,1 ± 0,7	5,9 ± 1,1	0,05
КСО, см	3,4 ± 0,8	3,9 ± 1,1	0,02
Фракция выброса, %	61,2 ± 1,1	55,1 ± 1,1	0,04
Зоны гипо-, акинеза	4 (12,1 %)	4 (7,2 %)	0,04
ИММЛЖ, г/м ² :			
мужчины	78,0 ± 1,3	101,0 ± 2,0	0,05
женщины	86,0 ± 2,9	99,0 ± 2,3	0,01

Таблица 3. Лабораторные показатели обследованных больных

Table 3. Laboratory parameters of patients

Показатель	1-я группа	2-я группа	<i>p</i>
Содержание ОХС, ммоль/л	3,7 ± 0,24	4,3 ± 1,4	0,02
Содержание ХС ЛПВП, ммоль/л	1,1 ± 1,2	1,4 ± 1,23	0,01
Содержание ХС ЛПНП, ммоль/л	1,9 ± 0,7	2,9 ± 0,8	0,03
Содержание триглицеридов, ммоль/л	1,6 ± 0,12	1,8 ± 0,1	0,02
Содержание глюкозы, ммоль/л	4,4 ± 0,12	5,6 ± 0,16	0,03
Микроальбуминурия, мг/сут			
мужчины	23,1 ± 1,2	45,1 ± 0,2	0,02
женщины	21,3 ± 1,2	41,5 ± 0,2	0,01
Содержание креатинина, мкмоль/л			
мужчины	72,0 ± 2,4	97,0 ± 0,1	0,03
женщины	78,0 ± 2,4	101,0 ± 0,1	0,04
Расчетная СКФ, мл/мин/1,73м ²	89,0 ± 1,7	59,0 ± 1,7	0,06
Содержание мочевины, ммоль/л	5,1 ± 0,7	9,0 ± 0,9	0,01
Содержание СРБ, мг/л	5,1 ± 1,1	3,5 ± 1,7	0,01
Содержание фибриногена, г/л	1,3 ± 1,02	2,0 ± 1,2	0,01
Содержание гемоглобина, г/л	112,0 ± 1,2	109,0 ± 1,1	0,09

ген), что, предположительно, может быть связано с сохраняющимся эффектом ПХТ и, возможно, с угнетением иммунной системы на фоне терапии (см. табл. 3).

Заключение

В результате проведенного исследования установлено, что у больных НХЛ 2-й группы на фоне 4–6 курсов ПХТ в течение года обнаружены наибольшие размеры полостей сердца и наибольшая величина ИММЛЖ по данным УЗИ-исследования. Дилатация полостей сердца в этой группе пациентов была сопряжена с достоверным увеличением значений NTproBNP – основного биомаркера миокардиальной дисфункции. Также у больных 2-й группы были достоверно больше содержание в крови ХС липопротеинов низкой плотности (ЛПНП) и триглицеридов, что, возможно, связано с недостаточно частым назначением статинов. Возможно, есть основание говорить о наиболее высокой скорости прогрессирования у пациентов, получавших ПХТ, не только кардиоваскулярного, но и кардиоренального континуума ввиду наличия у них более высоких, по сравнению с пациентами 1-й группы, уровня мочевины, креатинина крови, выраженности микроальбуминурии и меньшей СКФ. Также обращает на себя внимание более низкая концентрация маркеров системного воспаления (СРБ, фибриноген) во 2-й группе пациентов, что, на наш взгляд, может отражать процессы угнетения иммунной системы на фоне основного заболевания и длительной ПХТ.

Список литературы / References

1. Гадаев И.Ю., Ершов В.И., Бочкарникова О.В., Соколова И.Я., Буданова Д.А., Котова В.С., Лишута А.С. Поражение сердца при лимфомах. Обзор литературы и описание случая клинического течения В-крупноклеточной лимфомы. *Рациональная фармакотерапия в кардиологии*. 2015; 11 (6): 610–617.
2. Гадаев И.Ю., Ершов В.И., Бочкарникова О.В., Соколова И.Я., Буданова Д.А., Котова В.С., Лишута А.С. Cardiac involvement in lymphomas. Review of literature and case report of the clinical course of B-large-cell lymphoma. *Ratsional'naya farmakoterapiya v kardiologii = Rational Pharmacotherapy in Cardiology*. 2015; 11 (6): 610–617. [In Russian].
3. Гендлин Г.Е., Сторожаков Г.И., Шуйкова К.В., Емелина Е.И., Ключина Г.М., МIRONKOV A.B., Остроумова Е.И., Лепков С.В., Демина Е.А. Острые сердечно-сосудистые события во время применения противоопухолевых химиопрепаратов: клинические наблюдения. *Клин. онкогематология*. 2011; 4 (2): 155–165.
4. Гендлин Г.Е., Сторожаков Г.И., Шуйкова К.В., Емелина Е.И., Ключина Г.М., МIRONKOV A.B., Остроумова Е.И., Лепков С.В., Демина Е.А. Acute cardiovascular events during antitumor drugs treatment: Clinical cases. *Klinicheskaya onkogematologiya = Clinical Oncohematology*. 2011; 4 (2): 155–165. [In Russian].
5. Дорохина Е.И., Магомедова Ф.У., Двирник В.Н., Гальцева И.В., Глинкина С.А., Куликов С.М., Обухова Т.Н., Кравченко С.К. Отдаленная миелотоксичность высокодозной химиотерапии по модифицированной программе NHL-BFM-90 у больных диффузной В-крупноклеточной лимфомой. *Гематология и трансфузиология*. 2016; 61 (4): 177–183. doi: 10.18821/0234-5730-2016-61-4-177-183
6. Дорохина Е.И., Магомедова Ф.У., Двирник В.Н., Гальцева И.В., Глинкина С.А., Куликов С.М., Обухова Т.Н., Кравченко С.К. Late myelotoxicity of high-dose chemotherapy according to the modified NHL-BFM-90 program in adult patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Gematologiya i transfuziologiya = Hematology and Transfusiology*. 2016; 61 (4): 177–183. [In Russian]. doi: 10.18821/0234-5730-2016-61-4-177-183
7. Емелина Е.И., Гендлин Г.Е., Сторожаков Г.И., Лепков С.В., Демина Е.А. Динамика показателей эхокардиографии у больных лимфопролиферативными заболеваниями, получавших антрациклиновые препараты. *Рос. мед. журн.* 2007; (1): 7–11.
8. Емелина Е.И., Гендлин Г.Е., Сторожаков Г.И., Лепков С.В., Демина Е.А. Time course of echocardiographic changes in patients with lymphoproliferative diseases, receiving anthracyclines. *Rossiyskiy meditsinskiy zhurnal = Russian Medical Journal*. 2007; (1): 7–11 [In Russian].
9. Крикунова О.В., Васюк Ю.А., Висков Р.В., Крикунов П.В., Иванова С.В., Коник В.А. Сердечные тропонины в выявлении кардиотоксичности у пациентов, подвергающихся химиотерапии. *Рос. кардиол. журн.* 2015; (12): 119–125. doi: 10.15829/1560-4071-2015-12-119-125.
10. Крикунова О.В., Васюк Ю.А., Висков Р.В., Крикунов П.В., Иванова С.В., Коник В.А. Chemotherapy cardiotoxicity screening with cardiac troponins. *Rossiyskiy kardiologicheskii zhurnal = Russian Journal of Cardiology*. 2015; (12): 119–125. [In Russian]. doi: 10.15829/1560-4071-2015-12-119-125
11. Мареев В.Ю., Агеев Ф.Т., Арутюнов Г.П., Коротеев А.В., Мареев Ю.В., Овчинников А.Г., Беленков Ю.Н., Васюк Ю.А., Галевич А.С., Гарганева А.А., Гиляревский С.Р., Глезер М.Г., Козиолова Н.А., Коц Я.И., Лопатин Ю.М., Мартынов А.И., Моисеев В.С., Ревитшвили А.Ш., Ситникова М.Ю., Скибицкий В.В., Соколов Е.И., Сторожаков Г.И., Фомин И.В., Чесникова А.И., Шляхто Е.В. Национальные рекомендации ОССН, РКО и РНМОТ по диагностике и лечению ХСН (четвертый пересмотр). *Серд. недостаточность*. 2013; 14 (7): 379–472.

Mareev V.Yu., Ageev F.T., Arutyunov G.P., Koroteyev A.V., Mareyev Yu.V., Ovchinnikov A.G., Belenkov Yu.N., Vasyuk Yu.A., Galyavich A.S., Garganeyeva A.A., Gilyarevskiy S.R., Glezer M.G., Koziolova N.A., Kots Ya.I., Lopatin Yu.M., Martynov A.I., Moiseyev V.S., Revishvili A.Sh., Sitnikova M.Yu., Skibitskiy V.V., Sokolov Ye.I., Storozhakov G.I., Fomin I.V., Chesnikova A.I., Shlyakhto Ye.V. SEHF, RSC and RSMSIM national guidelines on CHF diagnostics and treatment (fourth revision). *Zhurnal serdechnaya medostatochnost' = Heart Failure Journal*. 2013; 14 (7): 379–472. [In Russian].

7. Поддубная И.В. Неходжкинские лимфомы. В кн.: Клиническая гематология: Руководство для врачей. Ред. М.А. Волкова. Глава 23. М.: Медицина, 2001. 336–375.

Poddubnaya I.V. Non-Hodgkin's lymphomas. In: Clinical hematology: A guide for physicians. Ed. V.A. Volkova. Chapter 23. Moscow: Meditsina, 2001. P. 336–375 [In Russian].

8. Шуйкова К.В., Емелина Е.И., Гендлин Г.И., Сторожаков Г.И. Изменение функции левого же-

лудочка сердца у больных с лимфомами на фоне введения антрациклиновых антибиотиков. *Рос. кардиол. журн.* 2016; 1 (129): 41–46. doi: 10.15829/1560-4071-2016-1-41-46

Shuykova K.V., Emelina E.I., Gendlin G.I., Storozhakov G.I. Change of the left ventricle n lymphoma treated with anthracycline antibiotics. *Rossiyskiy kardiologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Cardiology*. 2016; 1 (129): 41–46. [In Russian]. doi: 10.15829/1560-4071-2016-1-41-46

9. Hennessy B.T., Hanrahan E.O., Daly P.A. Non Hodgkin's lymphoma: an update. *Lancet Oncol.* 2004; 5: 341–353. doi: 10.1016/S1470-2045(04)01490-1

10. Raj S., Franco V.I., Lipshultz S.E. Anthracycline-included cardiotoxicity; a review of pathophysiology, diagnosis, and treatment. *Curr. Treat. Options Cardiovasc. Med.* 2014; 16 (6): 315. doi: 10.1007/s11936-014-0315-4

11. Vergely C., Delemasure S., Cottin Y., Rochette L. Preventing the cardiotoxic effects of anthracyclins: from basic concepts to clinical data. *Heart Metab.* 2007; 35: 1–7.

Сведения об авторах:

Ай-Суу Онер-ооловна Бады, e-mail: arven1951@mail.ru

Софья Сергеевна Федорова, e-mail: soffka.tv@mail.ru

Давыд Александрович Яхонтов, д.м.н., ORCID: 0000-0003-4735-5178, e-mail: mich99@mail.ru

Татьяна Ивановна Пospelova, д.м.н., проф., ORCID: 0000-0002-1261-5470, e-mail: postatgem@mail.ru

Information about the authors:

Ay-Suu O-O. Bady, e-mail: arven1951@mail.ru

Sof'ya S. Fedorova, e-mail: soffka.tv@mail.ru

Davyd A. Yakhontov, doctor of medical sciences, e-mail: mich99@mail.ru

Tat'yana I. Pospelova, doctor of medical sciences, professor, e-mail: postatgem@mail.ru

Поступила в редакцию 19.09.2019

После доработки 26.01.2020

Принята к публикации 17.03.2020

Received 19.09.2019

Revision received 26.01.2020

Accepted 17.03.2020

Обоснование выбора открытого хирургического вмешательства при лечении ложной аневризмы подмышечной артерии

Н. Зайниддин, О.А. Тоиров, Ф.С. Ильхамова

*Республиканский специализированный центр хирургии им. академика В. Вахидова
Узбекистан, 100115, г. Ташкент, ул. Малая кольцевая, 10*

Резюме

В статье описаны методы и способы реконструктивно-восстановительных операций ложных аневризм подмышечной артерии. Необходимо отметить, что открытая хирургическая реконструктивная тактика операции до настоящего времени остается «золотым стандартом» в лечении данной патологии. Наш опыт показывает оптимальность выбора и способа хирургического лечения артериальных аневризм подмышечной артерии путем восстановления дефекта артерии. В статье представлен клинический случай хирургического лечения ложной аневризмы правой подмышечной артерии, образовавшейся в результате колото-резаной раны в область правой половины грудной клетки; ликвидация аневризмы сопровождалась пластикой дефекта (1,5 см) подмышечной артерии путем наложения заплаты из аутовены. Приведено обоснование выбора открытого хирургического вмешательства.

