

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК

ВЕСТНИК РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ МЕДИЦИНСКИХ НАУК

*Научно-теоретический журнал. Выходит один раз в два месяца. Основан в 1946 г.
DOI: 10.15690/vramn.v70i3*

Входит в Перечень ведущих научных журналов и изданий ВАК
Учредитель — Российская академия медицинских наук

Главный редактор И.И. ДЕДОВ

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Э.К. АЙЛАМАЗЯН, А.И. АРЧАКОВ, Л.И. АФТАНАС, А.А. БАРАНОВ, В.В. БЕРЕГОВЫХ (зам. гл. редактора),
Л.А. БОКЕРИЯ, Н.Н. ВОЛОДИН, Н.Ф. ГЕРАСИМЕНКО, Е.К. ГИНТЕР, П.В. ГЛЫБОЧКО, Е.З. ГОЛУХОВА,
В.В. ЗВЕРЕВ, Р.С. КАРПОВ, С.И. КОЛЕСНИКОВ, В.В. КУХАРЧУК, Г.А. МЕЛЬНИЧЕНКО, Н.А. МУХИН,
Е.Л. НАСОНОВ, Г.Г. ОНИЩЕНКО, В.И. ПЕТРОВ, В.И. ПОКРОВСКИЙ, В.П. ПУЗЫРЁВ, В.Г. САВЧЕНКО,
В.И. СЕРГИЕНКО, Г.А. СОФРОНОВ, В.И. СТАРОДУБОВ, Г.Т. СУХИХ, В.А. ТУТЕЛЬЯН (зам. гл. редактора),
И.Б. УШАКОВ, Р.М. ХАЙТОВ, Е.И. ЧАЗОВ, В.П. ЧЕХОНИН, В.И. ЧИССОВ, Е.В. ШЛЯХТО

НАУЧНЫЙ РЕДАКТОР: А.М. ГОЛУБЕВ

2015/том 70/№4

Журнал «Вестник Российской академии медицинских наук» зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций 16.09.1992 г. Регистрационный номер 01574.

Редакция не несет ответственности за содержание рекламных материалов.

Воспроизведение или использование другим способом любой части издания без согласия редакции является незаконным и влечет за собой ответственность, установленную действующим законодательством РФ

Тираж 1000 экз. Подписные индексы: в агентстве Роспечать — 71488, в агентстве «Пресса России» — 38814

Издательство «ПедиатрЪ»: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, 2/62, тел./факс: +7 (499) 132-30-43, <http://vestnikramn.spr-journal.ru>
e-mail: vestnikramn@nczd.ru

ООО «ХОМОПРИНТ»: 117623, Москва, ул. Типографская, д. 10

THE RUSSIAN ACADEMY OF MEDICAL SCIENCES

ANNALS OF THE RUSSIAN ACADEMY OF MEDICAL SCIENCES

*Published bimonthly. Founded in 1946.
DOI:10.15690/vramn.v70i3*

The Journal is in the List of the leading scientific journals and publications
of the Supreme Examination Board (VAK)
Founder — The Russian Academy Of Medical Sciences

Editor-in-chief I.I. Dedov

EDITORIAL BOARD:

E.K. AILAMAZYAN, A.I. ARCHAKOV, L.I. AFTANAS, A.A. BARANOV, V.V. BEREGOVYKH (deputy editors-in-chief),
L.A. BOKERIYA, N.N. VOLODIN, N.F. GERASIMENKO, E.K. GINTHER, P.V. GLYBOCHKO, L.Z. GOLUKHOVA,
V.V. ZVEREV, R.S. KARPOV, S.I. KOLESNIKOV, V.V. KUKHARCHUK, G.A. MELNICHENKO, N.A. MUKHIN,
E.L. NASONOV, I.I. ONISHCHENKO, V.I. PETROV, V.I. POKROVSKII, V.P. PUZYREV, V.G. SAVCHENKO,
V.I. SERGIENKO, G.A. SOFRONOV, V.I. STARODUBOV, G.T. SUKHIKH, V.A. TUTELYAN (deputy editors-in-chief),
I.B. USHAKOV, R.M. KHAITOV, E.I. CHAZOV, V.P. CHEKHONIN, V.I. CHISSOV, E.V. SHLYAKHTO

RESEARCH EDITOR: A.M. GOLUBEV

2015/ 70 (4)

Mass media registration certificate dated September, 16, 1992. Series № 01574 Federal service for surveillance over non-violation
of the legislation in the sphere of mass communications and protection of cultural heritage.

Editorial office takes no responsibility for the contents of advertising material.
No part of this issue may be reproduced without permission from the publisher. While reprinting publications one must make reference
to the journal « Annals Of The Russian Academy Of Medical Sciences »

Edition 1000 copies. Subscription indices are in the catalogue «Rospechat» 71488

Publisher «PEDIATR»: 2/62, Lomonosov avenue, Moscow, 119991, tel./fax: +7 (499) 132-30-43, <http://vestnikramn.spr-journal.ru>
e-mail: vestnikramn@nczd.ru

Printed in the printing office «KHOMOPRINT», 10, Tipografskaya st., Moscow, 117623

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ФИЗИОЛОГИИ

- В.А. Козлов, С.П. Сапожников, А.И. Шептухина, А.В. Голенков** 397
Параметаболизм как неспецифический модификатор супрамолекулярных взаимодействий в живых системах
- В.Н. Шабалин, Д.С. Уварова, И.С. Шатохина** 403
Особенности процесса биоминерализации мочи у долгожителей
- К. Цомпос, К. Панулис, К. Тутузас, Д. Зографос, А. Панапос** 408
Влияние антиоксидантного препарата U-74389G на концентрацию магния при гипоксии—реоксигенации у крыс

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ПЕДИАТРИИ

- Д.А. Морозов, С.А. Ключев** 413
Постспленэктомический гипоспленизм
- Л.А. Осипова, Л.М. Кузенкова, Л.С. Намазова-Баранова, А.К. Геворкян, Т.В. Подклетнова, Н.Д. Вашакмадзе** 419
Синдром Санфилиппо

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ МИКРОБИОЛОГИИ

- А.В. Колесников, А.К. Рябко, И.Г. Шемякин, А.В. Козыр** 428
Современные подходы к разработке специфической терапии особо опасных токсикоинфекций
- А.В. Чаплин, А.Г. Бржозовский, Т.В. Парфёнова, Л.И. Кафарская, Н.Н. Володин, А.Н. Шкопоров, Е.Н. Ильина, Б.А. Ефимов** 435
Изучение видовой разнообразия бактерий рода *Bifidobacterium* кишечной микрофлоры с использованием метода MALDI-TOF масс-спектрометрии

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ТРАВМАТОЛОГИИ

- Д.А. Попков, Н.А. Кононович, Э.Р. Мингазов, Р.Б. Шутков, Д. Барбье** 441
Интрамедуллярный эластичный трансфизеальный остеосинтез большеберцовой кости и его влияние на рост сегмента
- В.А. Щуров** 450
Нарушение продольного роста конечности и сократительная способность мышц

НАУЧНЫЕ СООБЩЕНИЯ

- С.А. Бойцов, И.В. Самородская, В.В. Третьяков, М.А. Ватолина** 456
Потерянные годы жизни в результате преждевременной смерти и их взаимосвязь с климатическими и социально-экономическими показателями регионов
- С.А. Борзенок, Д.С. Афанасьева, М.Б. Гущина** 464
Жировая ткань глазницы: амортизационная подушка, или *Terra incognita* в офтальмологии

PHYSIOLOGY: CURRENT ISSUES

- V.A. Kozlov, S.P. Sapozhnikov, A.I. Sheptuhina, A.V. Golenkov**
Parametabolism as Non-Specific Modifier of Supramolecular Interactions in Living Systems
- V.N. Shabalin, D.S. Uvarova, I.S. Shatokhina**
Features of Urine Biomineralization in Long-Livers
- C. Tsompos, C. Panoulis, K. Toutouzas, G. Zografos, A. Papanaliois**
The Effect of the Antioxidant Drug U-74389G on Magnesium Levels During Hypoxia—Reoxygenation Injury in Rats

PEDIATRICS: CURRENT ISSUES

- D.A. Morozov, S.A. Klyuev**
Hyposplenism After Splenectomy
- L.A. Osipova, L.M. Kuzenkova, L.S. Namazova-Baranova, A.K. Gevorkyan, T.V. Podkletnova, N.D. Vashakmadze**
Sanfilippo Syndrome

MICROBIOLOGY: CURRENT ISSUES

- A.V. Kolesnikov, A.K. Ryabko, I.G. Shemyakin, A.V. Kozyr**
Development of Specific Therapy to Category A Toxic Infections
- A.V. Chaplin, A.G. Brzhozovskii, T.V. Parfenova, L.I. Kafarskaia, N.N. Volodin, A.N. Shkoporov, E.N. Ilina, B.A. Efimov**
Species Diversity of *Bifidobacteria* in the Intestinal Microbiota Studied Using MALDI-TOF Mass-Spectrometry

TRAUMATOLOGY: CURRENT ISSUES

- D.A. Popkov, N.A. Kononovich, E.R. Mingazov, R.B. Shutov, D. Barbier**
Intramedullary Elastic Transphyseal Tibial Osteosynthesis and Its Effect on Segmental Growth
- V.A. Schurov**
Disorder of the Longitudinal Limb Growth and Muscular Contractility

SCIENTIFIC REPORTS

- S.A. Boytsov, I.V. Samorodskaya, V.V. Tretyakov, M.A. Vatoлина**
Years of Life Lost Due to Premature Death and Their Relationship with Climate and Socio-Economic Performance of Regions
- S.A. Borzenok, D.S. Afanasyeva, M.B. Gushchina**
Orbital Adipose Tissue: Just a Fat Pad or *Terra Incognita* in Ophthalmology

- Т.П. Ветлугина, В.Б. Никитина, С.А. Сергеева, М.М. Аксенов, О.А. Лобачёва, Д.Н. Савочкина, Е.М. Епанчинцева, Н.А. Бохан* Влияние адамантил-бромфениламина на параметры иммунитета и симптомы астении у пациентов с непсихотическими расстройствами **468**
- T.P. Vetlugina, V.B. Nikitina, S.A. Sergeeva, M.M. Axenov, O.A. Lobacheva, D.N. Savochkina, E.M. Epanchintseva, N.A. Bokhan* Influence of Adamantylbromphenylamine on Parameters of Immunity and Symptoms of Asthenia in Patients with Non-Psychotic Mental Disorders
- А.В. Исаева, А.П. Зима, И.П. Шабалова, Н.В. Рязанцева, О.А. Васильева, К.Т. Касоян, Т.В. Саприна, В.Н. Латыпова, И.С. Берёзкина, В.В. Новицкий* β -Катенин: структура, функции и роль в опухолевой трансформации эпителиальных клеток **475**
- A.V. Isaeva, A.P. Zima, I.P. Shabalova, N.V. Ryazantseva, O.A. Vasil'eva, K.T. Kasoayn, T.V. Saprina, V.N. Latypova, I.S. Berezkina, V.V. Novitskii* β -Catenin: Structure, Function and Role in Malignant Transformation of Epithelial Cells
- Н.В. Низяева, Н.Е. Кан, В.Л. Тютюнник, Н.А. Ломова, М.Н. Наговицына, К.Н. Прозоровская, А.И. Щёголев* МикроРНК как важные диагностические предвестники развития акушерской патологии **484**
- N.V. Nizyaeva, N.E. Kan, V.L. Tyutyunnik, N.A. Lomova, M.N. Nagovitsyna, K.N. Prozorovskaya, A.I. Shchyogolev* MicroRNAs As An Important Precursors of Diagnostic Obstetric Pathology
- В.Н. Сахаров, П.Ф. Литвицкий* Алгоритм оценки процесса активации макрофагов с целью определения прогноза течения и эффективности лечения заболеваний человека **493**
- V.N. Sakharov, P.F. Litvitskiy* Algorithm of Macrophage Activation Assessment for Forecasting and Evaluation of Treatment Effectiveness of Human Diseases

396

ЮБИЛЕИ

Василий Геннадьевич Акимкин
Олег Иванович Киселёв

ANNIVERSARIES, CONGRATULATIONS

499 *Vasilii Gennad'evich Akimkin*
501 *Oleg Ivanovich Kiselev*

ПАМЯТИ КОЛЛЕГИ

Анастасия Павловна Шицкова

TO THE MEMORY OF

502 *Anastasiya Pavlovna Shitskova*

DOI: 10.15690/vramn.v70.i4.1403

В.А. Козлов, С.П. Сапожников, А.И. Шептухина, А.В. Голенков

Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова, Чебоксары, Российская Федерация

Параметаболизм как неспецифический модификатор супрамолекулярных взаимодействий в живых системах

Относительно недавно стало известно, что помимо ферментативных (с участием энзимов и/или рибозимов) в живых организмах протекает большое число обычных химических реакций без участия биологических катализаторов. Эти реакции отличает низкая скорость и, как правило, необратимость. Так, к примеру, при сахарном диабете наблюдаются гликирование и фруктозилирование белков, приводящие к их посттрансляционной модификации с образованием низко- или афункционального белка, плохо подвергающегося ферментативному протеолизу и по этой причине накапливающегося в организме. Кроме того, известно о таких процессах, как неферментативное карбоамилирование, пиридоксилрование и тиаминирование белков. Существуют достаточные основания считать, что алкогольная интоксикация также реализуется за счет параметаболитического образования вторичных метаболитов ацетальдегида. В то же время в связи с успехами развития супрамолекулярной химии становится очевидным, что в биологических объектах существует еще одна большая группа параметаболитических реакций, обусловленная образованием супрамолекулярных комплексов. Очевидно, что известные параметаболитические взаимодействия могут модифицировать образование супрамолекулярных комплексов в живых объектах. Эти процессы представляют значительный интерес для фундаментальной биологии, а также для фундаментальной и практической медицины, однако в связи с отсутствием достаточной осведомленности широкого круга исследователей остаются неизученными.

Ключевые слова: параметаболизм, ацетальдегид, амилоид, кетокислоты, мочевины.

(Для цитирования: Козлов В.А., Сапожников С.П., Шептухина А.И., Голенков А.В. Параметаболизм как неспецифический модификатор супрамолекулярных взаимодействий в живых системах. *Вестник РАМН.* 2015; 70 (4): 397–402. Doi: 10.15690/vramn.v70.i4.1403)

397

Введение

Параметаболизм — совокупность не катализируемых ферментами химических реакций, протекающих в живом организме. Его можно рассматривать как часть тех химических процессов, что протекали на планете в период абиогенного формирования сложных органических молекул. С другой стороны, в настоящее время стало понятно, что между обычными в нашем восприятии химическими взаимодействиями органических веществ вне живой клетки и клеточным гиперцикловым метаболизмом существовала промежуточная ступень, возможная только в условиях сосуществования «простых» и «очень сложных» органических молекул, — образование супрамолекуляр-

ных связей. Другими словами, слабое (нековалентное) химическое взаимодействие двух и более молекул обеспечено трехмерным строением сложных молекул, имеющих электростатические «карманы» (полости), образуемые их внешней электронной оболочкой, в которых размещаются малые органические молекулы. Включение малых молекул в полость крупных осуществляется в результате относительной пространственной и электростатической конгруэнтности взаимодействующих частиц.

Термин «супрамолекулярная химия» введен французским химиком Жаном Мари Леном в 1978 г., ставшим впоследствии нобелевским лауреатом за разработку этого научного направления [1]. Супрамолекулярные взаимодействия в живых системах — это и обеспечение инфор-

V.A. Kozlov, S.P. Sapozhnikov, A.I. Sheptuhina, A.V. Golenkov

I.N. Ul'ianov Chuvash State University, Cheboksary, Russian Federation

Parametabolism as Non-Specific Modifier of Supramolecular Interactions in Living Systems

As it became known recently, in addition to the enzyme (enzymes and/or ribozymes) in living organisms occur a large number of ordinary chemical reactions without the participation of biological catalysts. These reactions are distinguished by low speed and, as a rule, the irreversibility. For example, along with diabetes mellitus, glycation and fructosylation of proteins are observed resulted in posttranslational modification with the low- or nonfunctioning protein formation which is poorly exposed to enzymatic proteolysis and therefore accumulates in the body. In addition, the known processes such as the nonenzymatic carbomylation, pyridoxylation and thiamination proteins. There is a reasonable basis to believe that alcoholic injury also realized through parametabolic secondary metabolites synthesis such as acetaldehyde. At the same time, the progress in supramolecular chemistry proves that in biological objects there is another large group of parametabolic reactions caused by the formation of supramolecular complexes. Obviously, known parameterizes interactions can modify the formation of supramolecular complexes in living objects. These processes are of considerable interest for fundamental biology and fundamental and practical medicine, but they remain unexplored due to a lack of awareness of a wide range of researchers.

Key words: parametabolism, acetaldehyde, amyloid, ketoacid, urea.

(For citation: Kozlov V.A., Sapozhnikov S.P., Sheptuhina A.I., Golenkov A.V. Parametabolism as Non-Specific Modifier of Supramolecular Interactions in Living Systems. *Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2015; 70 (4): 397–402. Doi: 10.15690/vramn.v70.i4.1403)

мационного взаимодействия типа лиганд–рецептор, и образование временной связи субстрат–энзим, и формирование основ жизнедеятельности клетки: субстратное и кислородное окисление, а также редупликация, транскрипция и трансляция, образование клеточных мембран и встраивание в них различных функциональных супрамолекулярных образований. Кроме того, очевидно, что параметаболические реакции, осуществляя посттрансляционную модификацию белков, регуляторных РНК, а также модифицируя субстраты, могут значительно нарушать ферментативный метаболизм, влияя на образование активных трехмерных конфигураций различных регуляторных молекул, энзимов и рибозимов, менять фолдинг белка (в т.ч. уже прошедшего посттрансляционную модификацию), воздействовать на способы трехмерной укладки нитей ДНК и их удаленное взаимодействие [2] и вызывать образование неспецифичных для каких-либо метаболических путей промежуточных метаболитов и конечных продуктов. В то же время некоторые параметаболические реакции, например разрыв кольца В холестерола при облучении ультрафиолетом или образование Шиффова основания в процессе реакции между опсином и ретиналом, являются необходимой основой жизнедеятельности.