Ключевые слова: травматическая аневризма, артерии верхних конечностей, хирургическое лечение.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Автор для переписки: Зайниддин Н., e-mail: zayniddin_norman@mail.ru

Для цитирования: Зайниддин Н., Тоиров О.А., Ильхамова Ф.С. Обоснование выбора открытого хирургического вмешательства при лечении ложной аневризмы подмышечной артерии. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2020; 40 (2): 80–85. doi: 10.15372/SSMJ20200211

Substantiation of the choice of open surgical intervention in treatment of false axillary artery aneurysm

N. Zayniddin, O.A. Toirov, F.S. Ilhamova

*Republican Specialized Center for Surgery named after academician V. Vakhidov
Uzbekistan, 100115, Tashkent, Malaya koltsevaya str., 10*

Abstract

The article describes the methods and procedures of reconstructive operations of false aneurysms of the axillary artery. We observed false aneurysms forming as a result of a stab wound in the region of the right chest (lath). It should be noted that open surgical reconstructive surgery tactics to date remains the «gold standard» in the treatment of this pathology. Our experience shows that the optimal choice and method of surgical treatment of arterial aneurysms of the axillary artery by restoring the arterial defect. The elimination of the aneurysm was accompanied by a patch of the defect (1.5 cm) in the axillary artery autovein, on the right. The article presents the surgical treatment of a false aneurysm of the right axillary artery after an injury of the right chest and the rationale for the choice of open surgery.

Key words: traumatic aneurysm, arteries of the upper extremities, surgical treatment.

Conflict of interests. Authors declare lack of the possible conflicts of interests.

Correspondence author: Zayniddin N., e-mail: zayniddin_norman@mail.ru

Citation: Zayniddin N., Toirov O.A. Ilhamova F.S. Substantiation of the choice of open surgical intervention in treatment of false axillary artery aneurysm. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2020; 40 (2): 80–85. [In Russian]. doi: 10.15372/SSMJ20200211

Введение

Аневризмы подмышечной артерии – достаточно редкая и опасная форма повреждения периферических артерий. Колотые, колото-резаные раны с узким раневым каналом и закрытые тромбы в поврежденной подмышечной артерии могут привести к травматическим аневризмам или травматическим артериовенозным свищам. Однако, по данным многих авторов, травматические артериальные аневризмы зачастую трудно диагностировать, особенно при закрытых повреждениях сосудов и аорты. Аневризмы периферических артерий могут являться самостоятельным заболеванием или последствием травмы артерии. Стандартом их диагностики признано ультразвуковое дуплексное сканирование [8]. В последние годы наблюдается тенденция к увеличению числа больных с данной патологией. Частота встречаемости периферических аневризм составляет от 3,4–6,7 % [4, 6].

Оптимальным вариантом хирургического лечения является резекция аневризмы с протезированием, обеспечивающая лучшую проходимость шунтов [5]. Только в конце XX века развивающиеся эндоваскулярные методы привнесли новизну в хирургию аневризм. Однако открытые реконструктивные операции не утратили свою актуальность и нуждаются в совершенствовании с учетом современных диагностических и технических возможностей [1]. За последние три десятилетия широкое внедрение в практику реконструктивно-восстановительных операций на сосудах позволило значительно улучшить эффективность хирургического лечения больных с последствиями травм сосудов [6]. Как отмечают исследователи [2–7], реконструктивно-восстановительные операции проводятся с применением микрохирургической техники и направлены на восстановление всех поврежденных структур, т.е. имеет место мультидисциплинарный подход.

Таким образом, оптимальность диагностики и выбор хирургического метода лечения травматических артериальных аневризм связана с эффективным использованием новых медицинских технологий и микрохирургической техники.

Клинический случай

Приводим собственное наблюдение хирургического лечения ложной аневризмы подмышечной артерии. Больной Х. 30 лет поступил с диагнозом «посттравматическая ложная аневризма подмышечной артерии справа, сдавление плечевого нерва». Жалобы на боли в подключично-подмышечной области справа, онемение,

чувство холода, ограничение движения правой руки и общую слабость. Считает себя больным с 07.01.2019 после получения колотого ранения инородным телом (рейка) грудной клетки справа, по поводу которого был госпитализирован и прооперирован: торакотомия; ушивание правого легкого и дренирование плевральной полости. Выписан в относительно удовлетворительном состоянии, однако с образованием умеренной болезненности в плечевой области справа. В динамике оно увеличивалось и в течение последующих 10 дней в покое отмечались боли над образованием. По этому поводу пациент обратился к хирургу по месту жительства. При УЗИ правой верхней конечности обнаружены признаки ложной аневризмы подмышечной области, в связи с чем рекомендовано обратиться в Республиканский специализированный центр хирургии им. академика В. Вахидова.

При поступлении общее состояние относительно удовлетворительное. Пациент умеренной упитанности и правильного телосложения. Кожа и видимые слизистые покровы чистые, обычного цвета, кроме локального статуса. Регионарные лимфоузлы не увеличены. В легких везикулярное дыхание, выслушиваются сухие хрипы. Тоны сердца приглушены. Артериальное давление на момент осмотра 130/90 мм рт. ст. на обеих руках. Пульс 80–84 ударов в минуту, ритмичный. При пальпации живот мягкий, безболезненный. Печень и селезенка не пальпируются. Область почек без особенностей. Стул и мочеиспускание не нарушены.

При осмотре (рис. 1) правой плечевой области имеются послеоперационные рубцы с размерами 18 × 1,0 и 12 × 1,0 см. Правая рука, начиная от фаланг пальцев до плечевой области, отечная, на ощупь теплая. Имеется ограничение движения в плечевом суставе справа. Справа в подмышечной области – плотное образование размером 10 × 10 см, пульсация над ним не определяется, при пальпации болезненное. Пульсация на правой руке в локтевом сгибе и дистально не определяется. Пульсация в обеих нижних конечностях и в левой верхней конечности на всех уровнях определяется. При аускультации над образованием выслушивается систолическое дрожание. На проекции брюшной аорты, подвздошной артерии и магистральных сосудах патологические шумы не прослушиваются.

При УЗИ правой верхней конечности, выполненном 06.02.2019, в подмышечной области определяется пульсирующее образование (6,0 × 4,0 см) с ровными и четкими контурами, сдавливающее подмышечную артерию и вену, при этом кровоток не определяется. По данным



Рис. 1. Ложная аневризма правой подмышечной артерии до вскрытия

Fig. 1. False aneurysm of the right axillary artery before treatment

селективной ангиографии сосуды правой верхней конечности магистральной артерии проходимы, в области подмышечной артерии по нижнему контуру отмечается экстравазация контрастной

крови в полость ложной аневризмы размером 30×22 мм (рис. 2).

Применение рентгеноэндоваскулярной баллонной окклюзии магистральных артерий создает благоприятные условия для операции. Для этих целей мы установили на обе бедренные артерии интердьюсеры диаметром 6F. Для эндоваскулярной окклюзии использовали баллонный катетер размером 6×60 мм, окклюзия наступала при давлении в баллоне от 9 до 10 атм (рис. 3).

Под интубационным наркозом на первом этапе произведена эндоваскулярная окклюзия подключичной артерии, разрезом кожи параллельно правой ключице в надключичной области послойно выделена подключичная артерия в III сегменте длиной 10–15 см. Артерия мягкая, пульсирующая, взята на резиновую держалку (рис. 4). В связи с воспалительным процессом выделить плечевую артерию путем разреза подмышечной области не удалось, поэтому было решено открыть аневризму. Разрезом кожи над аневризмой сделан доступ, открыта подмышечная аневризма. В подкожной области обнаружена тромботическая масса объемом 1,5 л, которая была удалена. На держалку взята подмышечная артерия. В подмышечной артерии имеется дефект диаметром 1,5 см, для его устранения применили пластику заплатой аутовеной с нитью пролен 6/0 (рис. 5). Осуществлен пуск кровотока. При этом анастомоз был герметичен. Произведен тщательный гемостаз. Выполнено послойное ушивание послеоперационных ран с резиновыми выпускниками.



Рис. 2. Селективная ангиография ложной аневризмы подмышечной артерии, справа

Fig. 2. Selective angiography of false aneurysm of the right axillary artery



Рис. 3. Рентгеноэндоваскулярная полная баллонная окклюзия сосуда, справа

Fig. 3. Roentgen endovascular full balloon vascular occlusion on the right



Рис. 4. Доступ к операции ложной аневризмы в правой подмышечной артерии

Fig. 4. Access to surgery of false aneurysm of the right axillary artery



Рис 5. Дефект подмышечной артерии, справа. Ауто-вензная заплатка дефекта

Fig. 5. Defect of the right axillary artery. patch of the defect in the axillary artery autovein

Сделана асептическая наклейка. После операции на лучевой и локтевой артерии пульс четкий.

Кровопотеря во время операции составила не более 40 мл, переливание крови не потребовалось. Послеоперационный период протекал гладко, рана зажила первичным натяжением, швы сняты на 10-е сутки после операции. Допплерографическое исследование сосудов верхней конечности справа показало магистральный кровоток. Больной выписан в относительно удовлетворительном состоянии для продолжения консервативного лечения в амбулаторных условиях.

Обсуждение

Лечение травматических артериальных аневризм является актуальной задачей. При диагностике данной патологии в первую очередь мы обращали внимание на наличие и размеры опухолевидного образования, систолическое дрожание и шум над зоной поражения. Наиболее информативным методом исследования травматических артериальных аневризм является мультиспиральная компьютерная томография, которая позволяет неинвазивно и более точно оценить состояние артериального русла. Применение рентгеноэндоваскулярной баллонной окклюзии магистральных артерий создает благоприятное условие для операции.

На наш взгляд, выбор тактики хирургического лечения травматических аневризм магистральных артерий, особенно при стремительном развитии рентгеноэндоваскулярной хирургии, остается дискуссионным (стентирование сосудов). В данной клинической ситуации открытая хирургическая тактика была продиктована этиологией, ложной аневризмой и ее локализацией, а также неврологическими расстройствами правой верхней конечности, обусловленными сдавлением плечевого нерва ложной аневризмой.

Следует отметить, что для данной категории больных хирургическое лечение может реализовываться поэтапно: 1-й этап – рентгеноэндоваскулярная временная окклюзия сосудов, 2-й этап – выбор оптимального доступа, 3-й этап – ликвидация аневризмы, 4-й этап – хирургическая реконструкция магистральных сосудов.

Выводы

1. При диагностике повреждений сосудов и их последствий помимо клинических методов исследования следует обратить внимание на ангиографию, ультразвуковую доплерографию, дуплексное сканирование и мультиспектральную

компьютерную томографию, с помощью которых определяется выбор хирургической тактики коррекции регионального кровообращения.

2. Высока эффективность реконструктивно-восстановительных операций при ложной аневризме с применением рентгенэндоваскулярной полной окклюзии сосудов, особенно при труднодоступных локализациях.

Список литературы / References

1. Белякин С.А., Пинчук О.В., Образцов В.В., Яменсков В.В. Диагностика и лечение периферических артериальных аневризм нижних конечностей. *Воен.-мед. журн.* 2014; (7): 24–27.

Belyakin S.A., Pinchuk O.V., Obraztsov V.V., Yamenskov V.V. Diagnosis and treatment of peripheral arterial aneurysms of the lower limbs. *Voyenno-meditsinskiy zhurnal = Military Medical Journal*. 2014; (7): 24–27. [In Russian].

2. Гавриленко А.В., Синявин Г.В., Куклин А.В. Хирургическое лечение больных с аневризмами артерий верхних и нижних конечностей. *Ангиол. и сосуд. хирургия.* 2009; 15 (3): 109–112.

Gavrilenko A.V., Sinyavin G.V., Kouklin A.V. Surgical treatment of patients with upper- and lower-limb arterial aneurysms. *Angiologiya i sosudistaya khirurgiya = Angiology and Vascular Surgery*. 2009; 15 (3): 109–112. [In Russian].

3. Иоффе Б., Хорех Е., Мешулам И., Ланцберг Л. Лечение травматических повреждений кровеносных сосудов в периферической больнице. *Международ. мед. журн.* 2000; 3 (5): 465–466.

Ioffe B., Khorekh E., Meshulam I., Lantsberg L. Treatment of traumatic injuries of blood vessels in a peripheral hospital. *Mezhdunarodnyy meditsinskiy zhurnal = International Medical Journal*. 2000; 3 (5): 465–466. [In Russian].

4. Калинин А.А., Патlachuk М.В., Морозов С.П., Носенко Е.М., Сальников П.С. Этапное лечение при

аневризмах подколенных, подвздошной и бедренной артерии. *Хирургия.* 2013; (8): 67–69.

Kalinin A.A., Patlachuk M.V., Morozov S.P., Nosenko E.M., Salnikov P.S. The staged treatment of popliteal, ileal and femoral arteries aneurysms. *Khirurgia = Surgery*. 2013; (8): 67–69. [In Russian].

5. Сорока В.В., Нохрин С.П., Рязанов А.Н., Петровский С.В., Магамедов И.Д., Малиновский Ю.П., Белоусов Е.Ю. Разрыв аневризмы бедренной артерии // *Вестн. хирургии.* 2018; 177 (2): 81–83. [In Russian]. doi: 10.24884/0042-4625-2018-177-2-81-83

Soroka V.V., Nokhrin S.P., Ryazanov A.N., Petrivskiy S.V., Magamedov I.D., Malinowskiy Yu.P., Belousov E.Yu. Ruptured aneurysm of superficial femoral artery. *Vestnik khirurgii imeni Ivana Ivanovicha Grekova = Grekov's Bulletin of Surgery*. 2018; 177 (2): 81–83. doi: 10.24884/0042-4625-2018-177-2-81-83

6. Троицкий А.В., Бобровская А.Н., Орехов П.Ю., Лысенко Е.Р., Хабазов Р.И., Паршин П.Ю., Грязнов О.Г., Любимцев Д.В., Зайцев М.В., Малютин Е.Д., Устьянцева Н.В. Успешное чрескожное эндоваскулярное лечение разрыва аневризмы бедренной артерии. *Ангиол. и сосуд. хирургия.* 2005; 11 (1): 53–61.

Troitsky A.V., Bobrovskaya A.N., Orekhov P.Yu., Lysenko Ye.R., Khabazov R.I., Parshin P.Yu., Gryaznov O.G., Lyubimtsev D.V., Zaitsev M.V., Malyutina E.D., Ustyantseva N.V. Successful percutaneous endovascular treatment of a ruptured femoral aneurysm. *Angiologiya i sosudistaya khirurgiya = Angiology and Vascular Surgery*. 2005; 11 (1): 53–61. [In Russian].

7. Austin O.M., Redmond H.P., Burke P.E., Grace P.A., Bouchier-Hayes D.B. Vascular trauma – a review. *J. Am. Coll. Surg.* 1995; 181 (1): 91–108.

8. Dorigo W., Pulli R., Alessi Innocenti A., Azas L., Fargion A., Chiti E., Matticari S., Pratesi C. A 33-year experience with surgical management of popliteal artery aneurysms. *J. Vasc. Surg.* 2015; 62 (5): 1176–1182. doi: 10.1016/j.jvs.2015.06.216

Сведения об авторах:

Норман угли Зайниддин, к.м.н., ORCID: 0000-0003-2910-3153, e-mail: zayniddin_norman@mail.ru

Ойбек Алиевич Тоиров, к.м.н., e-mail: surgery@rscs.uz

Феруза Саидовна Ильхамова, e-mail: surgery@rscs.uz

Information about the authors:

Norman Zayniddin, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0003-2910-3153, e-mail: zayniddin_norman@mail.ru

Oybek A. Toirov, candidate of medical sciences, e-mail: surgery@rscs.uz

Feruza S. Ilhamova, e-mail: surgery@rscs.uz

Поступила в редакцию 30.09.2019

После доработки 08.12.2019

Принята к публикации 06.02.2020

Received 30.09.2019

Revision received 08.12.2019

Accepted 06.02.2020

Взаимосвязь индекса Кетле с компонентным составом тела (мышечным, жировым, костным) студентов различного уровня физической подготовки

Е.А. Чанчаева¹, С.С. Сидоров¹, А.В. Козлов¹, В.А. Водолеева¹, Р.И. Айзман^{2,3}

¹ Горно-Алтайский государственный университет,
649000, г. Горно-Алтайск, ул. Ленкина, 1

² Новосибирский государственный педагогический университет
630126, г. Новосибирск, ул. Виллюйская, 28

³ Новосибирский НИИ гигиены Роспотребнадзора
630108, г. Новосибирск, ул. Пархоменко, 7

Резюме

Процесс увеличения массы тела приобретает глобальный характер, что актуализирует необходимость ранней диагностики ожирения. Информативным методом определения избытка массы тела и ожирения является измерение мышечного и жирового компонентов, а также анализ корреляционных связей между массой, индексом массы и компонентным составом тела. Цель исследования – выявить наличие и характер взаимосвязи между индексом Кетле и компонентным составом тела студентов с разным уровнем физической подготовки. **Материал и методы.** У 107 студентов (52 юношей и 55 девушек) основной медицинской группы, обучающихся в Горно-Алтайском государственном университете, определяли длину, массу и индекс массы тела, уровень физической подготовки, компонентный состав тела (мышечный, жировой, костный). **Результаты и их обсуждение.** Юноши и девушки с более высоким уровнем физической подготовки имели более высокие показатели массы тела, положительную корреляцию между массой, индексом Кетле, мышечным и костным компонентами и обратную корреляцию между индексом Кетле и общим содержанием жира. У юношей и девушек с низкой физической подготовкой масса и индекс массы тела положительно коррелировали с жировым компонентом. Характер корреляционных связей между массой, индексом массы и компонентным составом тела позволяет выявить тенденцию увеличения массы за счет жирового или мышечного компонентов.

Ключевые слова: избыток массы тела, ожирение, индекс Кетле, компонентный состав тела.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Автор для переписки: Чанчаева Е.А., e-mail: chan.73@mail.ru

Для цитирования: Чанчаева Е.А., Сидоров С.С., Козлов А.В., Водолеева В.А., Айзман Р.И. Взаимосвязь индекса Кетле с компонентным составом тела (мышечным, жировым, костным) студентов различного уровня физической подготовки. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2020; 40 (2): 86–90. doi: 10.15372/SSMJ20200212

The interrelation between the Kettle index and the body component composition (muscle, fat, bone) in students with different levels of physical fitness

Е.А. Chanchaeva¹, S.S. Sidorov¹, A.V. Kozlov¹, V.A. Vodoleeva¹, R.I. Aizman^{2,3}

¹ Gorno-Altai State University
649000, Gorno-Altaysk, Lenkina str., 1

² Novosibirsk State Pedagogical University
630126, Novosibirsk, Vilyuyskaya str., 28

³ Novosibirsk Science Research Institute of Hygiene of Rospotrebnadzor
630108, Novosibirsk, Parhomenko str., 7

Abstract

The process of body mass increasing among the population becomes global, which updates the need for early diagnosis of obesity. An informative method of determining the body mass excess and obesity is the determination of muscle and fat components, as well as the analysis of correlations between weight, mass index and component composition of the body. Aim of the study was to identify the availability and character of relationship between body mass, index Kettle and body component composition in students with different level of physical fitness. **Material and methods.** Length, weight, body mass index, level of physical fitness, body component composition (muscle, fat, bone) have been investigated in 107 students (52 boys and 55 girls) of the main medical group studying at the Gorno-Altai State University. **Results.** Trained young man and girls with higher level of physical fitness were characterized by higher body mass, a positive correlation between weight, index Kettle, muscle and bone components and an inverse correlation between index Kettle and total fat. In young man and girls with low physical fitness, total mass and Kettle index positively correlated with the fat component. The nature of the correlation between body mass, Kettle index and composition of the body allows us to identify the trend of weight gain due to fat or muscle components.

Key words: excess body mass, obesity, Kettle index, body component composition.

Conflict of interests. Authors declare lack of the possible conflicts of interests.

Correspondence author: Chanchaeva E.A., chan.73@mail.ru

Citation: Chanchaeva E.A., Sidorov S.S., Kozlov A.V., Vodoleeva V.A., Aizman R.I. The interrelation between the Kettle index and the body component composition (muscle, fat, bone) in students with different levels of physical fitness. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2020; 40 (2): 86–90. [In Russian]. doi: 10.15372/SSMJ20200212

Введение

В начале XXI в. в большинстве европейских стран отмечено резкое увеличение показателей массы тела главным образом за счет жирового слоя. Процесс увеличения массы приобретает столь глобальный характер, что многие исследователи говорят об «эпидемии ожирения» [3]. Намечившаяся тенденция актуализирует необходимость ранней диагностики избыточной массы тела [2].

Хотя индекс массы тела, или индекс Кетле (ИМТ, $\text{кг}/\text{м}^2$), широко используется для выявления ожирения, он является мерой не избыточного жира в организме, а избыточной массы по отношению к росту. Оценочная шкала ИМТ разработана на основании обобщенных данных, что, очевидно, может недостоверно выявлять избыточную массу и ожирение у молодых людей, занимающихся спортом, масса тела которых в значительной степени определяется мышечным компонентом [3]. В таком случае более информативным методом у спортсменов и людей, не занимающихся спортом, является определение мышечного и жирового компонентов, а также топографии жировых отложений [1].

Цель данного исследования – выявить наличие и характер взаимосвязи между индексом массы и компонентным составом тела студентов с разным уровнем физической подготовки.

Материал и методы

Длину, массу, ИМТ и композицию тела (жировой, костный и мышечный компоненты) определяли у 107 студентов (52 юношей и 55 девушек) основной медицинской группы, обучающихся в Горно-Алтайском государственном университете. Все студенты были разделены на группы в зависимости от уровня физической подготовки и половой принадлежности. Уровень физической подготовки оценивали по результатам выполнения тестов: бег на 3000 м у юношей и 2000 м у девушек; подтягивание из виса на высокой перекладине у юношей или сгибание и разгибание рук в упоре лежа на полу у девушек; наклоны вперед из положения стоя на гимнастической скамье; прыжок в длину с места толчком двумя ногами; количество подниманий туловища из положения лежа на спине за 1 мин. В группу с высоким уровнем физической подготовки вошли студенты, выполнившие все нормативы; в группу с низким уровнем подготовки – студенты, не выполнившие комплекс нормативов. Длину тела определяли с помощью медицинского ростомера. Массу и композицию тела оценивали биоимпедансным методом (Tanita bc-545n, Япония) в режиме частоты переменного тока 50 кГц и силы тока в 500 мА при ручном наложении электродов и расположении ступней стоящего пациента на ширине плеч.

Для расчета общего содержания жира (ОСЖ, %) измеряли толщину кожно-жировых складок на животе ($d1$), спине ($d2$), предплечье ($d3$), плече (передняя и задняя поверхность – $d4$, $d5$), бедре ($d6$), голени ($d7$), груди ($d8$) (только у мужчин) [2] и производили перерасчет по формуле Матейки: $D = d \times S \times K$, где D – абсолютное содержание жира (кг); d – средняя толщина кожно-жировой складки ($d = (d1 + d2 + d3 + d4 + d5 + d6 + d7 + d8)$); K – константа, равна 0,13; S – площадь поверхности тела (m^2 ; $S = 1 + (P + H)/100$; P – масса тела (кг), H – отклонение в росте от 160 см с соответствующим знаком). Среднее содержание жира (%) вычисляли по формуле: $ОСЖ = (D/P) \times 100$.

Проверку нормальности распределения данных выполняли с помощью гистограмм путем расчета коэффициента асимметрии и куртозиса, используя тест Шапиро – Уилка. Для переменных с нормальным распределением рассчитывали среднее значение и ошибку среднего ($\bar{X} \pm m$). При допущении нормального распределения данных значимость различий оценивали с помощью t -теста Стьюдента для независимых выборок. Для оценки зависимости между переменными вычисляли коэффициент корреляции Пирсона (r). При анализе значимости различий категориальных признаков использовали критерий χ^2 Пирсона. Достоверными считали результаты при $p \leq 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Морфологические показатели и компонентный состав тела юношей достоверно отличались от значений девушек (табл. 1). Так, независимо от уровня физической подготовки юноши отличались более высокими показателями длины, массы тела, мышечного и костного компонентов, но меньшим содержанием жировой массы. Различия в зависимости от уровня физической подготовки выявлены только по показателям массы тела у

юношей ($p < 0,05$), массы тела и жирового компонента – у девушек ($p < 0,05$). Масса тела девушек со слабой физической подготовкой была ниже, а жировой компонент выше, чем у тренированных девушек. Среди юношей масса тела также была больше у студентов с высоким уровнем физической подготовки.

Результаты нашего исследования совпадают с данными других авторов [1, 4]. Так, ИМТ спортсменов и представителей неатлетической группы не различался, но толщина кожно-жировых складок у спортсменов была достоверно меньше [4]. Эти результаты показывают, что ИМТ не является показательным индикатором для оценки жирового компонента у физически активных молодых людей [1, 4]. Поэтому в нашем исследовании была поставлена цель оценить взаимосвязь ИМТ с компонентным составом тела в сравниваемых группах спортсменов и неспортсменов.