398

Наиболее способны к параметаболизму соединения, имеющие альдегидную либо аналогичную ей кетогруппу. По этой причине любые би- и полифункциональные соединения, например такие, как трикарбоновые кислоты, мочевины, альдегиды, а также кетокислоты и аминокислоты, кетоны, моно- и дисахариды в различных сочетаниях, могут вступать в реакции конъюгации между собой и соединениями с аминным или амидным азотом в мягких условиях (при температуре тела теплокровных животных и рН среды, близкой к нейтральной) без участия ферментов с образованием новых соединений, а также с белком, нуклеиновыми кислотами, вторичными метаболитами и ксенобиотиками. Особняком держатся тиоловые соединения, которые так же высокореакционноспособны: и кислород, и сера относятся к основной подгруппе шестой группы элементов, но способны и к парабихимическим взаимодействиям.

Способность таких молекул прямо взаимодействовать с РНК в настоящее время приобретает особый смысл, поскольку установлено, что существует значительное число малых, ранее неизвестных РНК, как являющихся высокоактивными регуляторами пролиферативных процессов, так и участвующих в многопетлевых регуляторных процессах, поддерживающих синхронизм метаболических процессов. Неферментативная посттранскрипционная модификация малых РНК может приводить к значительному изменению статуса клеточных регуляторных систем, в т.ч. в настоящее время еще не известных.

Согласно Ж.М. Лёну, супрамолекулярная химия описывает 2 области взаимодействий [3]:

- химию супрамолекул — образование межмолекулярного взаимодействия между несколькими (чаще двумя) молекулами (например, рецептор и его лиганд);
- химию спонтанной самоорганизации неопределенного числа молекул, образующих новую специфическую фазу с собственной, характерной микроскопической структурой, собственными физико-химическими характеристиками, отличными от свойств единичных молекул, которые участвуют в процессе самоорганизации.

Обе области супрамолекулярных взаимодействий широко представлены в живых системах [3]. Поскольку образование супрамолекул и их конформационные изме-

нения происходят без участия ферментов, эти процессы также могут быть отнесены к области параметаболизма. Тем не менее, ввиду того, что супрамолекулярная химия как самостоятельная область знания сформировалась относительно недавно, мышление категориями этой науки у специалистов в области биологии и медицины в целом отсутствует.

Известные параметаболические процессы

В настоящее время изучено несколько параметаболических реакций: карбамоилирование белков, наблюдающееся у больных с хронической почечной недостаточностью, а также гликирование и фруктозилирование у больных сахарным диабетом и пиридоксилирование и ацилирование белков с участием ацетальдегида.

Карбамоилирование белков

Высокие концентрации мочевины, наблюдаемые у больных с хронической почечной недостаточностью, сопровождаются внеклеточным деаминированием мочевины с образованием изоциановой кислоты, карбамоилирующей остатки лизина в белках, в т.ч. в гемоглобине. Тяжесть уремии при хронической почечной недостаточности хорошо коррелирует с концентрацией карбамоилированного гемоглобина в крови больных. Карбамоилированный гемоглобин имеет меньшее сродство к кислороду, что вызывает тканевую гипоксию. Интересно, что карбамоилирование гемоглобина у больных сахарным диабетом находится в конкурентных отношениях с его гликированием [4]. Карбамоилирование при сахарном диабете является одной из причин диабетической катаракты. В то же время внутриклеточное образование карбамоилфосфата — это физиологический этап синтеза мочевины.

Гликирование белков

Процесс неферментативного гликирования и фруктозилирования белков наблюдается у больных сахарным диабетом. Эта неферментативная реакция служит причиной появления аппетитной корочки на жареном мясе или при выпекании хлеба. Результат этого исследования был отражен в докторской диссертации Л.К. Майяра (Louis Camille Maillard) [5]. Химизм образования продуктов Л.К. Майяра в 1925 г. был изучен М. Амадори [6]. Эти процессы в настоящее время известны как внутримолекулярные перегруппировки Амадори. Во время реакции в моно- и дисахаридах в результате сильного нагревания происходит раскрытие пиранозного цикла N-гликозида и таутомеризация имина в 2-гидроксиенамин, который, в свою очередь, таутомеризуется в 2-оксоамин, образующий с белками продукты Майяра, окрашенные в коричневый цвет. В результате этих процессов при втором углеродном атоме образуется альдегидная группа, которая затем протонируется с образованием двойной связи между вторым и первым углеродным атомом. Такие соединения способны вступать с белками в реакции с образованием оснований Шиффа.

При образовании продуктов Майяра в технологических процессах фруктоза в 100–200 раз активнее, чем глюкоза. Как было установлено в 80-х гг. XX в., эти реакции происходят и при более низких температурах в живых организмах, причем чем выше концентрация сахара в крови, тем интенсивнее идут процессы гликирования [7, 8]. Явление аутокатализа, по-видимому, обусловлено тем, что вторичные продукты Амадори намного более реакци-

онноспособны, чем сахара, из которых они образовались, и действуют как распространители реакций неферментативного гликирования [9]. Это делает их поведение в биологических системах схожим с таковым прионовых белков и амилоида. Гликирование как патогенетический процесс происходит и при заболеваниях, традиционно связываемых с образованием β-амилоида (болезнь Альцгеймера) [10].

Конечные продукты глубокого гликозилирования реакции Майяра труднорастворимы, устойчивы к протеолитическому расщеплению, химически активны и способны образовывать внутримолекулярные сшивки с белками (особенно коллагеном) и химически инактивировать окись азота. Наряду с гликированием белка происходит и гликирование ДНК [11]. Свойство конечных продуктов глубокого гликозилирования связывать оксид азота фактически означает, что эти продукты ингибируют макрофагальную активность в отношении бактерий, а также нарушают процессы вазодилатации, обусловленные высвобождением оксида азота эндотелием сосудов. Очевидно, что образование конечных продуктов глубокого гликозилирования является одним из механизмов поражения микроциркуляторных сосудов у больных сахарным диабетом с последующим повреждением сетчатки глаза или почек, или развитием диабетической стопы [10].

Обнаружение процесса гликирования гемоглобина позволило разработать метод диагностики, оценивающий комплаентность больного сахарным диабетом с помощью лабораторного исследования концентрации гликированного гемоглобина (HbA1c) в крови [11]. Выяснение закономерностей этого процесса способствовало обнаружению новых, ранее неизвестных механизмов патогенеза при сахарном диабете. Гликированный либо фруктозилированный белок имеет меньшую функциональность, чем нативный. Кроме того, такой белок плохо подвергается протеолизу и накапливается в клетках с последующим развитием белковой дистрофии. Считают, что накопление гликированных белков — это одна из причин старения. Например, установлено наличие отрицательной корреляции между скоростью гликирования коллагена и продолжительностью жизни разных видов животных, при этом корреляции с содержанием глюкозы в их крови не наблюдалось [12].

Процессы, происходящие при гликировании белков и приводящие к ускоренному старению, можно пояснить схематически (рис.).

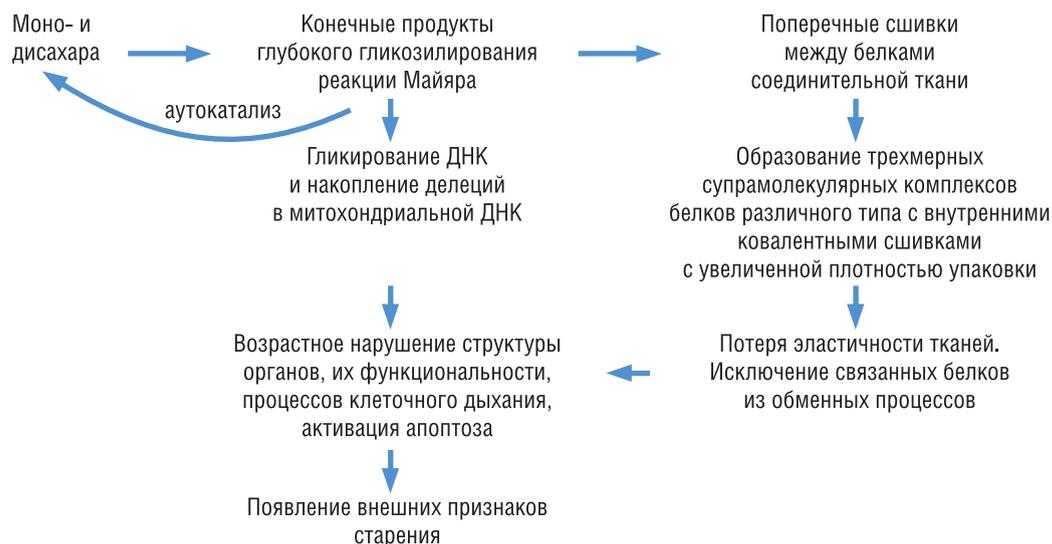


Рис. Последовательность параметаболических процессов, приводящая к ускоренному старению.

Пиридокселирование белков

Ввиду присутствия альдегидной группы пиридоксин также способен к параметаболизму. Несмотря на то, что пиридокселирование белков в печени, как предполагается, может оказаться причиной первичного рака печени, этот процесс не является предметом медицинского интереса. Искусственно (технологически) пиридокселированный гемоглобин используют для получения свободного гемоглобина с целью дальнейшего применения в качестве переносчика кислорода в кровозаменителях, не повреждающих почки [13].

Ацилирование белков

Эти реакции протекают в результате взаимодействия с белками ацетальдегида, образующегося в организме из этанола при его употреблении в режиме «крепко, быстро, много». Ацилированный по амидной группе аддукт лизина, образующийся в результате параметаболизма с ацетальдегидом и затем высвобождающийся в плазму в результате протеолиза ацилированного белка, используют как маркер алкогольных эксцессов давностью до 10 сут либо в качестве маркера хронического алкоголизма [14].

Между тем имеется ряд свидетельств в пользу того, что употребление алкоголя в виде красного вина при длительном потреблении профилактирует развитие болезни Альцгеймера либо несколько уменьшает выраженность симптомов при клинически выраженной патологии [15, 16]. Данное свойство красного вина объясняют содержащимся в нем ресвератролом — регулятором системы сиртуинов [15, 16]. Ранее мы уже сообщали, что, судя по аминокислотному составу амилоида, он должен подвергаться в т.ч. и парабиохимической трансформации [17]. Интенсивность таких процессов с участием полифенолов красного вина теоретически может усиливаться в присутствии ацетальдегида [18]. Кроме того, мы считаем, что ацетальдегид как высокореакционное вещество способен вступать в неферментативные реакции практически с любыми естественными метаболитами, в т.ч. с регуляторными, белками, нуклеиновыми кислотами, осуществляя их дополнительное неферментативное ацилирование и тем самым извлекая из путей регуляции, нарушать метаболизм эссенциальных химических элементов [19]. В то же время имеются сомнения относительно эффективности ресвератрола как средства, увеличивающего продолжительность жизни [20]. Кроме того, не выяснена роль

этилового алкоголя и ацетальдегида как его метаболита в процессах формирования амилоида.

Неизученные параметаболические реакции

Ранее нами было обнаружено, что кетоглутаровая кислота в мягких условиях вступает с мочевиной в реакцию конъюгации с образованием дегидрогидантоин-5-пропионовой кислоты [21]. Исходя из данных литературы и собственных результатов, возможно заключить, что этот продукт может быть частью системы удержания воды в организме в целом либо отдельных регионов организма [21]. Согласно данным С. Дэгли и Д. Никольсона, близкий по структуре продукт — гидантоин-5-пропионовая кислота — образуется у людей и крыс в процессе катаболизма гистидина [22]. Имеется ли у людей дегидрогидантоин-5-пропионовая кислота как результат параметаболических процессов, в настоящее время неизвестно.

Мочевина и кетоглутаровая кислота как бифункциональные соединения имеют между функциональными группами в своих структурах идеальные для взаимодействия расстояния. Реакции, протекающие между би- и полифункциональными соединениями, имеющими такое трехмерное взаиморасположение реакционноспособных групп, можно назвать пазл-взаимодействием.

400

Амилоид и прионовые белки как параметаболическая проблема

Трехмерная структура амилоидных и прионовых белков служит классическим примером неферментативной посттрансляционной модификации, заключающейся в том, что под воздействием какой-то внешней причины, в т.ч. того же самого белка, уже прошедшего патологическую трансформацию, происходит самостоятельная переукладка белка в патологическую трехмерную конформацию, меняющую функциональность белка и его способность быть разрушенным. Такой белок постепенно накапливается в организме и вызывает гибель клеток, которые оказались в его окружении, т.е. амилоидные и прионовые болезни являются формами белковых дистрофий. В связи со старением человеческой популяции и увеличением числа больных, имеющих хронические воспалительные заболевания, а также числа людей с различными наследственными формами амилоидоза проблема врожденного, приобретенного и возрастного нарушения белкового обмена становится все более актуальной. Амилоидоз сердца обнаруживают у 2,3% умерших в возрасте до 50 лет, в возрастной группе 50–70 лет его выявляют у 30%, в группе 70–90 лет — уже у 41%, а у лиц, умерших в возрасте старше 90 лет, амилоидоз обнаруживали в 71–90% случаев [23]. Таким образом, можно считать доказанным тот факт, что причиной смерти лиц, проживших более 100 лет, во всех задокументированных случаях вскрытия являлся амилоидоз миокарда. В данной ситуации источником амилоида являлся тиреоглобулин [24].

Установлено, что заболевания, патогенез которых ранее никак не связывали с амилоидогенезом, также реализуются через локальное отложение этого белка в тканях. К примеру, причиной первичной открытоугольной глаукомы является отложение β -амилоида и τ -белка не только в ганглионарных волокнах сетчатки и аксонах зрительного нерва, но и в проводящих путях зрительного анализатора вплоть до коры головного мозга [25]. Через накопление амилоидного белка реализуется патогенез и ряда других заболеваний: бокового амиотрофического склероза, миозита с включениями [26], деменции с тельцами Леви [27],

синдромов Дауна [28] и Альцгеймера [29] и еще порядка 30 различных болезней [30]. Помимо прочего, установлено, что панкреатический гормон-антагонист инсулина амилин при образовании в избыточных количествах переходит в состояние амилоидного белка и откладывается в виде амилоидных депозитов в инсулярных островках, участвуя таким образом в патогенезе сахарного диабета 2-го типа [31]. В связи с вышесказанным, проблема амилоидогенеза выглядит гораздо шире, чем если учитывать только вторичный амилоидоз и известные наследственные его формы.

Способность амилоидных белков к преобразованию нормального белка очень напоминает поведение прионов. Нобелевский лауреат S.B. Prusiner, впервые изучивший роль прионовых белков в развитии губчатых энцефалопатий и предложивший термин «прион» (от англ. *protein* — белок и *infection* — инфекция), в эксперименте вызвал образование амилоидного белка у мышей путем инъекций амилоида, полученного от пациентов с болезнью Альцгеймера [32]. J.C. Watts и соавт. считают, что это свойство объединяет прионовые и амилоидные белки в один класс. Такого же мнения придерживается А.Ю. Чернов, работающий на модели амилоидных и прионовых белков дрожжей [32, 33], и некоторые другие авторы [34].

В связи с перечисленным выше исследование роли парабиохимических процессов, в т.ч. с участием ацетальдегида, в различных патологических процессах также является актуальной научной проблемой, решение которой позволит сформировать новый научный фронт с привлечением значительного числа исследователей для изучения роли неферментативных химических процессов в поддержании жизнедеятельности. Возможно, это позволит получить новые сведения о механизмах, приведших к зарождению жизни.

Таким образом, неферментативные реакции конъюгации бифункциональных биогенных веществ между собой и ксенобиотиками в условиях живого организма, их роль в образовании вторичных метаболитов в целом не изучены. Более того, сама научная проблема изучения парабиохимических реакций, включая токсикологический аспект, не сформулирована.

При исследовании параметаболизма ученые сталкиваются с рядом трудностей. Во-первых, тема не является трендовой, поскольку установление факта протекания таких реакций, на первый взгляд, не может быть научно перспективным в силу ряда причин:

- это, как правило, известные, не представляющие фундаментального интереса реакции;
- реакции не технологичны, т.е. их невозможно быстро коммерциализировать;
- продукты реакций обычно быстро извлекаются из крови в ткани, где прочно связываются с белком либо другими биологическими полимерами и становятся недоступными для исследования.

Во-вторых, поскольку параметаболизм генуинно не регулируемый процесс, его сложно подвергнуть медикаментозному воздействию: большинство известных лекарственных средств являются либо регуляторами ферментативной активности, либо непосредственно ферментами. Однако последнее обстоятельство как раз и предполагает создание нового поколения лекарственных препаратов с принципиально другими механизмами действия, а следовательно, это все-таки создает возможность коммерциализации данного научного направления.

Между тем, парабиохимические реакции необратимы (в отличие от ферментативных, которые отбирались при-

родой по принципу возможности организации множества отдельных реакций в многопетлевые гиперциклы):

- они извлекают из ферментативных метаболических путей часть субстратов, нарушая синхронизм метаболизма;
- приводят к образованию вторичных (часто неуставленных) метаболитов, как постоянных, так и транзиторных, обусловленных, например, приемом пищи, которые могут изменять регуляторные процессы;
- как минимум могут подвергаться необычной (нефизиологичной) посттрансляционной модификации белки, меняя их функциональность и включенность в последующий ферментативный метаболизм;
- взаимодействуют с биологическими полимерами небелковой природы аналогично взаимодействию с белками, меняют их функциональность.