Для оценки взаимосвязи показателей индекса Кеттел с компонентным составом тела был проведен корреляционный анализ (табл. 2). У юношей, независимо от уровня тренированности, масса тела и ИМТ положительно коррелировали с мышечным и костным компонентами тела. У девушек данная взаимосвязь была средней силы в группе тренированных, тогда как у девушек со слабым уровнем физической подготовки корреляция была слабой. Общее содержание жира было обратно пропорционально мышечной и костной массе, при этом у тренированных юношей и девушек корреляция была средней силы ($r = -0,47$), тогда как у нетренированных – слабой и недостоверной ($r = -0,11$; $-0,24$).

У физически нетренированных юношей и девушек масса тела и ИМТ тесно коррелировали с общим содержанием жира, тогда как у тренированных юношей корреляция не проявлялась, а у тренированных девушек была слабой. Следовательно, характер взаимосвязей между массой, ин-

Таблица 1. Морфологические показатели и компонентный состав тела юношей и девушек с различным уровнем физической подготовки

Table 1. Morphological parameters and component composition of body the of boys and girls with different levels of physical fitness

Уровень физической подготовки	Пол, n	Длина тела, см	Масса тела, кг	ИМТ, $кг/м^2$	Компонент тела, %		
					Жировой	Мышечный	Костный
Высокий	Ю, 22	$171,6 \pm 1,2^{++}$	$67,9 \pm 1,4^{++*}$	$22,3 \pm 0,4$	$13,0 \pm 0,9^{++}$	$83,0 \pm 1,3^{++}$	$4,4 \pm 0,1^{++}$
	Д, 17	$161,5 \pm 1,2$	$58,3 \pm 1,6^*$	$22,9 \pm 0,4^*$	$22,0 \pm 1,2^*$	$74,3 \pm 1,1^*$	$4,0 \pm 0,04^*$
Низкий	Ю, 30	$173,8 \pm 1,4^{++}$	$64,6 \pm 1,9^+$	$21,4 \pm 0,5^+$	$12,8 \pm 0,7^{++}$	$82,9 \pm 1,3^{++}$	$4,3 \pm 0,1^{++}$
	Д, 38	$162,1 \pm 1,0$	$54,9 \pm 1,3$	$20,0 \pm 0,4$	$26,5 \pm 1,0$	$69,8 \pm 0,7$	$3,7 \pm 0,04$

Примечание. Обозначены статистически значимые отличия от величин соответствующих показателей девушек (+ – при $p < 0,05$, ++ – при $p < 0,001$) и лиц с низким уровнем тренированности (* – при $p < 0,05$).

Таблица 2. Коэффициент корреляции между показателями массы тела, ИМТ и компонентного состава тела студентов с различным уровнем физической подготовки

Table 2. Correlation coefficient between indicators of weight, body mass index and component composition of the body of students with different levels of physical fitness

	Уровень физической подготовки							
	Высокий				Низкий			
	МТ	ИМТ	Компонент тела		МТ	ИМТ	Компонент тела	
			Мышечный	Костный			Мышечный	Костный
Юноши								
МТ		0,81*	0,91*	0,90*		0,70*	0,75*	0,76*
ИМТ	0,81*		0,61*	0,59*			0,62*	0,65*
ОСЖ			−0,46*	−0,47*	0,50*	0,58*	−0,22	−0,24
Девушки								
МТ		0,75*	0,80*	0,79*		0,75*	0,81*	0,76*
ИМТ			0,49*	0,51*	0,75*		0,35*	0,32*
ОСЖ	0,32*	0,41*	−0,47*	−0,31*	0,59*	0,64*	−0,11	−0,14

Примечание. МТ – масса тела; ОСЖ – общее содержание жира; * – коэффициент корреляции статистически значим.

дексом массы и композиционным составом тела позволяет выявить значение жирового или мышечного компонентов в увеличении массы тела.

Таким образом, в зависимости от уровня физической подготовки молодых людей ИМТ может отражать вклад мышечного или жирового компонента, что требует дополнительного исследования компонентного состава тела.

Заключение

Тренированных юношей и девушек отличают более высокие показатели массы тела, положительная корреляция между массой, ИМТ, мышечным и костным компонентами и обратная корреляция между ИМТ и общим содержанием жира. У юношей и девушек со слабой физической подготовкой масса и индекс массы тела положительно коррелируют с жировым компонентом.

Список литературы / References

1. Бондарева Э.А., Попова Е.В., Кетлерова Е.С., Коданева Л.Н., Отгон Г. Регулярная физическая нагрузка снижает влияние А-аллеля гена *FTO* на predisposition к ожирению в группе русских

мужчин. *Человек. Спорт. Медицина*. 2019. 19 (3): 119–124. doi: 10.14529/hsm190315

Bondareva E.A., Popova E.V., Ketlerova E.S., Kodanewa L.N., Otgon G. Physical activity attenuates the effect of the T/A polymorphism on obesity-related phenotypes in adult Russian males. *Human. Sport. Medicine*. 2019; 19 (3): 119–124. doi: 10.14529/hsm190315

2. Филатова О.В., Куцева Е.В., Бурцева Ю.С. Сравнительный анализ различных методов диагностики ожирения: антропометрия и биоимпедансный анализ. *Экол. человека*. 2018; (9): 48–51.

Filatova O.V., Kutseva E.V., Burtseva Yu.S. Comparative analysis of different obesity diagnostic methods: anthropometry and body impedance. *Ekologiya cheloveka = Human Ecology*. 2018; (9): 48–51. [In Russian].

3. Sheikh A.B., Nasrullah A., Haq S., Akhtar A., Ghazanfar H., Nasir A., Afzal R.M., Bukhari M.M., Chaudhary A.Y., Naqvi S.W. The interplay of genetics and environmental factors in the development of obesity. *Cureus*. 2017; 9 (7): e1435. doi: 10.7759/cureus.1435

4. Wallner-Liebmann S.J., Kruschitz R., Hübner K., Hamlin M.J., Schnedl W.J., Moser M., Tafeit E. A measure of obesity: BMI versus subcutaneous fat patterns in young athletes and nonathletes. *Coll. Antropol.* 2013; 37 (2): 351–357.

Сведения об авторах:

Елена Анатольевна Чанчаева, д.б.н., доцент, ORCID: 0000-0001-5281-1145, e-mail: chan.73@mail.ru

Сергей Сергеевич Сидоров, ORCID: 0000-0001-9201-5805, e-mail: sidorovss10@mail.ru

Александр Васильевич Козлов, ORCID: 0000-0001-9430-5769, e-mail: kozlov-raft@mail.ru

Вера Алексеевна Водолеева, ORCID: 0000-0002-0612-2290, e-mail: vodoleeva401@mail.ru

Роман Иделевич Айзман, д.б.н., профессор, ORCID: 0000-0002-7776-4768, e-mail: aizman.roman@yandex.ru

Information about authors:

Elena A. Chanchaeva, doctor of biological sciences, docent, ORCID: 0000-0001-5281-1145,
e-mail: chan.73@mail.ru

Sergey S. Sidorov, ORCID: 0000-0001-9201-5805, e-mail: sidorovss10@mail.ru

Aleksandr V. Kozlov, ORCID: 0000-0001-9430-5769, e-mail: kozlov-raft@mail.ru

Vera A. Vodoleeva, ORCID: 0000-0002-0612-2290, e-mail: vodoleeva401@mail.ru

Roman I. Aizman, doctor of biological sciences, professor, ORCID: 0000-0002-7776-4768,
e-mail: aizman.roman@yandex.ru

Поступила в редакцию 17.12.2019

После доработки 24.12.2019

Принята к публикации 06.03.2020

Received 17.12.2019

Revision received 24.12.2019

Accepted 06.03.2020

Изменения скорости клубочковой фильтрации у молодых лиц: популяционные данные

Н.А. Ковалькова, А.Д. Худякова, Л.В. Щербакова, Е.А. Васькина,
Д.В. Денисова, Ю.И. Рагино, М.И. Воевода

*НИИ терапии и профилактической медицины –
филиал ФИЦ «Институт цитологии и генетики» СО РАН
630089, г. Новосибирск, ул. Бориса Богаткова, 175/1*

Резюме

Цель исследования – изучить скорость клубочковой фильтрации в популяции 25–45 лет г. Новосибирска. **Материал и методы.** В НИИ терапии и профилактической медицины в период с 2013 по 2016 г. проведено одномоментное популяционное обследование лиц, проживающих в одном из районов г. Новосибирска. В исследование было включено 1074 человека, в том числе 467 мужчин и 607 женщин 25–45 лет. Уровни скорости клубочковой фильтрации (СКФ) выделялись согласно рекомендациям KDIGO 2012 года, а именно: СКФ более 90 мл/мин/1,73 см² – высокая или оптимальная, 60–89 мл/мин/1,73 см² – незначительно сниженная, 45–59 мл/мин/1,73 см² – умеренно сниженная, 30–44 мл/мин/1,73 см² – значительно сниженная, 15–29 мл/мин/1,73 см² – резко сниженная, менее 15 мл/мин/1,73 см² – терминальная почечная недостаточность. **Результаты и их обсуждение.** Средний уровень СКФ_{СКД-ЕРІ} во всех возрастных группах составил 99,9 мл/мин/1,73 см². В возрастной группе 25–34 года средняя СКФ равнялась 104,41 мл/мин/1,73 см², в группе 35–45 лет – 96,75 мл/мин/1,73 см². СКФ у мужчин оказалась достоверно выше, чем у женщин в соответствующих возрастных группах. Как у мужчин, так и у женщин анализируемые показатели были достоверно ниже в старшей возрастной группе, чем в младшей. Частота лиц со СКФ ≥ 90 мл/мин/1,73 см² в возрасте 25–34 года у мужчин составила 95,1 %, у женщин – 76,9 %, в 35–45 лет – соответственно 86,4 и 58,3 %. В возрастной группе 35–45 лет как у мужчин, так и у женщин отмечено появление категорий лиц со СКФ < 60 мл/мин/1,73 см² (двое мужчин – 0,8 %; одна женщина – 0,4 %). При расчете СКФ по формуле MDRD данные отличались от расчетов по формуле СКД-ЕРІ. Подтверждены преимущества использования формулы СКД-ЕРІ для расчета более высоких показателей СКФ.

Ключевые слова: скорость клубочковой фильтрации, хроническая болезнь почек, распространенность, популяция, эпидемиология.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках бюджетной темы № 0541-2014-0004 «Мониторинг состояния здоровья и распространенности факторов риска терапевтических заболеваний, их прогнозирование и профилактика в Сибири»

Автор для переписки: Худякова А.Д., e-mail: alene.elene@gmail.com

Для цитирования: Ковалькова Н.А., Худякова А.Д., Щербакова Л.В., Васькина Е.А., Денисова Д.В., Рагино Ю.И., Воевода М.И. Изменения скорости клубочковой фильтрации у молодых лиц: популяционные данные. *Сибирский научный медицинский журнал.* 2020; 40 (2): 91–97. doi: 10.15372/SSMJ20200213

Changes in glomerular filtration rate in young adults: population data

N.A. Kovalkova, A.D. Khudyakova, L.V. Shcherbakova, E.A. Vaskina,
D.V. Denisova, Yu.I. Ragino, M.I. Voevoda

*Research Institute of Internal and Preventive Medicine –
Branch of the Institute of Cytology and Genetics of SB RAS
630089, Novosibirsk, Boris Bogatkov str., 175/1*

Abstract

Aim of the study was to investigate glomerular filtration rate in population of 25–45 years old young people of Novosibirsk city. **Material and methods.** A survey of Novosibirsk typical district's population has been carried out by the Institute of Internal and Preventive Medicine since 2013 to 2016. 1074 people (467 males and 607 females of 25–45 years old) have been included into the survey. The levels of glomerular filtration rate (GFR) were chosen according to KDIGO (2012) recommendation, such as: GFR more than 90 ml/min/1.73 cm² – high or optimal, 60–89 ml/min/1.73 cm² – slightly reduced, 45–59 ml/min/1.73 cm² – moderately reduced, 30–44 ml/min/1.73 cm² – vastly reduced, 15–29 ml/min/1.73 cm² – highly reduced, lower than 15 ml/min/1.73 cm² – terminal renal failure. **Results and discussion.** Average GFR_(CKD-EPI) level in all age groups was 99,9 ml/min/1.73 cm². Average GFR_(CKD-EPI) was 104.41 ml/min/1.73 cm² in 25–34 age group. Male average GFR_(CKD-EPI) levels in appropriate age groups were reliably higher comparing to female levels. Both male and female analyzed indicators turned out to be reliably lower in older group than in the younger one. 95.1 % of male participants at the age from 25 to 34 years old had GFR ≥ 90 ml/min/1.73 cm², while female indicator was 76.9 %. The indicators in the age group from 35–45 years old were: for males – 86.4 %, for females – 58.3 %. Both male and female groups at the age from 35 to 45 contained people with GFR < 60 ml/min/1.73 cm² (2 men – 0,8 %; 1 woman – 0.4 %). While GFR calculating according to MDRD and CKD-EPI formulas two dissimilar results were revealed. The advantages of CKD-EPI formulas calculating for higher GFR indicators have been evidenced.

Keywords: glomerular filtration rate, terminal renal failure, prevalence, population, epidemiology.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Acknowledgments. The study was carried out in the framework of budget theme No. 0541-2014-0004 «Monitoring the health status and prevalence of risk factors for therapeutic diseases, their prognosis and prevention in Siberia»

Correspondence author: Khudyakova A.D., e-mail: alene.elene@gmail.com

Citation: Kovalkova N.A., Khudyakova A.D., Shcherbakova L.V., Vaskina E.A., Denisova D.V., Ragino Yu.I., Voevoda M.I. Changes in glomerular filtration rate in young adults. Population Changes in glomerular filtration rate in young adults. Population data data. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal = Siberian Scientific Medical Journal*. 2020; 40 (2): 91–97. [In Russian]. doi: 10.15372/SSMJ20200213

Введение

Понятие «хроническая болезнь почек» (ХБП) используется с 2002 г. Под ним понимают симптомокомплекс, который отражает нарастающее течение хронических заболеваний почек [14]. По данным ВОЗ, распространенность ХБП в мире составляет 12–18 % и сопоставима с распространенностью артериальной гипертензии, сахарного диабета, ожирения и метаболического синдрома в целом [6]. Распространенность ХБП в США у взрослых достигает 15 %, в странах Европы – 12–17 %, в Японии – 18,7 %, в Китае – 14 % [6, 14]. Данные, полученные при проведении эпидемиологических исследований в России, продемонстрировали, что ХБП в РФ является актуальной проблемой [3, 5]. ХБП, которую характеризует рост распространенности и ранняя инвалидизация лиц трудоспособного репродуктивного возраста, является одной из значимых медицинских и социально-экономических проблем современности [14].

Лечение пациентов с ХБП является высокозатратным в связи с потребностью в заместительной почечной терапии [9]. Таким образом, двойное значение почечной патологии, медицинское и

экономическое, делает необходимым разработку и широкое применение в практике здравоохранения профилактических подходов в рамках нефропротективной стратегии, а также поиск новых подходов к ранней диагностике поражения почек.

Поскольку одним из основных критериев постановки диагноза ХБП является снижение СКФ, целью нашего популяционного исследования было получение объективных данных о показателе СКФ у молодых лиц 25–45 лет г. Новосибирска.

Материал и методы

В НИИ терапии и профилактической медицины – филиале ФИЦ «Институт цитологии и генетики» СО РАН (НИИТПМ – филиал ИЦиГ СО РАН) в период с 2013 по 2016 г. проведено одномоментное популяционное обследование лиц, проживающих в одном из районов г. Новосибирска. Исследование проводилось в рамках бюджетной темы № 0541-2014-0004 «Мониторинг состояния здоровья и распространенности факторов риска терапевтических заболеваний, их прогнозирование и профилактика в Сибири» и было одобрено локальным этическим комитетом. Для создания выборки использовалась база

Территориального фонда ОМС по Новосибирской области, откуда способом генератора случайных чисел было отобрано 2000 человек 25–45 лет. В скрининг-центре «НИИТПМ – филиал ИциГ СО РАН» на момент обработки полученных данных было обследовано 1074 человек, из них 467 мужчин (43,5 %) и 607 женщин (56,5 %). Для анализа обследованные лица были разделены на две возрастные группы: 25–34 года и 35–45 лет. В возрастной группе 25–34 года оказалось 204 мужчины, что составило 45,3 % (средний возраст $30,01 \pm 2,50$ года) и 251 женщина – 54,7 % (средний возраст $29,89 \pm 2,46$ года); в возрастной группе 35–45 лет оказалось 264 мужчины – 42,6 % (средний возраст $40,11 \pm 2,97$ года) и 355 женщин – 57,4 % (средний возраст $40,17 \pm 3,02$ года). Всеми лицами было подписано информированное согласие на обследование и обработку персональных данных.

СКФ рассчитывалась по формуле CKD-EPI, являющейся наиболее предпочтительной, и по формуле MDRD, также используемой во врачебной практике (KDIGO 2012 г.). Для анализа выделяли следующие значения СКФ: более 90 мл/мин/1,73 см² – высокая или оптимальная, 60–89 мл/мин/1,73 см² – незначительно сниженная, 45–59 мл/мин/1,73 см² – умеренно сниженная, 30–44 мл/мин/1,73 см² – значительно сниженная, 15–29 мл/мин/1,73 см² – резко сниженная, менее 15 мл/мин/1,73 см² – терминальная почечная недостаточность.

Непрерывные переменные представлены в виде среднего арифметического (M), среднеквадратического отклонения (SD) и 95 %-го доверительного интервала (95 % CI), номинальные данные – в виде относительных частот объектов исследования (n , %). Для оценки различий количественных данных использовали критерий Стьюдента (t), для номинальных данных – точный критерий Фишера. Критический уровень значимости нулевой статистической гипотезы (p) принимали равным 0,05.

Результаты

Средняя СКФ, рассчитанная по формуле CKD-EPI, во всех возрастных группах составила 99,9 мл/мин/1,73 см², в группе 25–34 года – 104,41 мл/мин/1,73 см², в группе 35–45 лет – 96,75 мл/мин/1,73 см². Как видно из табл. 1, в 2013–2016 гг. выявлены достоверные различия средних значений СКФ как у мужчин, так и у женщин в соответствующих возрастных группах.

Анализ распределения различных уровней СКФ по полу и возрасту показал (табл. 2), что высокая или оптимальная СКФ чаще регистрировалась среди мужчин, чем среди женщин, в обеих возрастных группах, при этом доля лиц с оптимальной СКФ как у мужчин, так и у женщин в старшей возрастной группе была меньше, чем в младшей. Доля лиц с незначительно сниженной СКФ среди женщин в обеих возрастных группах была статистически значимо больше, чем среди мужчин, при этом в обеих возрастных группах была достигнута достоверность. В возрастной группе 35–45 лет как у мужчин, так и у женщин отмечено появление категорий лиц со СКФ <60 мл/мин/1,73 см². При расчете СКФ по формуле MDRD частота ее уровней была несколько иной, чем при расчете по формуле CKD-EPI (см. табл. 2). У женщин в младшей возрастной группе отмечается появление лиц со СКФ <60 мл/мин/1,73 см².

Обсуждение

Распространенность ХБП составляет 16,2 % в Европе (10,2 % в Норвегии, 12,7 % в Испании, 17,6 % в Нидерландах), 18,7 % в Японии; в Китае, в зависимости от региона, от 6,5 % (Пекин) до 11,8 % (Шанхай) [12]. Крупных исследований, позволяющих оценить распространенность ХБП в молодой российской популяции, не проводилось [6]. При анализе исследований, выполненных в отдельных регионах, можно предположить,

Таблица 1. СКФ, рассчитанная по формуле CKD-EPI, в молодой популяции г. Новосибирска (2013–2016 гг.)

Table 1. GFR calculated by the CKD-EPI formula in the young population of Novosibirsk (2013–2016)

Пол	Возраст, лет	$M \pm SD$	95 % CI
Мужчины	25–34	$109,99 \pm 11,22$	108,45–111,52
	35–44	$102,37 \pm 12,08^*$	100,88–103,86
Женщины	25–34	$99,80 \pm 12,80$	98,20–102,40
	35–44	$92,58 \pm 12,32^*$	91,27–93,89

Примечание. * – отличие от величины соответствующего показателя возрастной группы 25–34 лет статистически значимо при $p < 0,0001$.

Таблица 2. Распределение СКФ в молодой популяции г. Новосибирска (2013–2016 гг.), n (%)**Table 2.** GFR distribution in the young population of Novosibirsk (2013–2016), n (%)

Пол	Возраст, лет	Расчет по формуле CKD-EPI			Расчет по формуле MDRD		
		СКФ ≥ 90	$60 \leq \text{СКФ} < 90$	СКФ < 60	СКФ ≥ 90	$60 \leq \text{СКФ} < 90$	СКФ < 60
Мужчины	25–34 <i>n</i> = 204	194* (95,1)	10* (4,9)	0	146* (71,6)	58* (28,4)	0
	35–45 <i>n</i> = 264	228* (86,4)	34* (12,9)	2 (0,8)	164* (62,1)	96* (36,4)	4 (1,5)
	25–45 <i>n</i> = 468	422* (90,2)	44* (9,4)	2 (0,4)	310* (66,2)	154* (32,9)	4 (0,9)
Женщины	25–34 <i>n</i> = 251	193 (76,9)	58 (23,1)	0	87 (34,7)	162 (64,5)	2 (0,8)
	35–45 <i>n</i> = 355	207 (58,3)	147 (41,4)	1 (0,3)	62 (17,5)	284 (80,0)	9 (2,5)
	25–45 <i>n</i> = 606	400 (66,0)	205 (33,8)	1 (0,2)	149 (24,6)	446 (73,6)	11 (1,8)
Оба пола	25–34 <i>n</i> = 455	387 (85,1)	68 (14,9)	0	233 (51,2)	220 (48,4)	2 (0,4)
	35–45 <i>n</i> = 619	435 (70,3)	181 (29,2)	3 (0,5)	226 (36,5)	380 (61,4)	13 (2,1)
	25–45 <i>n</i> = 1074	822 (76,5)	249 (23,2)	3 (0,3)	459 (42,7)	600 (55,9)	15 (1,4)

Примечание. * – отличие от величины соответствующего показателя женщин при соответствующей СКФ статистически значимо при $p < 0,0001$.

что распространенность ХБП в России достаточно велика. По данным обследования лиц старше 60 лет, наблюдавшихся в поликлинике Москвы в 2008 г., признаки ХБП отмечались в половине случаев [1]. Среди пациентов трудоспособного возраста, проходивших обследование в Коломенской центральной районной больнице, доля лиц со сниженной СКФ оказалась 16 %, а у лиц, имеющих сердечно-сосудистые заболевания – 26 % [10]. Согласно государственному регистру Российского диализного общества, средние показатели возраста пациентов, получающих гемодиализ, находятся в диапазоне 45–47 лет, причем ежегодно по причине заболевания почек получают инвалидность около 41,5 тыс. человек, лечение одного диализного пациента обходится в 1,0–1,15 млн руб. в год [2].

Проведенное нами исследование позволило оценить распространенность снижения СКФ, половые различия, возрастную динамику частоты, средние значения СКФ у молодых мужчин и женщин в неорганизованной популяции г. Новосибирска, получить представление о популяционных закономерностях изучаемых показателей. Анализ встречаемости отдельных уровней СКФ у мужчин и женщин позволяет составить представление о частоте встречаемости поражения почек и оценить риск развития сердечно-сосудистых за-

болеваний, в частности сердечной недостаточности, в популяции. Хорошо известно, что лечение больных с терминальной стадией ХБП крайне дорогостоящее, кроме того, снижение СКФ относится к самостоятельным факторам риска развития сердечно-сосудистых заболеваний [1, 2, 16]. Зарегистрированы характерная для ХБП тенденция к снижению СКФ с возрастом.

Сопоставление полученных данных с аналогичными, а также определение тенденции показателей СКФ за длительный период в РФ оказалось затруднительным ввиду отсутствия сходных по дизайну исследований. В 2012 г. в РФ проведено исследование ЭССЕ-РФ, включавшее 12 регионов РФ, в котором использовалась систематическая стратифицированная многоступенчатая случайная выборка, сформированная по территориальному принципу на базе лечебно-профилактических учреждений по методу Киша [7]. СКФ у пациентов всей выборки (15 570 человек) составила $98,54 \pm 15,37$ мл/мин/1,73 см², распространенность оптимальной или высокой СКФ – 73,47 %, незначительно сниженной – 25,42 %, умеренно сниженной – 0,89 %, существенно сниженной – 0,08 %, резко сниженной – 0,06 %; терминальная почечная недостаточность составила 0,08 % [8]. Мы получили результаты, схожие с данными исследования ЭССЕ-РФ (см. табл. 2).

Согласно данным исследования, выполненного в 2013 г. в Краснодаре, у лиц трудоспособного возраста (средний возраст $41,8 \pm 10,2$ года), показатели СКФ ≥ 90 мл/мин/1,73 см² имели 53,9 % обследованных (40,8 % мужчин и 59,2 % женщин), незначительное снижение СКФ зарегистрировано у 38,7 % (51,5 % мужчин и 48,5 % женщин). Доля лиц со снижением СКФ < 60 мл/мин/1,73 см² составила 7,4 % (62,9 % мужчин и 37,1 % женщин) [4]. Согласно нашему исследованию, доля лиц с оптимальной или высокой СКФ, рассчитанной по формуле СКД-ЕРІ, оказалась выше, а лиц с умеренно или незначительно сниженной СКФ – ниже (см. табл. 2). Также выявлены половые различия: уменьшение СКФ чаще отмечаются у женщин, чем у мужчин. Причины половых различий требуют дальнейшего изучения.