В целом эти процессы способны приводить к необратимому изменению структуры тканей и, как следствие, органов, соответственно, нарушая трофику клеток. Поскольку эти процессы протекают относительно медленно, но неизбежно, неудивительно, что параметаболизм считается одним из механизмов старения [10]. Более того, для белков установлена способность самостоятельно переукладываться в патологическую конформацию (дисфолдинг): это процесс, как правило, необратимый и приводящий к тяжелым смертельным заболеваниям (прионовые болезни). Дисфолдинг — параметаболический процесс, поскольку протекает без участия ферментов, но в то же время является аутокаталитическим, т.е. образовавшаяся молекула с патологической конформацией переукладывает белки с нормальной конформации

ей в патологическую. Небелковые полимеры, такие как различные гетерополисахариды, так же, как и белки, способны к образованию вторичной и третичной укладки, поскольку являются такой же углеродной цепью, но с большим числом степеней свободы, чем у белка, т.к. не имеют периодически расположенной пептидной связи. Возможно, что у них также могут иметься физиологические и патологические трехмерные конфигурации, но данные явления совсем не изучены.

Заключение

Установление роли параметаболических реакций в различных регуляторных физиологических и патологических процессах, механизмах старения организма, их взаимодействие с ферментативными системами, роль в поддержании гомеостаза и удалении конечных продуктов обмена и ксенобиотиков является актуальной научной проблемой.

Источник финансирования

Работа выполнена при поддержке Фонда содействия развитию малых форм предприятий.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ЛИТЕРАТУРА

1. Lehn J.-M. Supramolecular Chemistry-Scope and Perspectives: Molecules, Supermolecules, and Molecular Devices (Nobel Lecture). *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* 1990; 29 (11): 1304–1319. Doi:10.1002/anie.199013041.
2. Pennisi E. Inching toward the 3D genome. *Science.* 2015; 347 (6217): 10. Doi: 10.1126/science.347.6217.10.
3. Lehn J.-M. Supramolecular chemistry: Concepts and perspectives. *VCH: Weinheim.* 1995. P 1–6.
4. Hammouda A.M., Mady G.E. Correction formula for carbamylated haemoglobin in diabetic uraemic patients. *Ann. Clin. Biochem.* 2001; 38 (Pt. 2): 115–119.
5. Maillard L.C. Genese des matieres proteiques et des matieres humiques: action de la glycérine et des sucres sur les acides amines. *Paris: Masson.* 1913. 220 p.
6. Wrodnigg T.M., Eder B. The Amadori and Heyns Rearrangements: Landmarks in the History of Carbohydrate Chemistry or Unrecognized Synthetic Opportunities? *Topics Curr. Chem.* 2001; 215: 115–152.
7. Ahmed N., Babaei-Jadidi R., Howell S.K., Beisswenger P.J., Thornalley P.J. Degradation products of proteins damaged by glycation, oxidation and nitration in clinical type I diabetes. *Diabetologia.* 2005; 48: 1590–1603.
8. Babaei-Jadidi R., Karachalias N., Ahmed N., Battah S., Thornalley P.J. Prevention of incipient diabetic nephropathy by high dose thiamine and benfotiamine. *Diabetes.* 2003; 52: 2110–2120.
9. Ansari N.A., Rashid H. The Nonenzymatic glycation of proteins: from diabetes to cancer. *Biomed. Chem. (Russia).* 2010; 56 (2): 168–178.
10. The scientific basis for healthy aging and antiaging processes. A. Sharman, J. Jumadilovper (eds.). *New York: Mary Ann Liebert, Inc.* 2011. 184 p.
11. Koenig B.S., Peterson C.M., Kilo C., Cerami A., Williamson J.R. Hemoglobin A1C as an indicator of the degree of glucose intolerance in diabetes. *Diabetes.* 1976; 25: 230–232.
12. Sell D.R., Lane M.A., Johnson W.A., Masoro E.J., Mock O.B., Reiser K.M., Fogarty J.F., Cutler R.G., Ingram D.K., Roth G.S., Monnier V.M. Longevity and the genetic determination of collagen glycoxidation kinetics in mammalian senescence. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 1996; 93: 485–490.
13. Pat. No.: 2203087 USA, IPC A61K C07K Method and device for obtaining cell free substitute for red blood cells. R.E. Dewoskin, M.D. Doubleday (eds.). Applicant and patentee of the Northfield Laboratories. *NY Appl.* 27.03.1997, publ. 20.08.2000.
14. Mabuchi R., Kurita A., Miyoshi N., Yokoyama A., Furuta T., Goda T., Suwa Y., Kan T., Amagai T., Ohshima H. Analysis of N(e) ethyl lysine in human plasma proteins by gas chromatography negative ion chemical ionization/mass spectrometry as a biomarker for exposure to acetaldehyde and alcohol. *Alcohol Clin. Exp. Res.* 2012; 36 (6): 1013–1020.
15. Jang M.H., Piao X.L., Kim H.Y., Cho E.J., Baek S.H., Kwon S.W., Park J.H. Resveratrol oligomers from *Vitis amurensis* attenuate beta amyloid induced oxidative stress in PC12 cells. *Biol. Pharm. Bull.* 2007; 30: 1130–1134.
16. Savaskan E., Olivieri G., Meier F., Seifritz E., Wirz-Justice A., Muller-Spahn F. Red wine ingredient resveratrol protects from beta amyloid neurotoxicity. *Gerontology.* 2003; 49: 380–383.
17. Kozlov V.A., Sapozhnikov S.P., Golenkov A.C., Sheptuhina A.I. The comparative analysis of various amyloid models. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2015. №1. С. 5–11.
18. Kozlov V.A., Golenkov A.C., Sapozhnikov S.P. Minor impurities consumption of alcohol as the cause of death of the population of Russia. *Narcology (Russia).* 2013; 9: 66–70.

19. Yakovleva L.M., Sapozhnikov S.P. Structural changes of the small intestine and absorption of chemical elements in experimental alcoholic intoxication. *Narcology* (Russia). 2012; 11: 9 (129): 44–47.
20. Semba R.D., Ferrucci L., Bartali B., Uрпи-Sarda M., Zamora-Ros R., Sun K., Cherubini A., Bandinelli S., Andres-Lacueva C. Resveratrol levels and all cause mortality in older community dwelling adults. *JAMA Intern. Med.* 2014; 174 (7): 1077–1084.
21. Kozlov V.A., Novikov K.V., Mokeeva T.G., Kuz'mina S.A. Cyclocondensation of oxoacids with urea. *Russian J. General Chem.* 2013; 83 (7): 1467–1468.
22. Degli S., Nicholson D. An Introduction to *Metabolic Pathways*. New York. 1970. 310 p.
23. Kozlovskaya L.C., Rameev V.V., Sarkisova I.A. Amyloidosis in the elderly. *Clin. Med.: Scientific-Pract. J.* 2005; 83 (6): 12–20.
24. Leslie M. Searching for the secrets of the super old. *Science*. 2008; 321: 1764–1765.
25. Chiu K., So K.F., Chuen-Chung Ch. R. Progressive Neurodegeneration of Retina in Alzheimer's disease Are β -Amyloid Peptide and Tau New Pathological Factors in Glaucoma? *Glaucoma. Basic & Clin. Aspects*. 2013. URL: <http://www.intechopen.com/books/glaucoma-basic-and-clinical-aspects/progressive-neurodegeneration-of-retina-in-alzheimer-s-disease-are-amyloid-peptide-and-tau-new-patho> (available: 10.04.2015).
26. Vattemi G., Nogalska A., King Engel W., D'Agostino C., Checler F., Askanas V. Amyloid beta 42 is preferentially accumulated in muscle fibers of patients with sporadic inclusion body myositis. *Acta Neuropathol.* 2009; 117 (5): 569–574.
27. Gomperts S.N., Rentz D.M., Moran E., Becker J.A., Locascio J.J., Klunk W.E., Mathis C.A., Elmaleh D.R., Shoup T., Fischman A.J., Hyman B.T., Growdon J.H., Johnson K.A. Imaging amyloid deposition in Lewy body diseases. *Neurology*. 2008; 71 (12): 903–910.
28. Head E., Lott I.T. Down syndrome and beta-amyloid deposition. *Curr. Opin. Neurol.* 2004; 17 (2): 95–100.
29. Irvine G.B., El-Agnaf O.M., Shankar G.M., Walsh D.M. Protein aggregation in the brain: the molecular basis for Alzheimer's and Parkinson's diseases. *Mol. Med.* 2008; 14: 451–464.
30. Luheshi L.V., Dobson C.M. Bridging the gap: from protein misfolding to protein misfolding diseases. *FEBS Lett.* 2009; 583: 2581–2586.
31. Nakazato M., Matsukura S. New Type of Amyloidosis b) Islet Amyloid Polypeptide (IAPP/Amylin) in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Int. Med.* 1993; 32 (12): 928–929.
32. Watts J.C., Condello C., Stöhr J., Oehler A., Lee J., De Armond S.J., Lannfelt L., Ingelsson M., Giles K., Prusiner S.B. Serial propagation of distinct strains of A β prions from Alzheimer's disease patients. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2014; 111 (28): 10323–10328.
33. Chernoff Y.O. Protein heredity and evolution. In: Charles Darwin and modern biology. E.I. Kolchinskii, A.A. Fedotova (eds.). *St. Petersburg: Nestor-Istoriia*. 2010. P. 76–94.
34. Kim J.I., Cali I., Surewicz K., Kong Q., Raymond G.J., Atarashi R., Race B., Qing L., Gambetti P., Caughey B., Surewicz W.K. Mammalian prions generated from bacterially expressed prion protein in the absence of any mammalian cofactors. *J. Biol. Chem.* 2010; 285: 14083–14087.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Козлов Вадим Авенирович, доктор биологических наук, кандидат медицинских наук, профессор кафедры фармакологии, клинической фармакологии и биохимии ЧувГУ им. И.Н. Ульянова

Адрес: 428015, Чувашская Республика, Чебоксары, Московский пр-т, д. 45, **тел.:** +7 (8352) 45-26-73,

e-mail: rooh12@yandex.ru

Сапожников Сергей Павлович, доктор медицинских наук, заведующий кафедрой медицинской биологии с курсом микробиологии и вирусологии ЧувГУ им. И.Н. Ульянова

Адрес: 428015, Чувашская Республика, Чебоксары, Московский пр-т, д. 45, **тел.:** +7 (8352) 45-26-73,

e-mail: adaptagon@mail.ru

Шептухина Алена Игоревна, студентка 5-го курса медицинского факультета ЧувГУ им. И.Н. Ульянова

Адрес: 428015, Чувашская Республика, Чебоксары, Московский пр-т, д. 45, **тел.:** +7 (8352) 45-26-73,

e-mail: priffetik@bk.ru

Голенков Андрей Васильевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой психиатрии, медицинской психологии и неврологии ЧувГУ им. И.Н. Ульянова

Адрес: 428015, Чувашская Республика, Чебоксары, Московский пр-т, д. 45, **тел.:** +7 (8352) 45-26-73,

e-mail: golenkova@inbox.ru

DOI: 10.15690/vramn.v70.i4.1404

В.Н. Шабалин¹, Д.С. Уварова¹, И.С. Шатохина²

¹ Институт общей патологии и патофизиологии РАН, Москва, Российская Федерация

² Московский областной научно-исследовательский клинический институт им. М.Ф. Владимирского, Москва, Российская Федерация

Особенности процесса биоминерализации мочи у долгожителей

Увеличение числа долгожителей в развитых странах мира указывает на необходимость выяснения особенностей функционирования жизненно важных систем организма, позволяющих продлить их активное участие в жизни общества. **Цель исследования:** определить функциональное состояние мочевыделительной системы у долгожителей с использованием новой диагностической технологии, суть которой состоит в анализе структур биологической жидкости при их фазовом переходе в твердое состояние. **Методы:** проведено исследование серии случаев. У всех долгожителей основным заболеванием являлся атеросклероз и его осложнения, а также сопутствующие заболевания. Критериями исключения из обследования являлись острые состояния. Определяли содержание креатинина в сыворотке крови, показатели клинического анализа мочи, а также особенности картины дегидратированных капелек (фаций) мочи, полученных методом клиновидной дегидратации. **Результаты:** в исследование были включены 60 долгожителей (средний возраст $87,34 \pm 4,17$ года), поступивших в клинические отделения стационара НКЦ геронтологии для клинико-лабораторного обследования. В фациях мочи у 41 (68,3%) пациента выявлен феномен выраженной концентрации анизотропных кристаллов солей в краевой зоне фации в виде кольца. Установлено, что у этих долгожителей при более высоком содержании элемента серы в краевой зоне фации мочи отмечалось десятикратное увеличение концентрации кальция и двукратное — концентрации фосфора по сравнению с центральной зоной. **Заключение:** фации мочи большинства долгожителей имеют возрастные признаки структурообразования, связанные с особым распределением анизотропных кристаллов солей, нацеленным на связывание органического детрита в инертные формы для исключения аутоинтоксикации.

Ключевые слова: долгожители, исследование мочи, биоминерализация, органо-минеральные агрегаты, метод клиновидной дегидратации. (Для цитирования: Шабалин В.Н., Уварова Д.С., Шатохина И.С. Особенности процесса биоминерализации мочи у долгожителей. Вестник РАМН. 2015; 70 (4): 403–407. Doi: 10.15690/vramn.v70.i4.1404)

403

Обоснование

В настоящее время основным демографическим процессом является старение населения мира. К 2050 г., по прогнозам экспертов Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), доля пожилого населения в 65 странах мира может составить 1/3 общей численности населения [1]. Одновременно отмечают и увеличение числа долгожителей (в некоторых европейских странах и США долгожителями считают людей в возрасте 85 лет и старше; по

классификации ВОЗ — от 90 лет и старше). Увеличение числа долгожителей как части населения, наиболее приспособленной к изменяющимся условиям окружающей среды, указывает на необходимость выяснения особенностей функционирования жизненно важных систем организма, позволяющих продлить их активное участие в жизни общества. Следует отметить, что изучение биологических и медицинских основ старения и долголетия человека ВОЗ относит к числу приоритетных научных направлений [2–4].

V.N. Shabalin¹, D.S. Uvarova¹, I.S. Shatokhina²

¹ Institute of the General Pathology and Pathophysiology, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russian Federation

² M.F. Vladimirskiy Moscow Regional Research and Clinical Institute, Moscow, Russian Federation

Features of Urine Biomineralization in Long-Livers

Background: The increasing number of long-livers in the developed countries indicates the demand for clarification of the body vital systems' functioning features which allow the long-livers to prolong their active involvement in social life. **Objective:** Aim of our study/research was to define a functional condition of urinary system in long-livers using the new diagnostic technology which analyses the structures of biological liquid at its phase transition in a solid state. **Methods:** A case series study was held. All long-livers suffered from atherosclerosis and its complications as well as from associated diseases. An exclusion criterion was acute conditions. The creatinine level in blood serum, indicators of common urine analysis and features of urine facies (using cuneiform dehydration) were defined. **Results:** Participants included 60 long-livers (mean age 87.34 ± 4.17 years) who were passing clinical laboratory tests at in-patient department of gerontological hospital. In urine facies of 41 (68.3%) long-livers a phenomenon of salt crystals distribution was identified. It presents the concentration of anisotropic salt crystals in the form of a ring in a regional facies zone. The tenfold increase in concentration of calcium and double increase in concentration of phosphorus in comparison with the central zone was detected in long-livers with a higher percent sulphur in the regional zone of urine facies. **Conclusion:** The urine facies of the majority of long-livers have signs of age structure formation associated with a specific distribution of anisotropic salt crystals which fix detritus in its inert form to block the autointoxication.

Key words: long-livers, urine research, biomineralization, organo-mineral units, cuneiform dehydration method.

(For citation: Shabalin V.N., Uvarova D.S., Shatokhina I.S. Features of Urine Biomineralization in Long-Livers. Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2015; 70 (4): 403–407. Doi: 10.15690/vramn.v70.i4.1404)

Старение характеризуется структурными и функциональными изменениями организма, всех его органов, тканей и систем [5, 6]. В значительной степени темпы старения человека зависят от состояния его внутренней среды, качества метаболизма и эффективности выведения продуктов катаболизма [7, 8], т.е. функциональная способность выделительных систем служит одним из факторов, определяющих физиологические резервы стареющего организма и оказывающих протективное действие по отношению к развитию патологического (ускоренного) старения.

Целью нашего исследования было изучить функциональное состояние мочевого выделительной системы долгожителей с помощью новой диагностической технологии — Литос-системы, предназначенной для оценки морфологии биологических жидкостей человека, суть которой состоит в переводе биологической жидкости в твердое состояние [9].

Методы

Дизайн исследования

Проведено исследование серии случаев.

404 Критерии соответствия

Критерии включения в исследуемую группу:

- возраст от 85 до 96 лет;
- отсутствие на момент обследования острого или обострения хронического заболевания;
- информированное согласие пациента на проведение исследования.

Условия проведения

Пациенты были обследованы в клинических отделениях (терапии, неврологии, гастроэнтерологии) стационара Научно-клинического центра геронтологии РНИМУ им. Н.И. Пирогова (Москва). Исследование морфологической картины фаций мочи осуществляли в лаборатории биокристалломики Института общей патологии и патофизиологии РАН (Москва).

Продолжительность исследования

Исследования проводились в период с 2013 по 2015 гг.

Исходы исследования

Основной исход исследования. Результаты исследования указывают на сохранность биоминерализации продуктов катаболизма у долгожителей, что подавляет аутоинтоксикацию и может способствовать увеличению продолжительности жизни.

Дополнительный исход исследования. Результаты исследования могут быть использованы в качестве критерия оценки активности почечного клиренса у долгожителей.

Методы регистрации исходов

В качестве материала для исследования использована моча пациентов (утренняя порция), а также кровь, взятая строго натощак. Результат исследования регистрировали с помощью микрофотографирования картины фации мочи (полученной с применением метода клиновидной дегидратации) и электронно-зондового исследования состава ее химических элементов методом рентгеноспектрального микроанализа (РСМА) при помощи электронно-зондового микроанализатора Jeol Superprobe JXA 8100 (Япония).