Безусловно, «золотым стандартом» определения СКФ является метод оценки клиренса по инулину, однако высокая стоимость данного исследования потребовала поиска более дешевых методов. В 2002 г. согласно рекомендациям KDOQI (National Kidney Foundation Kidney Disease Outcomes Quality Initiative) широкое применение получила формула MDRD [11], однако в 2012 г. от этого расчетного метода отказались из-за того, что по данной формуле значения СКФ оказываются значительно заниженными, и с 2012 г. экспертами KDIGO (Kidney Disease: Improving Global Outcomes) рекомендуется метод расчета СКФ по формуле СКД-ЕРІ. Результаты, полученные при расчете по этой формуле, наиболее сопоставимы с результатами оценки клиренса по инулину [14].

В России для расчета СКФ до сих пор широко используют и формулу MDRD, и формулу СКД-ЕРІ. В нашем исследовании расчет производился по обеим формулам. Полученные результаты имели существенные различия: так, при расчете СКФ по формуле СКД-ЕРІ доля лиц с оптимальной или высокой СКФ составила 76,5 %, с незначительно сниженной СКФ – 23,2 %, с умеренно сниженной – 0,3 %; а при расчете по формуле MDRD – 42,7, 55,9 и 1,4 % соответственно. В 2009 г. A.S. Levey et al. провели сравнительный анализ [15], показавший, что отклонение кривой СКФ, рассчитанной по формуле MDRD, существенно больше от клиренса по инулину, чем кривой СКФ, рассчитанной по формуле СКД-ЕРІ. В исследовании L.A. Stevens et al. также установлено, что расчет по формуле СКД-ЕРІ является более точным, чем по формуле MDRD [17], при СКФ выше 60 мл/мин/1,73 см² формула MDRD дает неточные (заниженные) результаты [13]. Основываясь на данных выполненных ранее исследований и рекомендациях KDIGO 2012 г., право-

мерно считать, что расчеты, произведенные по формуле СКД-ЕРІ, более объективно отражают значения СКФ, чем полученные при использовании формулы MDRD.

Заключение

Снижение уровня СКФ, рассчитанной по формуле СКД-ЕРІ, ниже оптимальных значений (< 90 мл/мин/1,73 м²) у мужчин составило 9,8 % (в 25–34 лет – 9,4 %; в 35–45 лет – 13,7 %), у женщин – 34 % (в 25–34 лет – 23,1 %; в 35–45 лет – 41,7 %). Частота лиц с оптимальной СКФ у мужчин составила 90,2 %, с незначительно сниженной – 9,4 %, со СКФ < 60 мл/мин/1,73 см² – 0,4 %, у женщин – 66,0; 33,8; 0,2 % соответственно. Выявлены половые различия, ранее не описываемые, требующие дальнейшего изучения. Полученные нами данные являются актуальными для прогноза заболеваемости лиц репродуктивного, трудоспособного возраста, а также для реализации лечебно-профилактических мероприятий.

Список литературы / References

1. Антонова Т.Н., Бикбов Б.Т., Галь И.Г., Томилина Н.А. К вопросу о распространенности хронической болезни почек среди пожилых лиц в Москве и ее связи с сердечно-сосудистой патологией. *Нефрология и диализ*. 2011; 13 (3): 353–354.
2. Antonova T.N., Bikbov B.T., Gal I.G., Tomilina N.A. On the prevalence of chronic kidney disease among elderly people in Moscow and its connection with cardiovascular pathology. *Nefrologiya i dializ = Nephrology and Dialysis*. 2011; 13 (3): 353–354. [In Russian].
3. 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. *Нефрология и диализ*. 2014; 16 (1): 11–127.
4. Bikbov B.T., Tomilina N.A. Renal replacement therapy for ESRD patients in Russian Federation, 1998–2011. Report of Russian RRT Registry. Part 1. *Nefrologiya i dializ = Nephrology and Dialysis*. 2014; 16 (1): 11–127. [In Russian].
5. Бикбов Б.Т., Томилина Н.А. Заместительная терапия терминальной хронической почечной недостаточности в российской федерации в 1998–2013 гг. Отчет по данным российского регистра заместительной почечной терапии. Часть первая. *Нефрология и диализ*. 2015; 17 (3): 5–111.
6. Bikbov B.T., Tomilina N.A. Renal replacement therapy for ESRD in Russian Federation, 1998–2013 Report of the Russian Renal Replacement Therapy

Registry. Part 1. *Nephrology and Dialysis*. 2015; 17 (3): 5–111. [In Russian].

4. Болотова Е.В., Самородская А.В., Дудникова С.А., Картавенков С.А. Распространенность факторов риска хронической болезни почек среди трудоспособного населения Краснодара. *Профилактикт. медицина*. 2014; 17 (5): 60–64.

Bolotova E.V., Samorodskaya A.V., Dudnikova S.A., Kartavenkov S.A. Prevalence of risk factors for chronic kidney disease among the able-bodied population of Krasnodar. *Profilakticheskaya meditsina = The Russian Journal of Preventive Medicine and Public Health*. 2014; 17 (5): 60–64. [In Russian].

5. Добронравов В.А., Смирнов А.В., Драгунов С.В., Зверьков Р.В., Евдокимова Т.В. Эпидемиология хронической почечной недостаточности в Северо-Западном регионе России: на пути к созданию регистра хронической почечной болезни. *Терапевт. архив*. 2004; (9): 57–61. doi: 10.24884/1561-6274-2004-8-1-36-41

Dobronravov V.A., Smirnov A.V., Dragunov S.V., Zverkov R.V., Evdokimova T.V. Epidemiology of chronic renal disease in the Northwest of Russia: setting-up the register. *Terapevticheskiy arkhiv = Therapeutic Archive*. 2004; (9): 57–61. [In Russian]. doi: 10.24884/1561-6274-2004-8-1-36-41

6. Моисеев В.С., Мухин Н.А., Смирнов А.В. Сердечно-сосудистый риск и хроническая болезнь почек: стратегия кардионепропротекции. *Рос. кардиол. журн*. 2014; (8): 7–37. doi: 10.15829/1560-4071-2014-8-7-37

Moiseev B.C., Mukhin N.A., Smirnov A.V. Cardiovascular risk and chronic kidney disease: cardioprotection strategies. *Rossiyskiy kardiologicheskii zhurnal = Russian Journal of Cardiology*. 2014; 8 (112): 7–37. [In Russian]. doi: 10.15829/1560-4071-2014-8-7-37

7. Научно-организационный комитет проекта ЭССЕ-РФ. Эпидемиология сердечно-сосудистых заболеваний в различных регионах России (ЭССЕ-РФ). Обоснование и дизайн исследования. *Профилактикт. медицина*. 2013; (6): 25–34.

Research organizing committee of the ESSE-RF project. Epidemiology of cardiovascular diseases in different regions of Russia (ESSE-RF). The rationale for and design of the study. *Profilakticheskaya meditsina = The Russian Journal of Preventive Medicine and Public Health*. 2013; (6): 25–34. [In Russian].

8. Ощепкова Е.В., Долгушева Ю.А., Жернакова Ю.В., Чазова И.Е., Шальнова С.А., Яровая Я.Б., Ротарь О.П., Конради А.О., Бойцов С.А. Распространенность нарушения функции почек при артериальной гипертензии (по данным эпидемиологического исследования ЭССЕ-РФ). *Систем. гипертензии*. 2015; 12 (3): 19–24. doi: 10.26442/2075-082X_12.3.19-24

Oshchepkova E.V., Dolgusheva Yu.A., Zhernakova Yu.V., Chazova I.E., Shalnova S.A., Yarovaya Ya.B.,

Rotar O.P., Konradi A.O., Boytsov S.A. The prevalence of renal dysfunction in arterial hypertension (in the framework of the ESSE-RF study). *Sistemnye gipertenzii = Systemic Hypertension*. 2015; 12 (3): 19–24. [In Russian]. doi: 10.26442/2075-082X_12.3.19-24

9. Смирнов А.В., Шилов Е.М., Добронравов В.А., Каюков И.Г., Бобкова И.Н., Швецов М.Ю., Цыгин А.Н., Шутов А.М. Хроническая болезнь почек: основные принципы скрининга, диагностики, профилактики и подходы к лечению. Национальные рекомендации. *Клин. нефрология*. 2012; (4): 4–26.

Smirnov A.V., Shilov E.M., Dobronravov V.A., Kayukov I.G., Bobkova I.N., Shvetsov M.Yu., Tsygin A.N., Shutov A.M. Chronic kidney disease: the basic principles of screening, diagnosis, prevention, and approaches to treatment. National recommendations. *Klinicheskaya nefrologiya = Clinical Nephrology*. 2012; (4): 4–26. [In Russian].

10. Шалыгин Ю.Д., Нарайцева С.С., Швецов М.Ю. Снижение скорости клубочковой фильтрации как маркер хронической болезни почек: частота встречаемости и клинические ассоциации (по данным обследования пациентов терапевтического профиля, госпитализированных в Коломенскую ЦРБ). VII съезд Научного общества нефрологов России: сб. тез. докл. Москва, 19–22 октября 2010 г. М., 2010. 140–141.

Shalyagin Yu.D., Nagaytseva S.S., Shvetsov M.Yu. Decrease in the glomerular filtration rate as a marker of chronic kidney disease: frequency of occurrence and clinical associations (according to the survey of patients of the therapeutic profile hospitalized in the Kolomna CRH). VII Congress of the Scientific Society of Nephrologists of Russia: a collection of abstracts and reports. Moscow, October 19–22, 2010. Moscow, 2010. 140–141. [In Russian].

11. Bailie G.R., Uhlig K., Levey A.S. Clinical practice guidelines in nephrology: evaluation, classification, and stratification of chronic kidney disease. *Pharmacotherapy*. 2005; 25 (4): 491–502. doi: 10.1592/phco.25.4.491.61034

12. Chen N., Wang W., Huang Y., Shen P., Pei D., Yu H., Shi H., Zhang Q., Xu J., Lv Y., Fan Q. Community-based study on CRD subjects and the associated risk factors. *Nephrol. Dial. Transplant*. 2009; 24 (7): 2117–2123. doi: 10.1093/ndt/gfn767

13. Hallan S., Asberg A., Lindberg M., Johnsen H. Validation of the modification of diet in renal disease formula for estimating GFR with special emphasis on calibration of the serum creatinine assay. *Am. J. Kidney Dis*. 2004; 44 (1): 84–93. doi: 10.1053/ajkd.2004.03.027

14. Andrassy K.M. Comments on «KDIGO 2012 clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease». *Kidney Int*. 2013; 84 (3): 622–623. doi: 10.1038/ki.2013.243

15. Levey A.S., Stevens L.A., Schmid C.H., Zhang Y.L., Castro A.F. 3rd, Feldman H.I., Kusek J.W.,

- Eggers P., van Lente F., Greene T., Coresh J. CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration). A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann. Intern. Med.* 2009; 150 (9): 604–12. doi: 10.7326/0003-4819-155-6-201109200-00024
16. Piepoli M.F., Hoes A.W., Agewall S., Albus C., Brotons C., Catapano A.L., Cooney M.T., Corra U., Cosyns B., Deaton C., Graham I., Hall M.S., Richard Hobbs F.D., Lochen M.L., Lollgen H., Marques-Vidal P., Perk J., Prescott E., Redon J., Richter D.J., Sattar N., Smulders Y., Tiberi M., Bart van der Worp H., van Dis I., Monique Verschuren W.M. 2016 European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice. *Rev. Esp. Cardiol. (Engl. Ed)*. 2016; 69 (10): 939. doi: S1885-5857(16)30270-5
17. Stevens L.A., Schmid C.H., Greene T., Zhang Y.L., Beck G.J., Froissart M., Hamm L.L., Lewis J.B., Mauer M., Navis G.J., Steffes M.W., Eggers P.W., Coresh J., Levey A.S. Comparative performance of the CKD Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) and the Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) study equations for estimating GFR levels above 60 ml/min/1.73 m². *Am. J. Kidney Dis.* 2010; 56 (3): 486–495. doi: 10.1053/j.ajkd.2010.03.026

Сведения об авторах:

Наталья Алексеевна Ковалькова, к.м.н., ORCID: 0000-0001-5368-1899, e-mail: terap2000@yandex.ru
Алёна Дмитриевна Худякова, ORCID: 0000-0001-7875-1566, e-mail: alene.elene@gmail.com
Лилия Валерьевна Щербакова, ORCID: 0000-0001-9270-9188, e-mail: 9584792@mail.ru
Елена Анатольевна Васькина, д.м.н., проф., ORCID: 0000-0002-5304-4117, e-mail: ewaskin@mail.ru
Диана Вахтанговна Денисова, д.м.н., ORCID: 0000-0002-2470-2133, e-mail: denisovadiana@gmail.com
Юлия Игоревна Рагино, д.м.н., проф., член-корр. РАН, ORCID: 0000-0002-4936-8362, e-mail: ragino@mail.ru
Михаил Иванович Воевода, д.м.н., академик РАН, ORCID: 0000-0001-9425-413X, e-mail: mvovoda@ya.ru