Определяли функциональную активность органов мочевой системы (содержание креатинина в сыворотке крови, общеклинические показатели при исследовании мочи). Определение концентрации общего белка в моче осуществляли с помощью фотометрического метода с пирогалловым красным, который обладает высокой чувствительностью, и результат исследования не зависит от pH среды и солевого состава мочи.

В качестве основного использовали метод клиновидной дегидратации мочи. Суть метода заключается в том, что в процессе дегидратации происходит разделение органических и неорганических компонентов капли, и формируются соответствующие зоны (рис. 1). Формирование зон в малом объеме биологической жидкости, имеющем форму, близкую к полусфере, происходит в соответствии с определенными закономерностями. Вода равномерно испаряется по всей поверхности капли, но вследствие того, что полусфера имеет разную толщину слоя в центре и по краю, происходит неравномерное изменение концентрации растворенных веществ. В процессе дегидратации концентрация веществ по периферии капли возрастает значительно быстрее по сравнению с ее центральной зоной. В связи с тем, что мощность осмотических сил на два порядка выше онкотических, соли в борьбе за оставшуюся воду «выдавливают» органические вещества на периферию капли. В результате по краю капли формируется аморфная зона из органических веществ, а в центре — зона минеральных веществ в виде кристаллов солей. Высушенная капля биологической жидкости носит название фация (от лат. *facies* — лицо, облик).

Мочу обследуемого в количестве 20 мкл в виде капли наносили на поверхность специальных тест-карт диагностического набора «Литос-система» (Россия). Капли биожидкости дегидратировали в стандартных условиях при температуре 25 °С, относительной влажности 60% и неподвижности окружающего воздуха. Период высыхания составлял 20–24 ч. Анализ фации мочи проводили с

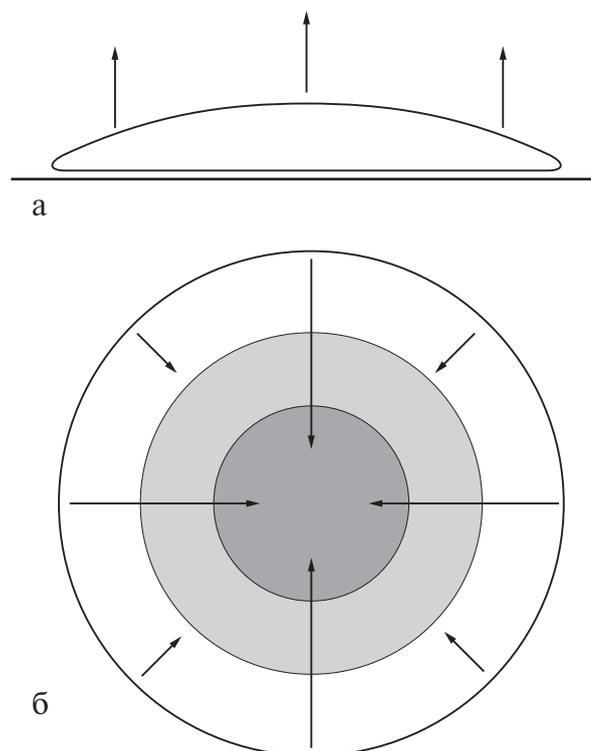


Рис. 1. Схема дегидратации капли биологической жидкости. Примечание. а — сагиттальный разрез; б — вид сверху.

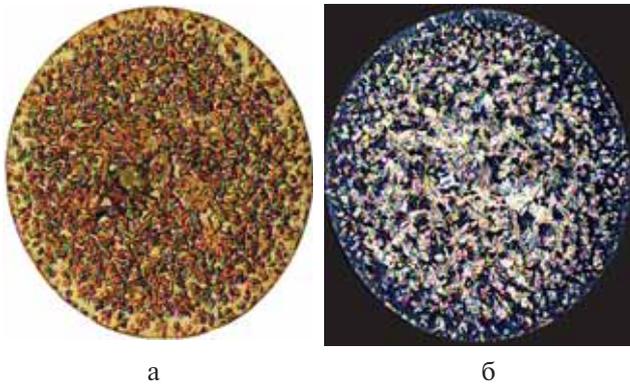


Рис. 2. Типичная фация кристаллического типа нативной мочи здорового человека среднего возраста.

Примечание. а — при световой микроскопии; б — в поляризованном свете. Ув. 12.

помощью стереомикроскопа MZ12 фирмы «Leica» (Германия) при световой микроскопии и в скрещенных поляризаторах. При этом изучали особенности распределения структурообразующих элементов в фациях мочи долгожителей. Литос-система имеет разрешение к применению в клинической практике (Разрешение ФС № 2009/155 от 15.06.2009 г.).

В качестве примера на рис. 2 представлена типичная фация мочи здорового человека среднего возраста, которая выполнена анизотропными кристаллами солей (способными проявлять двулучепреломление в поляризованном свете) с равномерным распределением их по площади фации.

Этическая экспертиза

Информированное согласие на участие в данном исследовании было обязательной процедурой при поступлении пациентов в стационар после получения заключения Этического комитета НКЦ геронтологии РНИМУ им. Н.И. Пирогова (протокол № 4 от 21.06.2012 г.). В работе с пациентами были соблюдены этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией (World Medical Association Declaration of Helsinki, 2008).

Статистический анализ

Статистическую обработку результатов выполняли с применением пакета программ STATISTICA v. 6.1 (Stat-Soft Inc., США). Тип распределения устанавливали по критерию Колмогорова—Смирнова, который предназначен для проверки простых гипотез о принадлежности анализируемой выборки определенному закону рас-

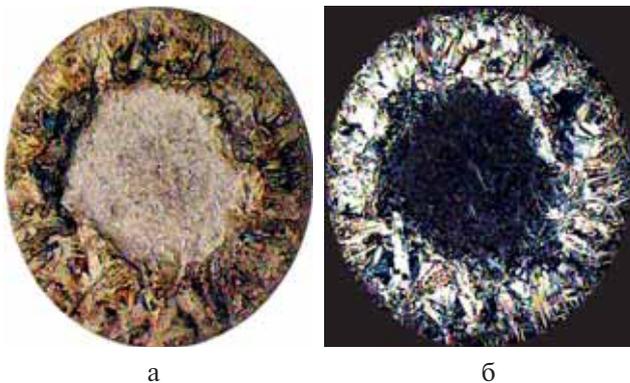


Рис. 3. Фация мочи долгожительницы С., возраст 94 года.

Примечание. а — при световой микроскопии; б — в поляризованном свете (черная центральная зона фаций мочи представлена изотропными кристаллами солей). Ув. 12.

пределения. Показатели среднего возраста пациентов, индекса полиморбидности и распределения химических элементов в зонах фаций мочи представлены в виде среднegrupпового значения (М) и стандартного отклонения (δ).

Результаты

Участники исследования

Для изучения биоминерализационной активности обследованы 60 долгожителей в возрасте 85–96 (средний возраст $87,34 \pm 4,17$) лет. Из них 44 (73,3%) женщины и 16 (26,7%) мужчин. У всех долгожителей основным заболеванием являлся атеросклероз и его осложнения (гипертоническая болезнь, хроническая ишемия головного мозга, ишемическая болезнь сердца), а также имелась сопутствующая патология со стороны различных органов и систем. Индекс полиморбидности на одного долгожителя в среднем составил $6,1 \pm 0,4$.

Основные результаты исследования

Данные общеклинического анализа мочи обследованных долгожителей показали концентрацию общего белка в пределах 0,037–0,139 г/л, что не выходило за параметры физиологических значений (норма 0–0,14 г/л). Также не было выявлено патологических сдвигов и при микроскопическом исследовании осадка мочи. Концентрация креатинина сыворотки крови соответствовала верхним границам нормы (у мужчин — 80–115, у женщин — 53–97 мкмоль/л), т.е. несмотря на значительное возрастное уменьшение активных структурных элементов почек и снижение клубочковых и канальцевых функций, физиологические резервы почек долгожителей достаточны для поддержания адекватного гомеостаза организма.

Вместе с тем исследование мочи методом клиновидной дегидратации позволило разделить долгожителей на 2 группы. Первая группа — 41 (68,3%) человек — имела особенность структуропостроения фаций мочи в виде выраженной концентрации анизотропных солей в краевой зоне, в то время как изотропные соли сосредоточивались в центральной зоне. В качестве примера приводим фацию мочи долгожительницы С., возраст 94 года (рис. 3).

У второй группы долгожителей — 19 (31,7%) человек — фации мочи по распределению минеральной и органической составляющих были сходны с фациями мочи пациентов среднего возраста. Однако плотность кристаллов солей

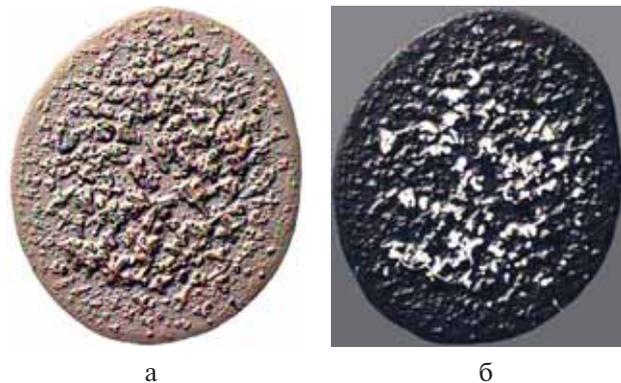


Рис. 4. Фация мочи аморфно-кристаллического типа долгожителя П., возраст 87 лет.

Примечание. а — при световой микроскопии; б — в поляризованном свете. Ув. 12.

в краевой зоне фаций мочи долгожителей была несколько ниже, что свидетельствует о наличии в их моче более высокой концентрации органических веществ. Ввиду этого такой тип фации мочи был назван аморфно-кристаллическим (АК-тип). В качестве примера на рис. 4 приводится фация мочи АК-типа долгожителя П., возраст 87 лет.

Результаты электронно-зондового исследования состава химических элементов (метод РСМА), распределенных в краевой и центральной зоне фаций мочи долгожителей, представлены в табл.

Обсуждение

Минералы, формирующиеся в живом организме, в норме участвуют в построении таких структур, как кости, зубы. Роль биокосных взаимодействий при патогенном минералообразовании в организме человека проявляется в тесных связях между минеральной и органической компонентой [10, 11]. В пожилом возрасте, как правило, происходит процесс трансминерализации. Минеральные вещества начинают откладываться в неспецифических для них областях: суставных сочленениях, стенках сосудов, сердечных клапанах, почках, желчном пузыре и др. [12].

Биологические жидкости, в т.ч. и моча, имеют сложный состав. При этом растворенные в них вещества представлены не отдельными молекулами, а сложными микроагрегатами, которые при клиновидной дегидратации занимают определенное место на площади фации в соответствии с их интегральными физико-химическими параметрами, поэтому фации биологических жидкостей представляют собой сложное морфологическое разнообразие, в котором, однако, можно проследить определенные закономерности структуропостроения.

Выраженная кристаллизация анизотропных солей в краевой зоне фаций мочи долгожителей, по нашему мнению, объясняется проявлением защитной биоминерализации. В соответствии с закономерностями структуропостроения фаций биологических жидкостей, в ее краевой зоне сосредоточиваются все органические элементы (продукты катаболизма макроорганизма и жизнедеятельности микрофлоры), поэтому краевая зона фации мочи обычно частично аморфизирована или (при протеинурии) аморфна. В фациях мочи большинства долгожителей имеет место обратная картина: вместо частично аморфизированной краевой зоны в ней отмечается выраженное сгущение анизотропных кристаллов солей при практически полном их отсутствии в центре фации — биоминерализационный (БМ)

тип фации мочи. Данная особенность объясняется тем, что выводимые с мочой продукты азотистого обмена у долгожителей активно связываются солями, формируя инертные органо-минеральные агрегаты. При этом биоминерализация нейтрализует токсическое действие органических метаболитов и защищает организм от аутоинтоксикации [13]. В фациях мочи долгожителей можно увидеть эти прочные органо-минеральные связи в виде широкого периферического анизотропного кольца.

При сравнительном сопоставлении распределения химических элементов в двух типах фаций мочи долгожителей, представленных в табл., обращают на себя внимание 3 основных химических элемента — сера, кальций и фосфор. При БМ-типе фаций мочи содержание элемента серы (признак продуктов распада органических веществ) в краевой зоне в 4 раза превышает ее содержание в центральной зоне, где органический детрит связан солями кальция и фосфора. Об этом свидетельствует десятикратное превышение содержания элемента кальция и двукратное — элемента фосфора в краевой зоне по сравнению с центральной.

Иная картина распределения химических элементов имеет место в фациях мочи АК-типа: распределение серы относительно равномерно по всей поверхности фации при двукратном превышении элемента кальция и в 1,5 раза — элемента фосфора в краевой зоне по сравнению с центральной.

По данным ретроспективного анализа историй болезни долгожителей установлено, что у 5 (12,2%) из них с БМ-типом фаций мочи в анамнезе отмечена мочекаменная болезнь, а у 16 (84,2%) человек с АК-типом за 2–7 нед до обследования имело место обострение хронических заболеваний (бронхит, пиелонефрит, холецистит, артрит). Это явилось причиной повышенного содержания продуктов катаболизма в моче и недостаточной активности процесса биоминерализации у долгожителей с АК-типом фаций мочи.

Заключение

Фации мочи большинства долгожителей имеют возрастные признаки структуропостроения, связанные с особым распределением анизотропных кристаллов солей, нацеленных на связывание органического детрита в инертные формы для исключения аутоинтоксикации. Следовательно, долгожители с биоминерализационным типом фаций мочи сохраняют способность к нейтрализации токсической активности собственных продуктов

Таблица. Усредненные данные распределения химических элементов в зонах фаций мочи долгожителей

Зона фаций мочи	Содержание химических элементов, %							
	Na	Mg	P	S	Cl	K	Ca	Всего
<i>Биоминерализационный (БМ) тип (n =41)</i>								
Краевая	21,9±1,34	2,3±0,65	8,3±1,16	9,6±1,12	41,2±2,56	11,2±0,79	5,0±0,67	100,0
Центральная	25,8±2,16	1,9±0,23	4,1±0,92	2,3±0,77	54,6±3,14	10,4±0,44	0,5±0,84	100,0
<i>Аморфно-кристаллический (АК) тип (n =19)</i>								
Краевая	22,3±2,43	1,8±0,15	12,8±1,07	9,0±1,55	34,4±3,21	16,3±1,10	3,2±0,71	100,0
Центральная	23,4±2,28	0,8±0,09	8,3±1,01	6,8±2,33	42,3±2,94	16,6±0,89	1,6±0,65	100,0

Примечание. Выделение полужирным шрифтом означает, что сопоставление данных показателей краевой и центральной зоны фаций мочи в сравниваемых группах долгожителей является основным доказательством активности биоминерализации.

катаболизма. Данный факт свидетельствует о том, что эффективный почечный клиренс солей у долгожителей в сочетании с активной биоминерализацией продуктов катаболизма служит одним из механизмов, способствующих увеличению продолжительности жизни.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки / конфликта интересов, о которых необходимо сообщить.

ЛИТЕРАТУРА

1. Шабалин В.Н. Основные закономерности старения организма человека. *Здравоохранение Российской Федерации*. 2009; 2: 13–18.
2. Мелентьев А. С. Гериатрические аспекты внутренних болезней. М. 1995. 394 с.
3. Шабалин В.Н. Медицинское обеспечение условий физиологического старения и здоровья. *Геронтология и гериатрия*. 2010; 9: 3–9.
4. Tinker A. The social implications of an ageing population. *Mech. Ageing Dev.* 2002; 123: 729–735.
5. Мухин Н.А. Избранные лекции по внутренним болезням. М.: *Литтерра*. 2006. 240 с.
6. Epstein M. Aging and kidney. *J. Am. Soc. Nephrol.* 1996; 7: 1106–1122.
7. Letourneau I., Ouimet D., Dumont M., Pichette V., Leblanc M. Renal replacement in end stage renal disease patients over 75 years old. *Am. J. Nephrol.* 2003; 23: 71–77.
8. Weiner D.E., Tighiouart H., Amin M.G., Stark P.C., MacLeod B., Griffith J.L., Salem D.N., Levey A.S., Sarnak M.J. Chronic kidney disease as a risk factor for cardiovascular disease and all cause mortality: a pooled analysis of community based studies. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2004; 15: 1307–1315.
9. Шатохина С.Н., Шабалин В.Н. Атлас структур нектоточных тканей человека в норме и патологии. Том 1. Морфологические структуры мочи. М.: *Триада-Х*. 2011. 224 с.
10. Голованова О.А. Патогенные минералы в организме человека. Омск. 2007. 395 с.
11. Лемешева С.А., Голованова О.А. О соотношении кальция и фосфора при патогенном минералообразовании в организме человека. Мат-лы семинара «Минералогия техногенеза-2006». Миасс. 2006. С. 146–151.
12. Ларионов П.М., Титов А.Т., Краськов А.М., Шукин В.С. Структура и физико-химические условия образования кальцификатов на клапанах сердца. *Патология кровообращения и кардиохирургия*. 2003; 1: 4–13.
13. Шатохина С.Н. Значение биоминерализации в норме и патологии. *Медицинская кафедра*. 2006; 1 (19): 14–19.

407

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Шабалин Владимир Николаевич, академик РАН, главный научный сотрудник НИИОПП
Адрес: 125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8, тел.: +7 (499) 151-00-92, e-mail: niiorp@mail.ru

Уварова Дарья Сергеевна, старший научный сотрудник НИИОПП
Адрес: 125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8, тел.: +7 (499) 151-00-92, e-mail: niiorp@mail.ru

Шатохина Ирина Сергеевна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры клинической лабораторной диагностики МОНИКИ им. М.Ф. Владимирского
Адрес: 129110, Москва, ул. Щепкина, д. 61/2, тел.: +7 (495) 681-55-85, e-mail: moniki@monikiweb.ru

DOI: 10.15690/vramn.v70.i4.1405

К. Цомпос¹, К. Панулис², К. Тутузас², Д. Зографос², А. Папалос³

¹ Окружная больница Миссолонги, Этолокарнания, Греция

² Афинский университет, Атика, Греция

³ Экспериментальный научно-исследовательский центр «ELPEN Фармацевтика», S.A., Inc., Co., Греция

Влияние антиоксидантного препарата U-74389G на концентрацию магния при гипоксии—реоксигенации у крыс

Цель исследования: изучить влияние антиоксидантного лекарственного средства U-74389G на содержание магния (Mg^{2+}) в сыворотке крови на примере крысиной модели гипоксии—реоксигенации, используя ранее установленный протокол. **Методы:** проведено сравнительное нерандомизированное исследование. Эффективность лечения оценивали на основании данных о содержании Mg^{2+} в сыворотке крови. Концентрацию Mg^{2+} измеряли после эпизодов реоксигенации длительностью 60 (группы А и С) и 120 мин (группы В и D). Согласно протоколу, группам С и D вводили U-74389G, группам А и В не назначали никаких препаратов. **Результаты:** в исследовании использовали 40 крыс в возрасте 16–18 нед со средней массой тела 231,875 г. Назначение U-74389G существенно не повлияло на концентрацию Mg^{2+} (отмечено снижение его содержания на $0,28 \pm 2,75\%$; $p = 0,917$). Увеличение длительности эпизода реоксигенации несущественно повышало уровень Mg^{2+} (на $4,27 \pm 2,66\%$; $p = 0,107$). Одновременное введение U-74389G и увеличение длительности эпизода реоксигенации незначительно увеличивали концентрацию Mg^{2+} (на $0,36 \pm 1,64\%$; $p = 0,823$). **Заключение:** применение препарата U-74389G или единовременное его назначение вместе с процессом реоксигенации не оказывают существенного влияния на содержание Mg^{2+} в крови у крыс после экспериментальной гипоксии.

Ключевые слова: гипоксия, реоксигенация, U-74389G, магний.

(Для цитирования: Цомпос К., Панулис К., Тутузас К., Зографос Д., Папалос А. Влияние антиоксидантного препарата U-74389G на концентрацию магния при гипоксии—реоксигенации у крыс. *Вестник РАМН*. 2015; 70 (4): 408–412. Doi: 10.15690/vramn.v70.i4.1405)

408

Обоснование

Гипоксия—реоксигенация (ГР) определяется по конкретным реакциям, которые проявляются после поражения тканей, и общим признакам и симптомам, связанным с повреждением и восстановлением тканей. Важным достижением данного эксперимента является углубленное изучение процесса восстановления поврежденных тканей тела с помощью антиоксидантных веществ. Несмотря на значимость эксперимента и прогресс в его исследовании, остались невыясненными следующие практические вопросы:

- насколько мощным должен быть антиоксидант;
- когда должен быть введен препарат;
- какая доза препарата считается оптимальной для назначения.

Перспективный эффект антиоксиданта, аминостероидного препарата U-74389G, как средства защиты тканей продемонстрирован в нескольких исследованиях [1]. Препарат U-74389G, который относится к аминостероидам (лазароидам), часто используют в экспериментах, связанных с ГР (табл. 1). U-74389G (или 21- [4- (2,6-ди-1-пирролидинил-4-пиримидинил) -1-пиперазинил] пре-

C. Tsompos¹, C. Panoulis², K. Toutouzas², G. Zografos², A. Papalois³

¹ Mesologi County Hospital, Etoloakarnania, Greece

² Aretaieion Hospital, Athens University, Attiki, Greece

³ Experimental Research Center ELPEN Pharmaceuticals, S.A. Inc., Co.

The Effect of the Antioxidant Drug U-74389G on Magnesium Levels During Hypoxia—Reoxygenation Injury in Rats

Objective: The aim of this experimental study was to examine the effect of the antioxidant drug U-74389G in a rat model of hypoxia — reoxygenation using the previously established protocol. Effects of treatments were evaluated by magnesium (Mg^{2+}) levels in blood. **Methods:** Non-randomized controlled study was performed. Mg^{2+} levels were determined in 60 min (groups A and C) and 120 min (groups B and D) after starting the reoxygenation. Groups A and B received no drugs, whereas rats from groups C and D were administered with U-74389G. **Results:** 40 rats 16–18 weeks old of a mean weight of 231.2 g were employed in the study. It is demonstrated that U-74389G administration did not alter the Mg^{2+} levels (decrease in Mg^{2+} concentration was $0.28 \pm 2.75\%$; $p = 0.917$). Reoxygenation non-significantly increased the Mg^{2+} levels by $4.27 \pm 2.66\%$ ($p = 0.107$). Together, the U-74389G administration and reoxygenation non-significantly increased the Mg^{2+} levels by $0.36 \pm 1.64\%$ ($p = 0.823$). **Conclusion:** U-74389G administration, alone or in concert with reoxygenation did not significantly affect Mg^{2+} level in blood after experimental hypoxia in rats.

Key words: hypoxia, reoxygenation, U-74389G, magnesium.

(For citation: Tsompos C., Panoulis C., Toutouzas K., Zografos G., Papalois A. The Effect of the Antioxidant Drug U-74389G on Magnesium Levels During Hypoxia — Reoxygenation Injury in Rats. *Vestnik Rossijskoi Akademii Meditsinskikh Nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2015; 70 (4): 408–412. Doi: 10.15690/vramn.v70.i4.1405)

гна-1,4,9 (11) триен-3,20-диола малеат [1]) представляет собой антиоксидант, который предотвращает как индуцированное арахидоновой кислотой, так и железозависимое перекисное окисление липидов. Доказано благоприятное воздействие препарата на некоторые ткани органов животных (сердце, печень и почки ГР-моделей), а также на уменьшение проницаемости монослоев эндотелиальных клеток микрососудов [2].

Целью исследования было изучить применение антиоксидантного лекарственного средства U-74389G на примере крыс в условиях ГР на основе оценки содержания магния в сыворотке крови как возможного биомаркера эффекта препарата.

Методы

Дизайн исследования

Проведено сравнительное нерандомизированное исследование.

Критерии соответствия

Для участия в исследовании отбирали самок белых крыс породы Wistar со средним весом 231,9 г.

Условия проведения

Исследование выполнено на базе Экспериментального научно-исследовательского центра «ELPEN Фармацевтика», S.A., Co. Inc. (Пикерми, Атика, Греция). Все необходимое для проведения исследования, в т.ч. расходные материалы, вещества и оборудование, было любезно предоставлено указанным центром.

Продолжительность исследования

Эксперимент длился 15 сут.

Описание медицинского вмешательства

Животные (крысы-самки) были размещены в лаборатории за 7 сут до начала эксперимента, им был обеспечен

постоянный доступ к воде и пище. Исследование проведено в соответствии с нормами вивисекции, т.е. участие животных в эксперименте было завершено в указанный период без пробуждения в течение эксперимента и с последующим усыплением грызунов.

Доза препарата U-74389G составила 10 мг/кг массы тела животных.

Эксперимент начинали с премедикации с последующим наркозом. Подробная анестезиологическая техника описана нами ранее [3–5]. Непрерывную подачу кислорода обеспечивали в течение всего хода эксперимента. Также осуществляли непрерывный контроль ЭКГ и ацидометрию. Гипоксия была осуществлена путем зажима пинцетом нижней аорты почечных артерий в течение 45 мин после того, как был обеспечен доступ к брюшной полости. Реоксигенация была вызвана удалением зажима и восстановлением проходимости нижней аорты. После перекрытия кровотока протокол ГР соблюдали в соответствии с описанными ниже условиями для каждой группы. Введение препарата U-74389G осуществляли в период реперфузии в нижнюю полую вену путем катеризации.

Анализ в подгруппах

Контрольная группа включала 20 крыс со средней массой тела 252,5±39,3 г, которых подвергли гипоксии в течение 45 мин с последующей реоксигенацией.

Лазароидную (экспериментальную) группу — 20 животных со средней массой 211,25±17,5 г — подвергли гипоксии в течение 45 мин с последующей реоксигенацией, перед которой крысам ввели внутривенно 10 мг U-74389G на 1 кг массы тела.

Крысы в случайном порядке были распределены на 4 группы (по 10 животных в каждой группе) с использованием следующих протоколов ГР:

- гипоксия в течение 45 мин с последующей реоксигенацией в течение 60 мин (группа А — средняя масса животных 243±45,8 г, среднее содержание Mg²⁺ 2,98±0,20 мг/дл; табл. 2);

Таблица 1. Влияние U-74389G (M ± SD) на сывороточные показатели [3] в зависимости от длительности реоксигенации

Показатель	Реоксигенация 1 ч	p	Реоксигенация 1,5 ч	p	Реоксигенация 2 ч	p	U-74389G + реоксигенация	p
Эритроциты, 10 ⁶ /мм ³	+1,39±0,71%	0,716	+0,64±0,32%	0,811	-0,10±0,05%	0,976	+1,05±0,53%	0,491
Общий белок, г/дл	-5,48±2,99%	0,066	-7,34±1,76%	<0,001	-9,20±2,16%	<0,001	-4,08±1,10%	<0,001
Щелочная фосфатаза, МЕ/л	+22,66±12,37%	0,066	+31,91±7,69%	<0,001	+41,16±9,65%	<0,001	+17,75±4,79%	0,001
Натрий, ммоль/л	+1,22±0,66%	0,071	+0,17±0,61%	0,771	-0,87±1,03%	0,400	-0,32±0,36%	0,369
Хлор, моль/л	-0,58±0,77%	0,453	-0,97±0,53%	0,088	-1,36±0,76%	0,111	-0,75±0,38%	0,016
Кальций, г/дл	0±1,75%	1	-0,14±1,10%	0,878	-0,28±1,54%	0,849	+0,14±0,64%	0,825
Фосфор, г/дл	-2,23±5,51%	0,797	-1,61±3,32%	0,579	-1±4,48%	0,813	-1,09±2%	0,577
Среднее значение	+2,42±9,22%	0,453	+3,23±12,92%	0,447	+4,05±16,67%	0,450	+1,81±7,20%	0,325

Таблица 2. Вес (г) животных и содержание магния (Mg²⁺, мг/дл), M ±SD

Группа	Показатель	M	SD
A	Вес	243	45,78
A	Mg ²⁺	2,9	0,20
B	Вес	262	31,11
B	Mg ²⁺	3,18	0,27
C	Вес	212,5	17,83
C	Mg ²⁺	3,02	0,25
D	Вес	210	18,10

- гипоксия в течение 45 мин с последующей реоксигенацией в течение 120 мин (группа В — средняя масса животных 262±31,1 г, среднее содержание Mg²⁺ 3,18±0,27 мг/дл; см табл. 2);
- гипоксия в течение 45 мин с последующим незамедлительным внутривенным введением U-74389G и реоксигенацией в течение 60 мин (группа С — средняя масса животных 212,5±17,8 г, среднее содержание Mg²⁺ 3,02±0,24 мг/дл; см. табл. 2);
- гипоксия в течение 45 мин с последующим незамедлительным внутривенным введением U-74389G и реоксигенацией в течение 120 мин (группа D — средняя масса животных 210±18,1 г, среднее содержание Mg²⁺ 3,12±0,41 мг/дл; см. табл. 2).

Методы регистрации исходов

Измерение содержания Mg²⁺ проводили по истечении 60 мин после начала реоксигенации (для групп А и С) и по истечении 120 мин после начала реоксигенации (для групп В и D).

Этическая экспертиза

Исследование лицензировано решениями Ветеринарного комитета префектуры Восточной Аттики № 3693/12-11-2010 и 14/10-1-2012. При содержании животных и проведении эксперимента соблюдали общепринятые стандарты гуманного ухода за животными.

Статистический анализ

Каждую группу крыс сопоставляли с остальными по весу и содержанию магния в сыворотке крови на основе статистического парного t-теста Стьюдента (табл. 3).

Применяли обобщенные линейные модели (glm) с зависимыми (концентрация Mg²⁺) и независимыми (препарат U-74389G) переменными или без применения лекарственного средства, с различной длительностью реоксигенации и сочетанием переменных. В работе было использовано статистическое программное обеспечение STATA 6.0 (Stata Corp., США).

Результаты

Объект исследования

В исследовании было использовано 40 белых крыс-самок линии Wistar весом от 165 до 320 (средний вес 231,9±36,9) г в возрасте 16–18 нед. Животные были распределены на 4 группы.

Основные результаты исследования

Введение препарата U-74389G способствует незначительному снижению содержания Mg²⁺ — на 0,01 (-0,20– -0,18; *p* =0,916) мг/дл. Эти данные соответствуют результатам парного t-теста Стьюдента (*p* =0,919). Длительность реоксигенации несущественно повышает концентрацию Mg²⁺ — на 0,15 (-0,03– -0,33; *p* =0,106) мг/дл, что также соответствует результатам парного t-теста Стьюдента (*p* =0,109). Одновременное введение препарата U-74389G и увеличение длительности процесса реоксигенации незначительно увеличивали содержание Mg²⁺ — на 0,01 (-0,10– -0,13; *p* =0,823) мг/дл. Анализируя вышеуказанные данные и показатели табл. 3, в табл. 4 резюмировали эффект действия препарата U-74389G относительно длительности реоксигенации. При рассмотрении веса животного в

410

Таблица 3. Статистическая значимость разницы средних при сравнении групп между собой (DG) после применения парного t-теста Стьюдента

DG	Показатель	Разница	<i>p</i>
A-B	Вес, г	-19	0,242
A-B	Mg ²⁺ , мг/дл	-0,2	0,101
A-C	Вес, г	30,5	0,067
A-C	Mg ²⁺ , мг/дл	-0,04	0,711
A-D	Вес, г	33	0,057
A-D	Mg ²⁺ , мг/дл	-0,14	0,427
B-C	Вес, г	49,5	0,002
B-C	Mg ²⁺ , мг/дл	0,16	0,175
B-D	Вес	52	<0,001
B-D	Mg ²⁺ , мг/дл	0,06	0,728
C-D	Вес	2,5	0,704

Таблица 4. Абсолютные и относительные (%) показатели изменения влияния U-74389G в зависимости от длительности реоксигенации

Изменение, мг/дл	95% ДИ	Длительность реоксигенации, ч	t-тест	glm
+0,04 (+1,33%)	-0,17– -0,25 (±3,59%)	1	0,711	0,696
-0,01 (-0,28%)	-0,20– -0,18 (±2,75%)	1,5	0,919	0,916
-0,06 (-1,90%)	-0,39– -0,27 (±5,28%)	2	0,728	0,704
+0,15 (+4,27%)	-0,03– -0,33 (±2,66%)	Только длительность реоксигенации (1,5)	0,109	0,106
+0,01 (+0,36%)	-0,10– -0,13 (±4,58%)	Взаимодействие препарата и длительности реоксигенации	–	0,823

качестве независимой переменной в обобщенном анализе линейных моделей (glm) обнаружили незначительную взаимосвязь данного условия с изменением концентрации Mg^{2+} ($p=0,495$), что не предполагает дальнейших исследований в данном направлении.

Обсуждение

Сведения об исследованиях случаев возможного влияния гипоксии на содержание магния в крови в опубликованных источниках обнаружены нами не были. Однако имеется много докладов о влиянии изменения содержания магния на функции различных органов. Тем не менее изолированное введение Mg^{2+} невозможно, что в свою очередь означает, что другой препарат или ион, вводимый с Mg^{2+} , может повлиять на его содержание. J.E. Siegler и соавт. [6] обнаружили незначительную разницу при неблагоприятных исходах (неврологические нарушения, смерть, изменение состояния при выписке или краткосрочные функциональные нарушения) у пациентов, перенесших ишемический инсульт, чей уровень Mg^{2+} снизился исходя из первоначальных показателей в течение первых 24 ч после поступления, по сравнению с пациентами, у которых концентрация Mg^{2+} осталась без изменений или выросла. K.C. Lee и соавт. [7] считают безопасным сочетание кардиоплегии, вызванной раствором Св. Томаса, с раствором гистидин-триптофан-кетоглутарата при условии средней краткосрочной выживаемости после ишемического инсульта порядка 225 мин (почти как и при использовании других методов) при низком перфузионном давлении для сохранения сердца донора. W.M. van den Bergh и соавт. [8] пытались предотвратить или обратить замедленную ишемию головного мозга после субарахноидального кровоизлияния с образованием аневризмы путем внутривенного введения Mg^{2+} как нейропротективного лекарственного средства в постоянной дозировке 64 ммоль/л в сут, что поддерживало концентрацию Mg^{2+} в сыворотке крови в диапазоне 1–2 ммоль/л в течение 14 сут. A. Whitelaw и соавт. [9] лечили гипоксически-ишемическую энцефалопатию новорожденных сульфатом магния. H. Ichiba и соавт. [10] установили, что в группе детей с диагнозом «Тяжелая асфиксия» при рождении (оценка по шкале Апгар на 5-й мин <7), получавших после родов инъекции $MgSO_4$, было больше выживших младенцев в возрасте 14 сут, чем в контрольной группе. I.A. Khan и соавт. [11] лечили приобретенную форму синдрома длительного интервала Q–T, причиной которого были инсульт, ишемия миокарда и фосфорорганические соединения, путем внутривенного введения магния. E.M. Hoenicke и соавт. в результате проведения испытаний на сердце кролика [12] установили, что забуференный раствор Кребса–Хенселейта эквивалентен раствору Св. Томаса, но уступает раствору Университета Висконсина. Y. Yano и соавт. [13] остановили разрушение кальция с помощью ограниченной магниевой кардиоплегии, восстановив кровоток аорты у 79% крыс контрольной группы с ишемией–реперфузией сердца. S. Krause и соавт. [14] добились значительного угнетения активности Mg^{2+} -зависимой АТФазы собаки, возникшего в результате ишемии головного мозга и ацидоза.