Information about the authors:

Natalya A. Kovalkova, candidate of medical sciences, ORCID: 0000-0001-5368-1899, e-mail: terap2000@yandex.ru
Alyona D. Khudyakova, ORCID: 0000-0001-7875-1566, e-mail: alene.elene@gmail.com
Liliya V. Shcherbakova, ORCID: 0000-0001-9270-9188, e-mail: 9584792@mail.ru
Elena A. Vaskina, doctor of medical sciences, professor, ORCID: 0000-0002-5304-4117, e-mail: ewaskin@mail.ru
Diana V. Denisova, doctor of medical sciences, professor, ORCID: 0000-0002-2470-2133, e-mail: denisovadiana@gmail.com
Yuliya I. Ragino, doctor of medical sciences, professor, corresponding member RAS, ORCID: 0000-0002-4936-8362, e-mail: ragino@mail.ru
Mihail I. Voevoda, doctor of medical sciences, Academician of the Russian Academy of Sciences, professor, ORCID: 0000-0001-9425-413X, e-mail: mvovoda@ya.ru

Поступила в редакцию 22.11.2019

После доработки 02.12.2019

Принята к публикации 03.02.2020

Received 22.11.2019

Revision received 02.12.2019

Accepted 03.02.2020

Недостаточность своевременности и эффективности диагностики злокачественных новообразований визуальных локализаций женской репродуктивной системы

Н.В. Ворошина¹, А.В. Важенин^{1,2}, Ю.А. Тюков²

¹ Челябинский областной клинический центр онкологии и ядерной медицины
454087, г. Челябинск, ул. Блюхера, 42

² Южно-Уральский государственный медицинский университет Минздрава России
454092, г. Челябинск, ул. Воровского, 64

Резюме

В Российской Федерации ввиду актуальности проблемы воспроизводства населения остро стоят вопросы онкологической заболеваемости женщин фертильного возраста. Количество опухолей репродуктивной системы, составляя от 36,1 до 37,6 % в структуре онкологической заболеваемости по разным регионам, продолжает расти. **Материал и методы.** Исследование проведено в 2018 г. путем анкетирования пациенток с опухолями молочной железы ($n = 391$), раком шейки матки ($n = 273$), раком вульвы ($n = 30$) и раком влагалища ($n = 11$). **Результаты.** У 2,0 % респонденток с раком молочной железы, 5,9 % женщин с опухолью влагалища и 11,3 % пациенток с раком шейки матки весь период диагностики занял не более одной недели. Длительный период диагностики опухолей визуальной локализации стал причиной запущенности патологии при раке молочной железы в 56,5 %, при раке шейки матки – в 47,0 %, при раке вульвы – в 40,0 %, при раке влагалища – в 11,6 % случаев. **Обсуждение.** Большинство районных онкологов и врачей смежных профессий не определяют проявления опухолей визуальной локализации. Врачебный персонал поликлиник муниципальных районов либо совершенно не осведомлен о порядке маршрутизации пациентов с подозрением на злокачественное новообразование, либо плохо информирует об этом данную категорию пациентов. **Заключение.** Онкологи поликлиник муниципальных районов и врачи смежных специальностей нуждаются в методической литературе по диагностике опухолей. Необходима оптимизация схемы маршрутизации пациентов с подозрением на злокачественную опухоль.

Ключевые слова: своевременность диагностики, рак молочной железы, рак шейки матки, рак вульвы, рак влагалища, маршрутизация пациентов.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Автор для переписки: Ворошина Н.В., e-mail: natalyavoroshina67@gmail.com

Для цитирования: Ворошина Н.В., Важенин А.В., Тюков Ю.А. Недостаточность своевременности и эффективности диагностики злокачественных новообразований визуальных локализаций женской репродуктивной системы. *Сибирский научный медицинский журнал*. 2020; 40 (2): 98–103. doi: 10.15372/SSMJ20200214

Insufficiency of timeliness and efficiency of diagnosis of malignant tumors of visual localization in the female reproductive system

N.V. Voroshina¹, A.V. Vazhenin^{1,2}, Yu.A. Tyukov²

¹ Chelyabinsk Regional Clinical Center of Oncology and Nuclear Medicine
454087, Chelyabinsk, Blukhera str., 42

² South Ural State Medical University
454092, Chelyabinsk, Vorovskogo str., 64

Abstract

Reproductive system cancer is the most common female malignancy, accounting for 36.1 to 37.6 % of all gynecological cancers. The incidence rate of female reproductive system cancer continues to increase. **Material and methods.** The study was conducted in 2018 by interviewing 391 patients with breast cancer, 273 patients with cervical cancer, 30 patients with cancer of the vulva and 11 patients with vaginal cancer were interviewed. **Results.** The time period for making diagnosis lasted no longer than a week in 2.0 % of respondents with breast cancer, 5.9 % with vaginal tumor and 11.3 % with cervical cancer. A long period of cancer detection was the cause of advanced cancer (56.5 and 47.0 % of cases of breast and cervical cancer, 40.0 % of vulva and 11.6 % of vaginal cancer). **Discussion.** The majority of district oncologists and other allied healthcare professionals are not able to identify abnormalities caused by cancer. Physicians of municipal health care facilities are either completely unaware of the procedure for routing patients with suspected malignant neoplasm or simply cannot explain it to patients. **Conclusions.** Oncologists working in outpatient health care facilities and other allied healthcare professionals need a special methodical literature on cancer screening. It is necessary to optimize the routing scheme of patients with suspected malignant tumors with mandatory training of oncologists and other allied healthcare professionals on the routing of such patients.

Key words: timely diagnosis, breast cancer, cervical cancer, vulva cancer, vaginal cancer, routing scheme of patients.

Conflict of interests. Authors declare lack of the possible conflicts of interests.

Correspondence author: Voroshina: N.V., E-mail: Natalyavoroshina67@gmail.com

Citation: Voroshina N.V., Vazhenin A.V., Tyukov Yu.A. Insufficiency of timeliness and efficiency of diagnosis of malignant tumors of visual localization in the female reproductive system. *Sibirskiy nauchnyy meditsinskiy zhurnal* = *Siberian Scientific Medical Journal*. 2020; 40 (2): 98–103. [In Russian]. doi: 10.15372/SSMJ20200214

Введение

В Российской Федерации и в мире в целом продолжают увеличиваться показатели заболеваемости и смертности от злокачественных новообразований. К началу третьего тысячелетия в мире на учет состояло около 10 млн больных раком, но к 2020 г. прогнозируется увеличение численности таких больных на 60,0 % [2, 10, 11].

В Российской Федерации особо значимы вопросы онкологической заболеваемости женщин фертильного возраста ввиду актуальности проблемы воспроизводства населения [3, 6]. Количество опухолей репродуктивной системы, составляя от 36,1 до 37,6 % в структуре онкологической заболеваемости по разным регионам, продолжает расти. Прежде всего это относится к раку молочной железы (РМЖ) и раку шейки матки (РШМ), которые являются проблемой во всех экономически развитых странах [1, 8, 9, 12]. В сложившейся ситуации особая актуальным является раннее выявление злокачественных новообразований женской репродуктивной системы, поскольку большинство из них относится к опухолям визуальных локализаций, первичная диагностика которых не требует дополнительных методов исследования [4, 5, 7].

Цель исследования – оценить мнение женщин, страдающих злокачественными новообразованиями репродуктивной системы визуальных локализаций, о своевременности и эффективности первичной диагностики.

Материал и методы

Исследование проведено в 2018 г. путем анкетирования четырех совокупностей респондентов, сформированных случайным методом из числа пациенток с РМЖ ($n = 391$), РШМ ($n = 273$) и генеральной совокупности женщин с раком вульвы ($n = 30$) и влагалища ($n = 11$), состоящих на диспансерном наблюдении в ГБУЗ «Челябинский областной клинический центр онкологии и ядерной медицины».

Результаты и их обсуждение

Учитывая визуальную локализацию рассматриваемых опухолей, их выявление должно происходить на бессимптомной стадии, а именно на первичном медицинском осмотре после обследования соответствующим специалистом. Однако только пятая часть всех опухолей репродуктивной системы у женщин была обнаружена на медицинских осмотрах. Наиболее редко таким образом был диагностирован рак вульвы – каждый десятый случай, наиболее успешно – рак влагалища, каждая третья опухоль. Кроме того, к этой категории пациенток можно отнести и 4,9 % опрошенных с РШМ, у которых заболевание выявил фельдшер смотрового кабинета поликлиники. Еще от 5,9 до 29,4 % случаев РШМ и рака влагалища были обнаружены случайно врачами других специальностей во время обследования по поводу неонкологической патологии.

Таблица 1. Структура обращений после подозрения на злокачественную опухоль, %**Table 1.** Appeal structure after suspicion of a malignant tumor, %

Специалист	Женщины со злокачественным новообразованием			
	молочной железы	шейки матки	вульвы	влагалища
Участковый врач	20,6	7,0	10,0	17,6
Акушер-гинеколог	33,3	69,4	70,0	53,0
Врач частной клиники	22,5	11,3	20,0	17,6
Онколог	23,6	11,3	0,0	11,8

Таблица 2. Дальнейшие действия респондентов, которым не был установлен диагноз злокачественной опухоли, %**Table 2.** Further actions of respondents who were not diagnosed with a malignant tumor, %

Действие	Женщины со злокачественным новообразованием			
	молочной железы	шейки матки	вульвы	влагалища
Перестали обращать внимание на проблему	8,6	0,0	0,0	11,1
Обратились в онкологическое отделение городского округа	27,1	11,8	0,0	26,0
Обратились в областной центр онкологии и ядерной медицины	40,0	76,4	66,6	40,3
Обратились к знакомому врачу	11,4	5,9	16,7	11,1
Другое	12,9	5,9	16,7	11,1

В остальных случаях опухоли были выявлены на приеме у врачей при наличии у пациенток выраженных жалоб. Чаще всего это происходит при РМЖ (у 73,5 % опрошенных), реже при РШМ (у 39,5 % опрошенных). В 2,9 % случаев РМЖ и в 1,6 % случаев РШМ заболевание заподозрил муж пациентки.

При анализе начального этапа маршрутизации женщин с подозрением на рак обнаружена его неудовлетворительная организация (табл. 1). Правильно, т.е. с обращения к онкологу, его начала в среднем одна из десяти опрошенных женщин. Конечно, обращение больных с подозрением на рак вульвы, влагалища и РШМ к гинекологам не нанесло ущерба диагностике, но привело к потере времени, поскольку визит к онкологу в любом случае потребует как для верификации диагноза, так и для дальнейшей маршрутизации по поводу лечения. Однако такое нарушение маршрутизации, как обращение женщин с подозрением на РМЖ к гинекологам, участковым терапевтам и частным врачам (не онкологам), – одна из причин выявления запущенных форм рака.

В результате таких нарушений маршрутизации диагноз был установлен только каждой второй больной. Худшим образом ситуация складывалась при опухолях вульвы – у 60,0 % больных правильный диагноз не был установлен при первом обращении, в том числе в 100 % случаев

при обращении к участковому врачу, в 60,0 % – к гинекологу и в 50 % – в частные клиники. Несколько лучше обстоит дело с диагностикой рака влагалища, с задачей справились все участковые врачи, 50,0 % онкологов районных поликлиник и 65,0 % гинекологов. При РШМ с диагностикой не справились 51,0 % гинекологов, половина участковых врачей, 43,0 % врачей частных клиник и каждый шестой районный онколог. При диагностике РМЖ со своей задачей справились все участковые врачи, 56,8 % гинекологов, 52,2 % врачей частных клиник и всего 41,7 % онкологов.

Из той половины респонденток, которым диагноз РМЖ и РШМ не был установлен, лишь некоторые перестали обращать внимание на проблему (табл. 2), большинство же (все жительницы Челябинска и основная часть жителей сельских муниципальных районов) не удовлетворились результатами обследований и самостоятельно направились в Челябинский областной клинический центр онкологии и ядерной медицины. Жительницы городских округов области обратились в ближайшие городские онкологические отделения и диспансеры. Однако и там зачастую правильный диагноз не был установлен, эти респондентки самостоятельно обратились в областной центр онкологии и ядерной медицины, где и был диагностирован рак.