S. Heim и соавт. [15] установили нарушение способности к обучению спустя 1 нед после 60-минутного олигемического эпизода ишемии–реперфузии среднего отдела головного мозга взрослых крыс с помощью инъекций дозой 0,3 либо 0,06 мкг хлорида железа ($FeCl_3$). Лазароид U-74389G, мощный ингибитор железоиндуцируемого перекисного окисления липидов, полностью

предотвращает нарушения функций обучения животных как среднего возраста, так и старых. Таким образом, можно предположить, что железоиндуцируемое перекисное окисление липидов является причиной трудностей в обучении взрослых животных. Однако, если применять только препарат U-74389G в течение 1 нед после олигемического эпизода, способности к обучению у животных также ухудшаются. R.M. Moore и соавт. [16] поставили эксперимент на лошадях, в котором снизили кровоток ободочной артерии на 20% от исходного показателя на 3 ч. В течение следующих 3 ч толстую кишку подвергли реперфузии. Введение 21-аминостероида U-74389G (10 мг/кг внутривенно) за 30 мин до ободочной реперфузии привело к значительному увеличению средних показателей давления в легочной артерии и правом предсердии, а также к снижению сопротивляемости ободочной артерии по крайней мере в течение 3 ч процесса ишемии–реперфузии. Представленные данные демонстрируют возможность влияния 21-аминостероидного U-74389G на процесс реперфузии, при этом концентрация Mg^{2+} в сыворотке крови может считаться биомаркером воздействия препарата в процессе ИР.

Как многократно сообщалось, влияние ишемии на содержание Mg^{2+} в крови неизвестно. Тем не менее внутривенные инъекции Mg^{2+} оказывают благоприятное воздействие на защитные функции нервной и сердечной мышечной ткани, а также в отношении развития респираторного ацидоза [9, 10]. Несмотря на то, что U-74389G усиливает процесс реперфузии, он не стимулирует защитные функции нервной ткани, если критерием является способность к обучаемости, и, конечно, неизвестно его влияние на концентрацию магния в крови. Несмотря на то, что в нашем исследовании была предпринята попытка определить непосредственное воздействие препарата U-74389G на уровень Mg^{2+} в сыворотке крови, результат оказался незначительным и нечетким.

Заключение

Назначение препарата U-74389G, длительность реоксигенации и взаимосвязь данных условий вызывают статистически несущественные краткосрочные изменения содержания магния в сыворотке крови. Таким образом, концентрация магния не может рассматриваться в качестве биомаркера эффективности применения U-74389G, по крайней мере в указанной в данном эксперименте дозе. Данное исследование предполагает, что увеличение длительности эксперимента или дозы препарата может привести к значительному изменению последствий гипоксии–реоксигенации.

Источник финансирования

Исследование профинансировано грантами Экспериментального научно-исследовательского центра «ELPEN Фармацевтика» (ЕРЦЭ; Афины, Греция). Научно-исследовательская база для выполнения данного проекта была предоставлена вышеупомянутым учреждением.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки исследования / конфликта интересов, о которых необходимо сообщить.

ЛИТЕРАТУРА

1. Li C., Jackson R.M. Reactive species mechanisms of cellular hypoxia-reoxygenation injury. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2002; 282 (2): 227–241.
2. URL: <https://www.caymanchem.com/app/template/Product.vm/catalog/75860> (Available: 13.06.2015).
3. Shi F., Cavitt J., Kenneth L. 21 aminosteroid and 2 (aminomethyl) chromans inhibition of arachidonic acid-induced lipid peroxidation and permeability enhancement in bovine brain microvessel endothelial cell monolayers. *Free Radical Biol. Med.* 1995; 19 (3): 349–357.
4. Tsompos C., Panoulis C., Toutouzas K., Zografos G., Papalois A. The Effect of the Antioxidant Drug «U-74389G» on Haemoglobin Levels Following a Hypoxemia / Re-oxygenation Protocol in Rats. *J. Crit. Care Med.* 2015; 1 (3): 102–106.
5. Tsompos C., Panoulis C., Toutouzas K., Zografos G., Papalois A. The acute effect of the antioxidant drug «U-74389G» on mean corpuscular hemoglobin levels during hypoxia reoxygenation injury in rats. *Med. Jad.* 2015; 45 (1–2): 17–24.
6. Siegler J.E., Boehme A.K., Albright K.C., Bdeir S., Kar A.K., Myers L., Beasley T.M., Martin-Schild S. Acute decrease in serum magnesium level after ischemic stroke may not predict decrease in neurologic function. *J. Stroke Cerebrovasc. Dis.* 2013; 22 (8): 516–521.
7. Lee K.C., Chang C.Y., Chuang Y.C., Young M.S., Huang C.M., Yin W.H. Combined St. Thomas and histidine tryptophan ketoglutarat solutions for myocardial preservation in heart transplantation patients. *Transplant Proc.* 2012; 44 (4): 886–889.
8. van den Bergh W.M., Albrecht K.W., Berkelbach van der Sprenkel J.W., van Gijn J. Magnesium therapy after aneurysmal subarachnoid haemorrhage a dose finding study for long term treatment. *Acta Neurochir (Wien).* 2003; 145 (3): 195–199.
9. Whitelaw A., Thoresen M. Clinical trials of treatments after perinatal asphyxia. *Curr. Opin. Pediatr.* 2002; 14 (6): 664–668.
10. Ichiba H., Tamai H., Negishi H., Ueda T., Kim T.J., Sumida Y. Randomized controlled trial of magnesium sulfate infusion for severe birth asphyxia. *Pediatr. Int.* 2002; 44 (5): 505–509.
11. Khan IA. Clinical and therapeutic aspects of congenital and acquired long QT syndrome. *Am. J. Med.* 2002; 112 (1): 58–66.
12. Hoenicke E.M., Peterseim D.S., Ducko C.T., Sun X., Damiano R.J. Donor heart preservation with the potassium channel opener pinacidil: comparison with University of Wisconsin and St. Thomas' solution. *J. Heart Lung Transplant.* 2000; 19 (3): 286–297.
13. Yano Y., Milam D.F., Alexander J.C. (Jr.). Terminal magnesium cardioplegia: protective effect in the isolated rat heart model using calcium accentuated ischemic damage. *J. Surg. Res.* 1985; 39 (6): 529–534.
14. Krause S., Hess M.L. Characterization of cardiac sarcoplasmic reticulum dysfunction during short-term, normothermic, global ischemia. *Circ. Res.* 1984; 55 (2): 176–184.
15. Heim C., Kolasiewicz W., Sontag K.H. The effects of the 21 aminosteroid «U-74389G» on spatial orientation in rats after a cerebral oligemic episode and iron-induced oxidative stress. *J. Neural. Transm.* 2000; 107 (1): 95–104.
16. Moore R.M., Muir W.W., Bertone A.L., Muir W.W., Stromberg P.C., Beard W.L. Effects of dimethyl sulfoxide, allopurinol, 21 aminosteroid «U-74389G» and manganese chloride on low flow ischemia and reperfusion of the large colon in horses. *Am. J. Vet. Res.* 1995; 56 (5): 671–687.

412

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Цомпос Константинос, консультант кафедры акушерства и гинекологии Округной больницы Миссолонги
 Адрес: Nafraktou str., Миссолонги 30200, Этолоакарнания, Греция,
 тел.: 00302631360237, e-mail: Constantinostsompos@yahoo.com

Панулис Константинос, доцент кафедры акушерства и гинекологии больницы Aretaieion Афинского университета
 Адрес: 76 Vassilissis Sofias Avenue, Афины 11528, Аттика, Греция,
 тел.: 00302107286283, e-mail: Kwn.panoulis@gmail.com

Тутузас Константинос, доцент кафедры хирургии больницы Ирократеion Афинского университета
 Адрес: 114 Vassilissis Sofias Avenue, Афины 11527, Аттика, Греция, тел.: 00302132088000, e-mail: Tousur@hotmail.com

Зографос Джордж, профессор кафедры хирургии больницы Aretaieion Афинского университета
 Адрес: 76 Vassilissis Sofias Avenue, Афины 11528, Аттика, Греция, тел.: 00302132088000, e-mail: Gzografo@med.uoa.gr

Папалос Апостолос, директор Экспериментального научно-исследовательского центра «ELPEN Фармацевтика», S.A. Inc., Co.
 Адрес: 95 Marathonos Avenue, Пикерми, 19009, Аттика, Греция, тел.: 003021060393269, e-mail: Apapalois@elpen.gr

DOI: 10.15690/vramn.v70.i4.1406

Д.А. Морозов^{1,2}, С.А. Ключев¹

¹ Научный центр здоровья детей, Москва, Российская Федерация

² Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Москва, Российская Федерация

Постспленэктомический гипоспленизм

Спленэктомия — это серьезная иммунокомпрометирующая операция, т.к. в результате нее удаляется наиболее крупный периферический орган иммунной системы, из организма выносятся огромные массы пулов различных иммунокомпетентных клеток и иммунооактивных факторов, страдают и специфические, и неспецифические врожденные звенья иммунитета. Место гипоспленизма в педиатрии в России не определено: не существует ни четких критериев его диагностики, ни утвержденных алгоритмов профилактики. Статистические данные о частоте развития постспленэктомического сепсиса в России отсутствуют. В данной обзорной статье авторы приводят современные литературные данные относительно вопросов гипоспленизма и изменений, развивающихся в организме после удаления селезенки. Обсуждается системный эффект органорезецирующей операции, рассматриваются основные направления профилактики отягощенной постспленэктомической инфекции и сепсиса как крайней степени проявления гипоспленизма.

Ключевые слова: спленэктомия, гипоспленизм, постспленэктомический сепсис, профилактика гипоспленизма.

(Для цитирования: Морозов Д.А., Ключев С.А. Постспленэктомический гипоспленизм. Вестник РАМН. 2015; 70 (4): 413–418. Doi: 10.15690/vramn.v70.i4.1406)

Введение

Вопрос последствий спленэктомии переходит из монографии в монографию, однако сформированной общей концептуальной картины изменений в организме после удаления селезенки нет [1–3]. Большинство исследователей рассматривают лишь части целого, тогда как последствия носят системный характер.

Показания к спленэктомии в последнее время активно пересматривают и в большинстве случаев сокращают. Так, в настоящее время селезенку удаляют:

- при травматических повреждениях только в условиях нестабильной гемодинамики и/или неэффективности консервативного лечения [4–6];
- гиперспленизме различной этиологии [7–9]; по данным некоторых авторов, более современная тактика — парциальная спленэктомия [10];
- лимфогранулематозе, опухолях и некоторых других лимфопролиферативных заболеваниях селезенки [11, 12];
- аутоиммунных гемолитических анемиях, наследственном микросфероцитозе, талассемии и т.д. [13, 14];
- иммунных тромбоцитопениях, не поддающихся консервативному лечению [15].

По современным данным [15–17], частота спленэктомии при гематологических, иммунологических, онкологических, ретикулоэндотелиальных заболеваниях и портальной гипертензии значительно выше, чем при

травматических повреждениях. По результатам клинических исследований [18–20], пациенты, которые подверглись спленэктомии при вышеперечисленных заболеваниях, имеют более частую заболеваемость отягощенной постспленэктомической инфекцией, чем те, кто перенес операцию по поводу травмы. Вероятно, это связано с наличием сопутствующих патологических изменений, поскольку нет такого заболевания, которое так или иначе не оказывало бы влияние на иммунное постоянство внутренней среды.

Гипоспленизм

В 1955 г. W. Dameshek [21] впервые ввел термин «гипоспленизм» для описания пациента с атрофичной селезенкой при целиакии. В настоящее время выделено большое число заболеваний, характеризующихся гипоспленизмом, однако этому не всегда придают значение. Более того, при уже имеющейся лиенальной недостаточности при некоторых заболеваниях (циррозы печени с портальной гипертензией и т.д.) выполняют спленэктомии.

По данным В.М. William и соавт. [22], синдром гипоспленизма с разной частотой встречается:

- при гастроинтестинальной патологии (целиакия, хронические воспалительные заболевания тонкой кишки);

D.A. Morozov^{1,2}, S.A. Klyuev¹

¹ Scientific Centre of Children's Health, Moscow, Russian Federation

² Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation

Hyposplenism After Splenectomy

Splenectomy is a serious operation, which includes the removal of the largest peripheral immune organ. Vast array of different pools of immunocompetent cells and immune-factors eliminate from the body as a result of this operation. Occurrence of hyposplenism in our country pediatric service is not determined — there are neither clear criteria for its diagnosis, nor approved algorithms for prevention. Data of postsplenectomy sepsis incidence in Russia are unknown. In this review article authors give contemporary literature data relating to the issue of developing hyposplenism and changes in the body after removal of spleen. Systemic effect of organ-resecting operation and the basic directions of overwhelming post-splenectomy infection and sepsis prevention are discussed.

Key words: splenectomy, hyposplenism, postsplenectomy sepsis, prevention of hyposplenism.

(For citation: Morozov D.A., Klyuev S.A. Hyposplenism After Splenectomy. Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2015; 70 (4): 413–418. Doi: 10.15690/vramn.v70.i4.1406)

- гепатобилиарных болезнях (хронический гепатит и некоторые формы циррозов печени);
- эндокринных заболеваниях (гипопаратиреозидизм, аутоиммунный тиреоидит);
- онкогематологических заболеваниях (талассемия, серповидноклеточная анемия, лейкозы; при трансплантации красного костного мозга);
- тромбозах селезеночных сосудов;
- после травмы селезенки;
- ятрогениях (полное парентеральное питание, высокие дозы глюкокортикоидов).

В современной литературе гипоспленизмом называют состояние сниженной селезеночной функции при наличии органа или его отсутствии после спленэктомии [16, 21, 23]. По международной классификации болезней 10-го пересмотра (МКБ-10), гипоспленизм (D 73.0) — это состояние, сопровождающееся снижением функции селезенки, характеризующееся эритроцитозом, часто с лейко- и тромбоцитозом. Данное определение подразумевает наличие какого-либо количества селезеночной ткани. Наиболее точная терминология встречается в работах К.А. Апарцина [24, 25]: процесс полного удаления органа именуется аспленизацией, а ее результатом является послеоперационный гипоспленизм. Под последним автор подразумевает патологическое состояние, развивающееся после хирургических вмешательств на селезенке, достигающее максимальной степени выраженности после полного удаления ткани органа (аспленизации), имеющее в своей основе снижение неспецифической резистентности организма и нарушение иммунного статуса. Некоторые авторы о состоянии после спленэктомии говорят как об асплении [26], хотя данный термин чаще используют при описании врожденного отсутствия селезенки в составе наследственных иммунных болезней [27, 28].

Изменения в раннем послеоперационном периоде после удаления селезенки объединяют понятием «постспленэктомический статус» [29]. Иммунные нарушения в этот период однозначны, но противоречивы и неспецифичны, поэтому некоторые авторы [30] объясняют их также стрессовым воздействием травмы или операции. Сразу после спленэктомии возникают дисбаланс иммуноглобулинов, падение концентрации специфических антител, уменьшение опсонизации бактерий, снижение содержания компонентов комплемента [19]. По данным Е.Г. Григорьева, К.А. Апарцина [31], уровень IgM существенно снижается к 7-м сут после операции, достигая наиболее низкого значения ко 2-й нед. Впоследствии его количество в периферической крови несколько увеличивается, однако снижение продукции IgM сохраняется на протяжении 2 и более лет [32]. Ученые [31, 32] утверждают, что активность опсонизирующего тетрапептида (тафцин), активизирующегося в селезенке после спленэктомии, снижается в течение 6–8 нед до половины нормальных значений (концентрация тафцина у здоровых людей составляет 230–350 нг/мл). Z. Spigert и соавт. [33] еще в 1977 г. указали на угнетение данного показателя в течение всей жизни после операции и предложили использовать рекомбинантный тафцин в качестве меры профилактики явлений гипоспленизма.

Отмечается резкое и стойкое снижение активности компонентов (особенно C₃ и C₄) системы комплемента [26], которая играет ключевую роль в защите от пневмококка и других инкапсулированных бактерий [34].

В 1900 г. была описана гипертрофия лимфатических желез после спленэктомии [35]. Однако механизмы ее возникновения практически не изучены. Наиболее

часто встречается гипертрофия лимфатических узлов брюшной полости — мезентериальная лимфаденопатия. По мнению некоторых авторов, данное явление — это компенсаторная реакция со стороны иммунной системы организма, которая обеспечивает коррекцию его нарушенных функций [2]. Другие авторы полагают, что проявление любого вторичного иммунодефицитного состояния приводит к развитию воспалительных процессов в барьерных органах, таких как тонкая и толстая кишка. Таким образом, по их мнению, мезентериальная лимфаденопатия после спленэктомии — это результат нарушения кишечного барьера и бактериальной транслокации [36].

Удаление самого крупного периферического органа иммунной системы не может не сказываться на функционировании центральных. Ряд авторов [3, 30] в своих исследованиях показали, что спленэктомия вызывает выраженную акцидентальную инволюцию тимуса, признаки которой сохраняются даже через 120 сут после операции. В экспериментальных условиях достоверно доказано, что через 1 мес после удаления селезенки отмечается уменьшение средней массы тимуса, а также площади мозгового и толщины коркового вещества. Это сопровождается увеличением числа эпителиальных клеток, уменьшением числа зрелых тимоцитов в мозговом веществе, а также достоверным повышением содержания клеток нейроэндокринного и нейроэктодермального происхождения [30]. Некоторые авторы рассматривают низкое содержание тимоцитов в тимусе спленэктомизированных крыс как косвенный показатель усиления миграции клеток из вилочковой железы после удаления селезенки [2].

В современной литературе имеются данные [37, 38] о регуляторном гуморальном влиянии селезенки на гемопоэз взрослого человека, а именно на эритро- и мегакариопоэз. В красном костном мозге после спленэктомии увеличивается содержание клеток за счет нарастания числа эритроидных и гранулоцитарных элементов, число же лимфоидных клеток остается без изменений. Данные изменения объясняются «растормаживанием» костного мозга, увеличением числа образующихся форменных элементов крови и замедленным их разрушением. Гормоноподобные вещества тромбоцитопенин и спленин, синтезируемые селезенкой, оказывают влияние на тромбоцитогенез. По данным А.Г. Малова и соавт. [39], увеличение числа тромбоцитов после спленэктомии у детей происходит постепенно, с максимальными цифрами $400\text{--}600 \times 10^9/\text{л}$ на 7–10-е сут. Согласно клиническим рекомендациям Национального общества гематологов [40], после спленэктомии у всех взрослых и детей с соответствующим преморбидным фоном (тромбофилии) следует проводить профилактику тромбозов. Помимо тромбоцитоза, тромбозу способствует также изменение реологических свойств крови. В исследованиях В.Ф. Киричука, В.В. Маслякова и В.Г. Барсукова [41, 42] установлено, что после спленэктомии наблюдаются изменения гемореологических свойств крови, повышающие риск тромбогенных осложнений. Развитие данных изменений отмечается с 5-х послеоперационных суток.

Удаление органа, осуществляющего клиренс стареющих поврежденных эритроцитов, приводит к увеличению числа их дегенеративных форм в крови [18, 43]. После спленэктомии или при гипоспленизме нарушается процесс удаления ядер из цитоплазмы эритроцитов, что приводит к сохранению нуклеарных остатков, названных по именам открывателей тельцами Хауэлла—

Жолли. Многие авторы считают, что идентификация телец Хауэлла–Жолли в мазке периферической крови — однозначный маркер гипоспленизма [17, 26, 43].

Помимо функции иммунной и кроветворной системы спленэктомия так или иначе отражается и на работе других органов. Так, к примеру, она косвенно влияет на функционирование печени. По экспериментальным данным некоторых авторов [24, 25], в раннем послеоперационном периоде после аспленизации животных происходит воспалительное повреждение печени в виде гидрорической дистрофии и центроробулярных некрозов гепатоцитов с инфильтрацией сегментоядерными лейкоцитами и макрофагами. Данные изменения характеризуются нарушениями функциональных показателей печени, а именно ухудшением белково-синтетической способности (снижение уровня общего белка и альбумина со 2-х сут после операции до наиболее низких показателей на 7-е сут) и повышением активности цитолитических ферментов с максимальными значениями на 5-е послеоперационные сутки. По мнению авторов, поражение внутренних органов в раннем периоде после спленэктомии обусловлено развитием бактериальной транслокации из кишечника и отсутствием селезеночного клиренса этих бактерий из крови. Это согласуется с мнением других исследователей. Так, N.T. Connell и соавт. [18] утверждают, что клиренс бактерий макрофагами других тканей (например, печени) не может компенсировать таковой удаленной селезенки, особенно в раннем периоде после спленэктомии.

Постспленэктомический сепсис

Наиболее опасное осложнение и суммарный результат всех изменений после удаления селезенки — это отягощенная постспленэктомическая инфекция, постспленэктомический сепсис, OPSI-синдром (overwhelming postsplenectomy infection).

Несмотря на большое число предпосылок и достаточные знания о нарушении иммунитета у пациентов без селезенки, первое сообщение о молниеносном сепсисе после спленэктомии появилось только в 1952 г. Н. King и Н. J. Schumacker [44] впервые в мире в своем наблюдении описали случаи развития постспленэктомического сепсиса у 5 детей, перенесших спленэктомию в периоде новорожденности в связи с врожденной гемолитической анемией. В большинстве случаев постспленэктомическая инфекция проявлялась менингитом, развивавшимся на сроках от 6 нед до 3 лет после операции. Четверо из этих детей погибли в течение нескольких часов после появления первых признаков заболевания. В заключении авторы пришли к выводу, что спленэктомия приводит к снижению инфекционной резистентности и манифестации латентных инфекций. Также, несмотря на описание клинических случаев в детском возрасте, авторы указывают, что вероятность развития постспленэктомического сепсиса у взрослых не ниже, чем у детей.

По результатам популяционных исследований, частота возникновения сепсиса после спленэктомии от 58 [45] до 600 [46] раз выше по сравнению с риском развития сепсиса в общей популяции. По современным данным, частота постспленэктомического сепсиса варьирует в пределах от 0,23 [46] до 2,4% [45] случаев после спленэктомии по поводу травмы и более чем в 20% — после удаления селезенки из-за гематологических проблем [47]. В литературе описаны случаи по-

вторного развития постспленэктомической инфекции после выздоровления [45].

D.J. Waghorn [46] в своей статье приводит результаты анализа 77 случаев постспленэктомического сепсиса. По данным автора, минимальный временной интервал между спленэктомией и развитием постспленэктомического сепсиса составил 24 сут, максимальный — 65 лет.

По данным некоторых исследователей, постспленэктомический сепсис чаще развивается у детей и в первые годы после спленэктомии [17, 26], однако другие авторы считают риск постспленэктомического сепсиса актуальным в течение всей жизни [44, 46].

Хорошо известно, что преобладающими возбудителями постспленэктомического сепсиса являются инкапсулированные бактерии — *Streptococcus pneumoniae* (50–90% случаев) [19, 46], *Haemophilus influenzae* типа b, реже — *Neisseria meningitidis* и совсем редко — не имеющие выраженной мукополисахаридной капсулы *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* и другие грамотрицательные бактерии [26, 46].

Клиническая картина постспленэктомической инфекции неспецифична, однако имеет некоторые единые черты. Наиболее частые признаки манифестации постспленэктомического сепсиса — гриппоподобные симптомы. Отмечаются жалобы на внезапно развившиеся фебрильную лихорадку, озноб, миалгию, головную боль, тошноту, рвоту, кашель [44, 46, 48]. Этот продромальный период очень короткий и нарастает в течение нескольких часов до проявлений септического шока. Пациенты обычно поступают в медицинские учреждения, миновав этот период [46, 48]. В 50% случаев развивается пневмококковая пневмония [48]. В периодической литературе 80-х гг. XX в. постспленэктомический сепсис также встречается под названием «легочный сепсис спленэктомированных» [49]. В наблюдении Н. King и Н. J. Schumacker [44] описывают признаки постспленэктомического сепсиса как таковые у менингита, другие авторы указывают на одинаковую частоту встречаемости менингита и пневмонии [17].

У большинства больных на госпитальном этапе имеют место признаки уже развившегося септического шока: падение артериального давления, олигурия, гипогликемия, судорожный синдром, потеря сознания, признаки ДВС-синдрома. Позже присоединяются признаки надпочечниковой недостаточности — синдрома Уотерхауза–Фридериксена — с последующей декомпенсацией витальных функций [16, 17, 49]. Более 50% пациентов не проживают более 2 сут [46]. Несмотря на проводимую интенсивную терапию, летальность при данном состоянии составляет от 50 [45] до 70% [17, 49].

Таким образом, в характеристике постспленэктомической инфекции принципиально общими признаками являются [16, 45, 49]:

- спленэктомия в анамнезе;
- внезапное начало гриппоподобных симптомов;
- молниеносное течение септического процесса с ранней декомпенсацией основных витальных функций;
- в большинстве случаев — отсутствие первичного септического очага;
- высокая степень бактериемии;
- устойчивость к адекватной терапии;
- высокая смертность.

К сожалению, до сих пор отсутствует единый алгоритм лечения пациентов с сепсисом после спленэктомии. В настоящее время в основе лечения постспленэктомической отягощенной инфекции, так же как и в

терапии сепсиса другой этиологии, лежит комплексный подход, однако результаты лечения состояния данного типа несколько хуже [17, 45, 49]. Согласно данным многих авторов, антибактериальную терапию обычно начинают с препаратов широкого спектра действия с последующей коррекцией по данным чувствительности полученных культур микроорганизмов. Часто используют такие комбинации антибиотиков, как цефтриаксон и ванкомицин, цефотаксим и гентамицин, иногда добавляют ципрофлоксацин, левофлоксацин, имипинем или пиперациллин тазобактам [49, 50]. Эффективность пассивной иммунизации при постспленэктомическом сепсисе является дискуссионной темой. Некоторые эксперты считают использование внутривенных иммуноглобулинов теоретически обоснованным компонентом терапии, однако результаты исследований с высокой степенью доказательности на данный момент отсутствуют [49].

Профилактика гипоспленизма

Учитывая сложность и неудовлетворительные результаты лечения постспленэктомической инфекции, одним из наиболее актуальных в медицинской литературе является вопрос о профилактике данного состояния. К сожалению, в Российской Федерации не существует утвержденных стандартов профилактики постспленэктомической инфекции.

К числу этих мероприятий прежде всего относится ознакомление пациентов с возможными осложнениями. Во многих зарубежных популяционных исследованиях [50–52] показано, что от 10 до 84% спленэктомированных лиц не знают о своей повышенной восприимчивости к тяжелым инфекциям и не осведомлены о рисках внезапного развития фатальных инфекционных осложнений. В некоторых странах существуют протоколы рекомендаций для людей, перенесших спленэктомию, где первым пунктом выделено просвещение пациентов в отношении профилактики и начальных признаков развития постспленэктомической инфекции, а также предупреждение стоматологам и парамедицинским специалистам о вероятных рисках их вмешательства [16, 50, 53].

Другой важной ветвью профилактической стратегии является вакцинация пациентов до или после удаления селезенки от наиболее частых возбудителей постспленэктомического сепсиса — *S. pneumoniae*, *H. influenzae* b, *N. meningitidis*. Этот вопрос является достаточно дискуссионным и имеет много вариантов решения [54–56]. D. J. Waghorn в статье, представляющей собой огромный уникальный материал, основанный на 77 случаях постспленэктомического сепсиса, пишет, что 31% людей, умерших от постспленэктомического сепсиса, были привиты от пневмококка [46]. Помимо общей значимости вакцинации, большое значение имеют сроки ее выполнения. Соответственно клиническим рекомендациям Департамента хирургического образования Регионального медицинского центра (Орlando, штат Флорида, США), иммунизацию целесообразно прово-

дить за 2 нед до плановой спленэктомии или через 2 нед после экстренной [56]. По данным M. Jockovich [55], при вакцинации до спленэктомии постспленэктомического сепсиса не встречается, при вакцинации после спленэктомии он встречается в 5% случаев, тогда как среди невакцинированных пациентов данное состояние развивается в 10,4% случаев. Различные центры контроля и профилактики заболеваний, комитеты стандартизации медицинской помощи рекомендуют различные сроки ревакцинации [17].

Наиболее спорной частью профилактических стандартов и рекомендаций является долгосрочная антибактериальная профилактика [50, 54, 56]. Большинство авторов рекомендуют ее пожизненно [50], некоторые — в течение первых 2 лет после операции [54, 56], другие придерживаются тактики наблюдения со стороны (stand by), когда антибиотики начинают принимать при первых признаках простудного заболевания (используется взрослыми пациентами) [54, 56].

Заключение

Подводя итоги литературного поиска по вопросу гипоспленизма и его профилактики, следует сказать, что данные о частоте развития постспленэктомического сепсиса в России отсутствуют, так же как и не существует однозначного единого алгоритма профилактики гипоспленизма. Не найдены данные о проведении катамнестических контрольных обследований детей в постспленэктомическом периоде (особенно после травматических повреждений). В мировой литературе материала в отношении систем оценки, шкал и категорий, определяющих степени гипоспленизма или риск развития постспленэктомического сепсиса, нет. Несмотря на большое число профилактических рекомендаций, доказательность эффективности вакцинации и тем более длительной антибактериальной профилактики достаточно трудна в силу низкой частоты постспленэктомического сепсиса, разнородности пациентов по возрасту, объему лечения, причинам спленэктомии и т.д. По мнению К.А. Апарцина, вакцинация и длительная антибактериальная терапия направлены лишь на предупреждение некоторых осложнений постспленэктомического гипоспленизма и не могут рассматриваться в качестве патогенетически обоснованных мер профилактики постспленэктомического сепсиса. По результатам его исследований можно предположить, что наиболее действенные методы профилактики — максимально возможная органосохраняющая операция или аутотрансплантация селезеночной ткани (в крайнем случае — культуры клеток селезенки).

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки исследования / конфликта интересов, о которых необходимо сообщить.

ЛИТЕРАТУРА

1. Филиппов Д.В. Современные методы диагностики и лечения закрытых изолированных повреждений селезенки у детей. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. СПб. 2011. 26 с.
2. Чанышев Б.Ф. Спленоз и мезентериальная лимфаденопатия как компенсаторные механизмы постспленэктомического синдрома при травматических повреждениях селезенки. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Уфа. 2011. 23 с.

3. Стручко Г.Ю. Морфофункциональное исследование тимуса и иммунобиохимических показателей крови после спленэктомии и иммунокоррекции. Автореф. дис. ... докт. мед. наук. Саранск. 2003. 23 с.
4. Sclafani S.J.A., Shaftan G.W., Scalea T.M. Non-operative salvage of computed tomography diagnosed splenic injuries: utilization of angiography for triage and embolization for hemostasis. *J. Trauma*. 1995; 39: 818–827.
5. Haan J.M., Bochicchio G.V., Kramer N. Non-operative management of blunt splenic injury: a 5 year experience. *J. Trauma*. 2005; 58: 492–498.
6. Dent D., Alsbroom G., Erickson B.A., Myers J., Wholey M., Stewart R. Blunt splenic injuries: high non-operative management rate can be achieved with selective embolization. *J. Trauma*. 2004; 56 (5): 1063–1067.
7. Zhan X.L., Ji Y., Wang Y.D. Laparoscopic splenectomy for hypersplenism secondary to liver cirrhosis and portal hypertension. *World J. Gastroenterology*. 2014; 20 (19): 794–800.
8. Xin Z., Qingguang L., Yingmin Y. Total laparoscopic versus open splenectomy and esophagogastric devascularization in the management of portal hypertension: a comparative study. *Digestive Surgery*. 2009; 26: 499–505.
9. Bo W., He-Shui W., Guo-Bin W., Kai-Xiong T. Laparoscopy splenectomy for massive splenomegaly. *J. Invest. Surg.* 2013; 26 (3): 154–161.
10. Héry G., Becmeur F., Méfat L., Kalfá D., Lutz L., Guys J.M., de Lagausie P. Laparoscopic partial splenectomy: indications and results of a multicenter retrospective study. *Surg. Endosc.* 2008; 22 (1): 45–49.
11. Makrin V., Avital S., White I., Sagie B., Szold A. Laparoscopic splenectomy for solitary splenic tumors. *Surgic. Endosc.* 2008; 22 (9): 2009–2012.
12. Walsh R.M., Brody F., Brown N. Laparoscopic splenectomy for lymphoproliferative disease. *Surg. Endosc.* 2004; 18 (2): 272–275.
13. Hollingsworth C.L., Rice H.E. Hereditary spherocytosis and partial splenectomy in children: review of surgical technique and the role of imaging. *Pediatr. Radiol.* 2010; 40 (7): 1177–1183.
14. Al-Salem A.H., Nasserulla Z. Splenectomy for Children with Thalassemia. *Am. J. Hematol.* 2003; 72: 94–98.
15. Rijcken E., Mees S.T., Bisping G., Krueger K., Bruewer M., Senninger N. Laparoscopic splenectomy for medically refractory immune thrombocytopenia (ITP): A retrospective cohort study on longtime response predicting factors based on consensus criteria. *Int. J. Surg.* 2014; 12 (12): 1428–1433.
16. Melles D.C., de Marie S. Prevention of infections in hyposplenic and asplenic patients: an update. *Neth. J. Med.* 2004; 62: 45–52.
17. Takehiro Okabayashi, Kazuhiro Hanazaki. Overwhelming postsplenectomy infection syndrome in adults — a clinically preventable disease. *World J. Gastroenterology*. 2008; 14 (2): 176–179.
18. Connell N.T., Brunner A.M., Kerr C.A., Schiffman F.J. Splenosis and sepsis. The born again spleen provides poor protection. *Virulence*. 2011; 2 (1): 4–11.
19. Eibl M. Immunological consequences of splenectomy. *Prog. Pediatr. Surg.* 1985; 18: 139–145.
20. Weintraub L.R. Splenectomy: who, when, and why? *Hospital practice*. 1994; 29: 27–34.
21. Dameshek W. Hyposplenism. *J. Am. Med. Assoc.* 1955; 157: 613.
22. William B.M., Thawani N., Sae-Tia S., Corazza G.R. Hyposplenism: a comprehensive review. Part II. Clinical manifestations, diagnosis and management. *Hematology*. 2007; 12: 89–98.
23. Sabatino A.D., Carsetti R., Corazza G.R. Post splenectomy and hyposplenic states. *Lancet*. 2011; 378: 86–97.
24. Апарцин К.А. Патогенетические механизмы развития послеоперационного гипоспленизма и способы его лечения. *Bull. Int. Sci. Surg. Assoc.* 2006; 1 (2): 11–12.
25. Лепехова С.А., Апарцин К.А., Прокопьев М.В. Воспалительное повреждение печени после аспленизации. *Инфекции в хирургии*. 2008; 6 (Прил. 1): 40–41.
26. Styrт В. Infection associated with asplenia: risks, mechanisms and prevention. *Am. J. Med.* 1990; 88: 33–42.
27. Yildiz A.E., Ariyurek M.O., Karcaaltincaba M. Splenic anomalies of shape, size, and location: pictorial essay. *Scientific World J.* 2013; Article ID 321810: 9.
28. Калинина Н.М., Кетлинский С.А., Оковитый С.В., Шулепин С.Н. Заболевания иммунной системы. Диагностика и фармакотерапия. М.: Эксмо. 2008. 496 с.
29. Григорьев Е.Г., Апарцин К.А., Белых Г.К. Хирургия поврежденных селезенки. Иркутск: ИГМУ. 1996. 216 с.
30. Москвичев Е.В., Меркулова Л.М., Стручко Г.Ю. Морфология и иммуногистохимический фенотип тимуса при вторичной иммунной недостаточности после спленэктомии. *Электронный научный журнал. Современные проблемы науки и образования*. 2012; 3. URL: <http://www.science-education.ru/103-r6311> (дата обращения: 04.08.2015).
31. Органосохраняющая хирургия селезенки. Под ред. Е.Г. Григорьева, К.А. Апарцина. Новосибирск: Наука. 2001. 400 с.
32. Lockwood C.M. Immunological functions of the spleen. *Clin. Haematol.* 1983; 12: 449–465.
33. Spirer Z., Zakuth V., Diamant S., Mondorf W., Stefanescu T., Stabinski Y., Fridkin M. Decreased tuftsin concentrations in patients who have undergone splenectomy. *Brit. Med. J.* 1977; 2 (6102): 1574–1576.
34. Ali Y.M., Lynch N.J., Rajakumar K., Kadioglu A., Stover C.M., Schwaebler W.J. The lectin path way of complement activation is a critical component of the innate immune response to pneumococcal infection. *PLoS Pathogens*. 2012; 8 (7): 1–11.
35. Mendel L.B., Holmes C. Jackson. On uric acid formation after splenectomy. *Am. J. Physiol.* 1900; 4: 163–169.
36. Farrell R.J., Peppercorn M.A. Ulcerative colitis. *Lancet*. 2002; 359: 331–341.
37. Bradshaw P.H., Thomas C.G., Jr. Partial splenectomy and overwhelming infection in rats. *J. Surg. Res.* 1982; 32: 173–175.
38. Wolber F.M., Leonard E., Michael S., Orschell-Traycoff C.M., Yoder M.C., Srour E.F. Roles of spleen and liver in development of the murine hematopoietic system. *Exp. Hematol.* 2002; 30 (9): 1010–1019.
39. Малов А.Г., Алексеев С.В., Платонов А.А., Алексеев В.С. Тромбоцитоз после спленэктомии у детей. *Вестник хирургии им. И.И. Грекова*. 2008; 4: 53–55.
40. Национальное общество детских гематологов, онкологов. Национальное общество гематологов. Федеральные клинические рекомендации по диагностике и лечению наследственного сфероцитоза. М.: Медиа Медика. 2013. 104 с.
41. Киричук В.Ф., Масляков В.В., Барсуков В.Г. Изменения реологических свойств крови после спленэктомии в ближайшем послеоперационном периоде. *Анналы хирургии*. 2007; 1: 36–38.
42. Барсуков В.Г. Реологические свойства крови в ближайшем послеоперационном периоде при травме селезенки. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Саранск. 2009. 44 с.
43. Corazza G.R., Ginaldi L., Zoli G., Frisoni M., Lalli G., Gasbarrini G., Quaglino D. Howell–Jolly body counting as a measure of splenic function. A reassessment. *Clin. Lab. Haematol.* 1990; 12 (3): 269–275.