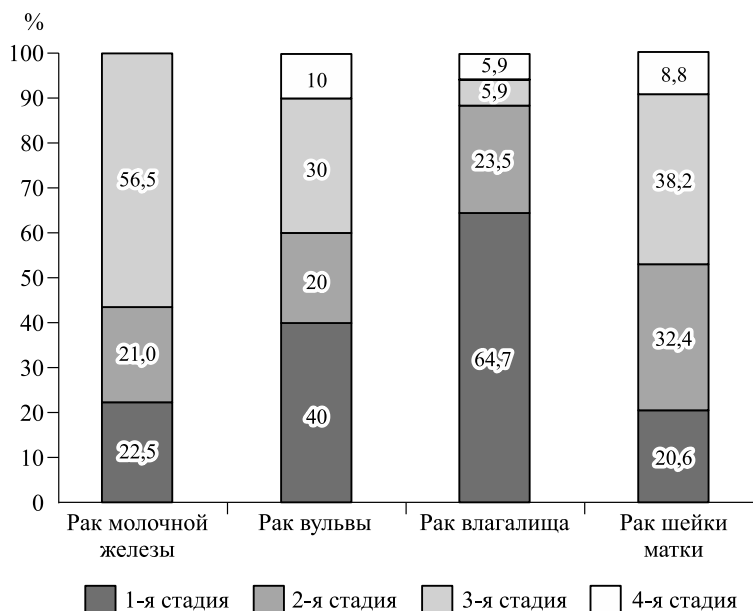


Рис. Структура выявленных стадий злокачественного процесса, %

Fig. The structure of the revealed stages of the malignant process, %

Каждая десятая опрошенная после неудачной первой попытки обращения за медицинской помощью предпочла получить консультацию у знакомого врача. Еще 11,7 % респонденток, не знающих существующей схемы маршрутизации с подозрением на рак и обеспокоенных своим состоянием, обращались к дерматологам, к соответствующим специалистам областной больницы или частных клиник, сделали УЗИ или гистологическое исследование.

Важным критерием, характеризующим эффективность начального этапа маршрутизации онкологических больных и в целом доступность первичной онкологической помощи, является длительность периода с момента обращения при подозрении на опухоль до установления правильного диагноза. Только у 2,0 % респонденток с РМЖ, 5,9 % с опухолью влагалища и 11,3 % с РШМ весь период первичной диагностики занял не более одной недели. Своевременный диагностический результат был получен за счет адресного обращения: больные РМЖ – сразу в областную центр онкологии и ядерной медицины, а пациентки с РШМ и раком влагалища – сразу в женскую консультацию, к сожалению, другим условием успеха диагностики стало наличие злокачественной опухоли III стадии.

У каждой десятой опрошенной 2–3 нед ушло на установление диагноза при новообразованиях вульвы, у 14,5 % – при РШМ, у 17,6 % – при РМЖ, у 47,1 % – при опухолях влагалища. До 1 мес. процесс установления правильного диа-

гноза занял у 17,6, 19,4 и 28,4 % больных с раком влагалища, РШМ и РМЖ соответственно. К сожалению, для большей части опрошенных (56,6 %) диагностика злокачественной опухоли растянулась на срок более 2 мес.: при раке вульвы – 90,0 % опрошенных, при РШМ – 54,8 %, при РМЖ – 52,0 %, при опухолях влагалища – 29,4 %. Столь длительный период диагностики опухоли визуальной локализации стал причиной запущенности патологии: при РМЖ – в 56,5 %, при РШМ – в 47,0 %, при раке вульвы – в 40,0 %, при раке влагалища – в 11,6 % случаев были выявлены опухоли III–IV стадии (рисунок).

Результаты исследования позволили оценить степень эффективности диагностики злокачественных новообразований визуальных локализаций и начального этапа маршрутизации. Так, хуже всего со своевременностью установления диагноза, по мнению респонденток (65,7 % опрошенных), обстоит дело при диагностике РМЖ. Немного лучше со своевременностью при выявлении РШМ (64,5 %) и рака вульвы (60,0 %). И только при диагностике рака влагалища претензии на позднее выявление высказала лишь каждая третья опрошенная.

Обязательным при выяснении причин несвоевременности диагностики злокачественных опухолей является изучение мнения самих пациентов об этом. Так, в среднем каждый четвертый ответ содержит информацию о длительном согласовании по поводу дополнительного обследования (табл. 3). Эта проблема указана половиной

Таблица 3. Причины длительного ожидания установления диагноза, %

Table 3. Reasons for long waiting for a diagnosis, %

Причина	Женщины со злокачественным новообразованием			
	молочной железы	шейки матки	вульвы	влагалища
Длительное согласование по поводу дополнительного обследования	16,7	26,8	12,5	50,0
Долго собирать анализы	13,7	29,3	37,5	0,0
Отсутствовал нужный специалист	8,9	12,2	12,5	0,0
Очереди на инструментальные исследования	14,7	17,1	12,5	50,0
Другое	45,0	14,6	25,0	0,0

пациенток с раком влагалища, каждой четвертой – с РШМ, каждой шестой – с РМЖ и каждой восьмой – с опухолями вульвы.

Второй по частоте причиной несвоевременности диагностики являются очереди на инструментальные исследования. Это указано в половине ответов от респонденток с раком влагалища, в каждом восьмом случае – от страдающих раком вульвы, в 17,1 и 14,7 % ответов женщин с РШМ и РМЖ соответственно. Следующей по частоте проблемой, которая, по мнению опрошенных, привела к задержке диагностики рака, является длительность сбора анализов. Это отмечено в 37,5 % ответов респонденток с раком вульвы, в 29,3 % – при РШМ и в 13,7 % – при РМЖ. В 8,4 % ответов всех респонденток косвенно указывается на некомпетентность большинства врачей поликлиник в вопросах диагностики опухолей визуальной локализации, что скрыто за фразой «ожидание временно отсутствующего специалиста».

Следует отметить, что некоторые из причин даже не подразумеваются организаторами анкетирования и были получены в ответ на открытый вопрос анкеты «другие причины». Так, в каждом третьем ответе указывается некомпетентность врача, который просто не увидел опухоль. В каждом пятом ответе есть указание на врачебные ошибки. Например, новообразование приняли за доброкачественную миому и предложили «подождать, чтобы подросла». Во многих ответах респондентки обвиняют медицинских работников в невнимательности. И только в 28 из 100 ответов женщины винят себя в беспечности.

Таким образом, в результате анкетирования женщин, страдающих злокачественными новообразованиями репродуктивной системы, получены сведения, которые невозможно извлечь из официальной отчетной документации. Во-первых, для ряда районных онкологов и большинства врачей смежных профессий опухоли визуальной локализации так же сложны для диагностики, как и злокачественные новообразования внутренних органов. Эти специалисты просто не видят признаков

проявления опухолей визуальной локализации. Отсюда следуют заявления о необходимости дожидаться временно отсутствующего специалиста, об очередях на инструментальные исследования и о длительности сбора анализов. Другим пессимистичным итогом исследования является то, что врачебный персонал поликлиник муниципальных районов либо совершенно не осведомлен о порядке маршрутизации пациентов с подозрением на злокачественное новообразование, либо плохо информирует об этом данную категорию больных.

Заключение

По всем четырем нозологическим формам рака, рассматриваемым в статье, ситуация с эффективностью и своевременностью диагностики требует дополнительного анализа и принятия управленческих решений. Онкологи поликлиник муниципальных районов и врачи смежных специальностей нуждаются в методической литературе по визуализации злокачественных опухолей на разных стадиях и объективной оценке их знаний по диагностике злокачественных новообразований. Необходима оптимизация схемы маршрутизации пациентов с подозрением на злокачественную опухоль и обязательная информированность каждого онколога и врачей смежных специальностей о порядке маршрутизации таких больных. Необходимо совершенствование санитарно-гигиенического просвещения населения по вопросам профилактики и первичной симптоматике злокачественных новообразований женской репродуктивной системы.

Список литературы / References

- Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2014 году (заболеваемость и смертность). М., 2015. 251 с.
Kaprin A.D., Starinsky V.V., Petrova G.V. Malignant neoplasms in Russia in 2014 (morbidity and mortality). Moscow, 2015. 251 p. [In Russian].

2. Каприн А.Д., Старинский В.В., Петрова Г.В. Злокачественные новообразования в России в 2015 году (заболеваемость и смертность). М., 2017. 250 с.
- Kaprin A.D., Starinsky V.V., Petrova G.V. Malignant neoplasms in Russia in 2015 (morbidity and mortality). Moscow, 2017. 250 p. [In Russian].
3. Косенок В.К., Бельская Л.В., Массард Ж., Вьюшков Д.М. Статистические особенности заболеваемости раком молочной железы в Омской области. *Вопр. онкологии*. 2016; 62 (4): 410–415. doi: 10.18722/VO2016624410-415
- Kosenok V.K., Belskaya L.V., Massard Zh., Viushkov D.M. Statistical features of breast cancer incidence in the Omsk region. *Voprosy onkologii = Problems in Oncology*. 2016; 62 (4): 410–415. [In Russian]. doi: 10.18722/VO2016624410-415
4. О совершенствовании системы государственного ракового регистра. Приказ Минздравсоцразвития РФ № 135 от 19.04.99. М., 1999. 153 с.
- On improving the system of the state cancer registry. Order of the Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation No. 135 04.19.99. Moscow, 1999. 153 p. [In Russian].
5. Паяниди Ю.Г., Жордания К.И., Савостикова М.В. Рак шейки матки. Традиционные и новые подходы к проблеме. *Акушерство и гинекология*. 2015; (7): 94–99.
- Payanidi Yu.G., Zhordania K.I., Savostikova M.V. Cervix uteri cancer: traditional and new approaches to the problem. *Akusherstvo i ginekologiya = Obstetrics and Gynecology*. 2015; (7): 94–99. [In Russian].
6. Щепин О.П., Петручук О.Е., Давлетшин Ф.А. Профилактика здоровья населения в условиях региона. Казань: Бриг, 2010. 323 с.
- Schepin O.P., Petrushuk O.E., Davletshin F.A. Prevention of public health in the region. Kazan: Brig, 2010. 332 p. [In Russian].
7. Ali A.A., Richardson D., Hill N. A retrospective study of cervical screening in women under 25 years (2005–2009). *Arch. Gynecol. Obstet.* 2013; 287 (4): 765–769. doi: 10.1007/s00404-012-2631-9
8. Andersson M., Lidbrink E., Bjerre K., Wist E., Enevoldsen K., Jensen A.B., Karlsson P., Tange U.B., Sørensen P.G., Møller S., Bergh J., Langkjer S.T. Phase III randomized study comparing docetaxel plus trastuzumab with vinorelbine plus trastuzumab as first-line therapy of metastatic or locally advanced human epidermal growth factor receptor 2-positive breast cancer: the HERNATA study. *J. Clin. Oncol.* 2011; 29 (3): 264–271. doi: 10.1200/JCO.2010.30.8213
9. Bachelot T., Romieu G., Campone M., Diéras V., Cropet C., Dalenc F., Jimenez M., Le Rhun E., Pierga J.Y., Gonçalves A., Leheutteur M., Domont J., Gutierrez M., Curé H., Ferrero J.M., Labbe-Devilliers C. Lapatinib plus capecitabine in patients with previously untreated brain metastases from Her-2 positive metastatic breast cancer (LANDSCAPE): a single-group phase 2 study. *Lancet Oncol.* 2013; 14 (1): 64–71. doi: 10.1016/S1470-2045(12)70432-1
10. Engholm G., Ferlay J., Christensen N., Bray F., Gjerstorff M.L., Klint A., Køtlum J.E., Olafsdóttir E., Pukkala E., Storm H.H. NORDCAN – a Nordic tool for cancer information, planning, quality control and research. *Acta Oncol.* 2010; 49 (5): 725–36. doi: 10.3109/02841861003782017.
11. Ferlay J., Parkin D.M., Steliarova-Foucher E. Estimates of cancer incidence and mortality in Europe in 2008. *Eur. J. Cancer.* 2010; 46 (4): 765–781. doi: 10.1016/j.ejca.2009.12.014
12. Shin H.R., Masuyer E., Ferlay J., Curado M.P. Asian Contributors to CI5 IX4. Cancer in Asia - Incidence rates based on data in cancer incidence in five continents IX (1998–2002). *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 2010; 11 (Suppl. 2): 11–16.

Сведения об авторах:

Наталья Владимировна Ворошина, ORCID: 0000-0003-0793-6867, e-mail: natalyavoroshina67@gmail.com
Андрей Владимирович Важенин, д.м.н., проф., академик РАН, ORCID: 0000-0002-7912-9039
Юрий Аркадьевич Тюков, д.м.н., проф., ORCID: 0000-0003-3894-2151

Information about the authors:

Nataliya V. Voroshina, doctor of medical sciences, ORCID: 0000-0003-0793-6867, e-mail: natalyavoroshina67@gmail.com
Andrey V. Vazhenin, doctor of medical sciences, professor, academician of RAS, ORCID: 0000-0002-7912-9039
Yuriy A. Tyukov, doctor of medical sciences, professor, ORCID: 0000-0003-3894-2151

Поступила в редакцию 27.12.2019
Принята к публикации 03.02.2020

Received 27.12.2019
Accepted 03.02.2020