44. King H., Schumacker H.B. Splenic studies. Susceptibility to infection after splenectomy performed in infancy. *Ann. Surg.* 1952; 136: 239–242.
45. Hansen K., Singer D.B. Asplenic hyposplenic overwhelming sepsis: Postsplenectomy sepsis revisited. *Ped. Dev. Path.* 2001; 4: 105–121.
46. Waghorn D.J. Overwhelming infection in asplenic patients: current best practice preventive measures are not being followed. *J. Clin. Pathol.* 2001; 54: 214–218.
47. Sandra L., Moffett P.C. Overwhelming postsplenectomy infection: Managing patients at risk. *J. Am. Acad. Physician Assistants.* 2009; 22 (7): 36–40.
48. Uranüs S., Pfeifer J. Non-operative management of blunt splenic injury. *World J. Surg.* 2001; 25: 1405–1407.
49. Morgan T.L., Tomich E.B. Overwhelming. Post splenectomy infection (OPSI). A Case Report and Review of the Literature. *J. Emerg. Med.* 2012; 43 (4): 758–763.
50. Livingston C.D., Levine B.A., Sirinek K.R. Preservation of splenic tissue prevents postsplenectomy pulmonary sepsis following bacterial challenge. *J. Surg. Res.* 1982; 33: 356–361.
51. Brigden M.L., Pattullo A.L., Brown G. Pneumococcal vaccine administration associated with splenectomy: the need for improved education, documentation, and the use of a practical checklist. *Am. J. Hematol.* 2000; 65: 25–29.
52. Kinnersley P., Wilkinson E., Srinivasan J. Pneumococcal vaccination after splenectomy: survey of hospital and primary care records. *BMJ.* 1993; 307 (6916): 1398–1399.
53. White K.S., Covington D., Churchill P., Maxwell J.G., Norman K.S., Clancy T.V. Patient awareness of health precautions after splenectomy. *Am. J. Infect Control.* 1991; 19: 36–41.
54. Hegarty P.K., Tan B., O’Sullivan R., Cronin C.C., Brady M.P. Prevention of postsplenectomy sepsis: how much do patients know? *Hematol. J.* 2000; 1: 357–359.
55. Jockovich M., Mendenhall N.P., Sombeck M.D., Talbert J.L., Copeland E.M., 3rd, Bland K.I. Long term complications of laparotomy in Hodgkin’s disease. *Ann. Surg.* 1994; 219: 615–621.
56. Davies J.M., Lewis M.P., Wimperis J., Rafi I., Ladhani S., Bolton-Maggs P.H. Review of guidelines for the prevention and treatment of infection in patients with an absent or dysfunctional spleen: Prepared on behalf of the British Committee for Standards in Haematology by a Working Party of the Haemato-Oncology Task Force. *Brit. J. Haematol.* 2011; 155 (3): 308–317.

418

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Морозов Дмитрий Анатольевич, доктор медицинских наук, профессор, директор НИИ детской хирургии НЦЗД, заведующий кафедрой детской хирургии и урологии-андрологии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова
Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, **тел.:** +7 (499) 134-13-17, **e-mail:** damorozov@list.ru

Клюев Сергей Александрович, врач-детский хирург, аспирант НЦЗД
Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, **e-mail:** sergey1klyuev@yandex.ru

DOI: 10.15690/vramn.v70.i4.1407

Л.А. Осипова¹, Л.М. Кузенкова^{1,2}, Л.С. Намазова-Баранова^{1,2,3},
А.К. Геворкян^{1,2}, Т.В. Подклетнова¹, Н.Д. Вашакмадзе^{1,3}

¹ Научный центр здоровья детей, Москва, Российская Федерация

² Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Москва, Российская Федерация

³ Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова,
Москва, Российская Федерация

Синдром Санфилиппо

Синдром Санфилиппо (мукополисахаридоз III типа) — заболевание, относящееся к группе лизосомных болезней накопления, обусловленное нарушением катаболизма гепарансульфата. Мукополисахаридоз III типа — наиболее распространенный среди всех мукополисахаридозов. Патогенетической основой синдрома является накопление продуктов аномального метаболизма в центральной нервной системе. Ведущие клинические признаки заболевания заключаются в нарушении поведения и прогрессирующем регрессе психического развития с исходом в деменцию. Отсутствие выраженных соматических проявлений, наличие легких и атипичных форм течения приводят к трудностям дифференциальной диагностики с другими формами задержки речевого и психического развития, синдромом дефицита внимания и гиперактивности и заболеваниями из группы аутистического спектра. Для некоторых пациентов с синдромом Санфилиппо характерны относительно низкие значения экскретируемых гликозаминогликанов, в связи с чем возможно получение ложноотрицательных результатов исследования мочи на гиперэкскрецию данных метаболитов. Точный диагноз устанавливают при анализе содержания фермента в культуре кожных фибробластов или лейкоцитах крови. Эффективного лечения мукополисахаридоза III типа в настоящее время не существует, однако продолжающиеся исследования генной, субстратредуцирующей и интратекальной ферментозаместительной терапии позволяют надеяться на возможность получения в ближайшем будущем метода, способного предотвратить прогрессирующее поражение центральной нервной системы.

Ключевые слова: синдром Санфилиппо, дегенеративное поражение центральной нервной системы, нарушения поведения и сна, мультидисциплинарное наблюдение.

(Для цитирования: Осипова Л.А., Кузенкова Л.М., Намазова-Баранова Л.С., Геворкян А.К., Подклетнова Т.В., Вашакмадзе Н.Д. Синдром Санфилиппо. *Вестник РАМН.* 2015; 70 (4): 419–427. Doi: 10.15690/vramn.v70.i4.1407)

419

Введение

Мукополисахаридоз III типа (синдром Санфилиппо, МПС III) — аутосомно-рецессивное наследственное заболевание, относящееся к группе лизосомных болезней накопления и обусловленное дефицитом одного из ферментов, участвующих в последовательном расщеплении гепарансульфата [1–3].

Эпидемиология

Синдром Санфилиппо является наиболее распространенным синдромом среди всех мукополисахаридозов (МПС), его частота составляет от 0,28 до 4,1 на 100 000 живорожденных [4–6]. В странах Северо-Западной Европы наиболее распространен синдром Санфилиппо А, тогда как в странах Юго-Восточной части континента

Л.А. Osipova¹, L.M. Kuzenkova^{1,2}, L.S. Namazova-Baranova^{1,2,3}, A.K. Gevorkyan^{1,2},
T.V. Podkletnova¹, N.D. Vashakmadze^{1,3}

¹ Scientific Centre of Children's Health, Moscow, Russian Federation

² Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation

³ N.I. Pirogov Russian National Medical Research University, Moscow, Russian Federation

Sanfilippo Syndrome

Sanfilippo syndrome (mucopolysaccharidosis type III) is a lysosomal disorder caused by a defect in the catabolism of heparan sulfate. Mucopolysaccharidosis type III is the most common type of all mucopolysaccharidoses. The pathogenic basis of the disease consists of the storage of undegraded substrate in the central nervous system. Progressive cognitive decline resulting in dementia and behavioural abnormalities are the main clinical characteristics of Sanfilippo syndrome. Mucopolysaccharidosis type III may be misdiagnosed as other forms of developmental delay, attention deficit/hyperactivity disorder and autistic spectrum disorders because of lack of somatic symptoms, presence of mild and atypical forms of the disease. Patients with Sanfilippo syndrome may have comparatively low urinary glycosaminoglycans levels resulting in false negative urinary assay. Definitive diagnosis is made by enzyme assay on leucocytes and cultured fibroblasts. There is currently no effective treatment of mucopolysaccharidosis type III, though ongoing researches of gene, substrate reduction and intrathecal enzyme replacement therapies expect getting curative method to alter devastating damage of central nervous system in near future.

Key words: Sanfilippo syndrome, neurodegenerative disease, behavioral and sleep disturbances, multidisciplinary surveillance.

(For citation: Osipova L.A., Kuzenkova L.M., Namazova-Baranova L.S., Gevorkyan A.K., Podkletnova T.V., Vashakmadze N.D. Sanfilippo Syndrome. *Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2015; 70 (4): 419–427. Doi: 10.15690/vramn.v70.i4.1407)

чаще встречается синдром Санфилиппо В [3, 7, 8]. Синдром Санфилиппо С регистрируют в 5–6 раз реже, чем МПС IIIВ. Синдром Санфилиппо D встречается крайне редко [8].

Истинная распространенность заболевания, вероятно, недооценивается в связи с большой фенотипической вариабельностью и легкостью соматических проявлений [4].

Этиология

Заболевание включает в себя 4 отдельных подтипа, каждый из которых обусловлен дефицитом одного из ферментов, участвующих в деградации гепарансульфата: гепаран N-сульфатазы (сульфамидазы) при МПС IIIА, альфа-N-ацетилглюкозаминидазы — при МПС IIIВ, ацетил-КоА: α -глюкозаминид ацетилтрансферазы — при МПС IIIС и N-ацетилглюкозамин 6-сульфатазы при — МПС IIIД [1, 2, 9].

Ген, кодирующий гепаран N-сульфатазу (*SGSH*), протяженностью около 11 kb, включает 8 экзонов, локализуется на хромосоме 17 (17q25.3) и отвечает за синтез белка, состоящего из 502 аминокислот [1, 2, 4]. К настоящему времени в гене сульфамидазы описано 140 мутаций, приводящих к развитию синдрома Санфилиппо А [10]. Большинство изменений относится к миссенс-мутациям, описано также несколько нонсенс-мутаций, мелких делеций, инсерций, 2 мутации сайта сплайсинга и 1 крупная делеция [4, 10, 11]. В некоторых популяциях описаны частые мутации: *R74C* — в Польше, *R245H* — в Австрии, Германии и Нидерландах, *S66W* — в Италии, *1091delC* — в Испании. Подобное географическое распределение отражает повышение частоты определенной мутации в генетическом изоляте, так называемый эффект основателя [2]. Установление генофенотипических корреляций затруднено в связи с наличием нескольких полиморфизмов, роль которых в модификации резидуальной активности фермента не изучена [11, 12].

Ген, кодирующий α -N-ацетилглюкозаминидазу (*NA-GLU*), имеет протяженность 8,5 kb, содержит 6 экзонов, локализуется на хромосоме 17 (17q21) и отвечает за синтез полипептида, состоящего из 743 аминокислот [1, 2]. К настоящему времени в гене описано 153 мутации, наибольшая часть которых является миссенс-мутациями, однако также описаны нонсенс-мутации, делеции, инсерции и мутации сайта сплайсинга [10, 13]. Большинство мутаций — частные и отражают широкую клиническую гетерогенность данного редкого типа МПС [4, 14, 15]. Мутация *p. R297X* часто встречается у пациентов с МПС IIIВ и в гомозиготном состоянии приводит к формированию тяжелой формы заболевания [11, 15]. Однако суждение о наличии генофенотипических корреляций затруднено в связи с наличием большого числа полиморфизмов гена [4, 11].

Ген, кодирующий ацетил-КоА: α -глюкозаминид N-ацетилтрансферазу (*HGSNAT*), локализуется на хромосоме 8 (8p11.1) и кодирует белок, состоящий из 635 аминокислот [4, 9]. В гене описано 64 мутации, относящихся к миссенс-мутациям, мутациям сайта сплайсинга, делециям, инсерциям и нонсенс-мутациям [10]. Две миссенс-мутации — *p. R344C* и *p. S518F* — являются частыми среди пробандов голландского происхождения [16].

Ген, кодирующий N-ацетилглюкозамин-6-сульфатазу (*GNS*), находится на хромосоме 12 (12q14) и кодирует полипептид, состоящий из 552 аминокислот [2, 17]. В гене описано 23 мутации, относящиеся к миссенс-мутаци-

ям, мутациям сайта сплайсинга, делециям, инсерциям и сложным перестройкам [10].

Патогенез

Дефицит лизосомных ферментов, ответственных за развитие различных подтипов синдрома Санфилиппо, приводит к накоплению фрагментов частично деградированного гепарансульфата в лизосомах клеток и его экскреции с мочой [1, 2, 18].

Несмотря на то, что механизмы патогенеза лизосомных болезней накопления до конца не изучены, не вызывает сомнения тот факт, что накопление продуктов аномального метаболизма является первичным фактором каскада дальнейших патогенетических реакций [9, 19].

Накопление субстрата в нейронах чаще всего локализуется в перинуклеарных областях [18]. По данным Ceuterick и соавт., при МПС IIIА накопление субстрата в вакуолях лизосом впервые происходит в клетках центральной нервной системы во II триместре внутриутробного развития [20].

В головном мозге экспериментальных животных моделей с МПС III было выявлено накопление сульфатированного гепарансульфата, прогрессирующее увеличение размера лизосом и образование в коре головного мозга дистрофированных аксонов (так называемых аксональных сфероидов), представляющих собой фокальные утолщения нейрональных отростков, содержащие митохондрии и множественные везикулы, сходные по структуре с аутофагосомами. Характерно также истончение миелинового слоя дистрофированных аксонов [18, 21].

В ответ на накопление субстрата в центральной нервной системе и первичное нейрональное повреждение происходит активация и пролиферация микроглиальных клеток, которые совместно с макрофагами начинают продуцировать реактивные кислородные радикалы, оксид азота и провоспалительные цитокины [2, 9, 18]. Окислительные нарушения запускают дальнейшие механизмы повреждения клеток головного мозга, оказывая негативное влияние на целостность синаптических связей и таким образом внося вклад в развитие нейродегенеративного процесса [9, 22, 23].

Кроме того, накопление первичного субстрата приводит к нарушению функции лизосом и, соответственно, накоплению вторичных продуктов аномального метаболизма, а именно GM2, GM3, GD3 ганглиозидов и эфиров холестерина [2, 18, 21]. Предполагается, что данные липиды ответственны за образование полосатых телец (*zebra bodies*), напоминающих лизосомные включения при сфинголипидозах [1–3]. Наиболее выраженное накопление GM2-ганглиозидов у экспериментальных мышинных моделей МПС III было выявлено в коре головного мозга, миндалевидном теле, отвечающем за функции памяти и страха, латеральном ядре перекорочки мозга, связанном с контролем локомоторных функций и стрессом, таламусе и гипоталамусе, направляющими и обрабатывающими импульсы моторной коры, а также в преоптической области, отвечающей за регуляцию циркадных ритмов. Предполагается, что именно данные топографические особенности накопления GM2-ганглиозидов обуславливают поведенческие нарушения, включающие гиперактивность, уменьшение чувства страха и изменение циркадных ритмов у пациентов и экспериментальных животных моделей с МПС IIIА и IIIВ [21, 24, 25].

История изучения синдрома

Синдром Санфилиппо назван по имени американского педиатра Сильвестра Санфилиппо, описавшего совместно с коллегами в 1963 г. пациента с регрессом когнитивных способностей и нарушением поведения. В 1969 г. была опубликована классификация мукополисахаридозов, основанная на паттерне экскреции гликозаминогликанов (ГАГ) с мочой [2]. Сообщение о наличии избыточных отложений сульфатированного мукополисахарида в культивированных фибробластах кожи пациентов с синдромом Санфилиппо и предположение о дефиците «корректирующего» белкового фактора, лежащего в основе данного явления, относятся к 1971 г. [26]. В 1972 г. Kresse и Neufeld, основываясь на различии «корректирующих» факторов, сообщили, что синдром Санфилиппо не является единой генетической нозологией [27]. Впоследствии было продемонстрировано, что «корректирующие» факторы представляют собой лизосомные ферменты, необходимые для деградации гепарансульфата. В дальнейшем были выделены и секвенированы гены, ответственные за развитие всех подтипов синдрома Санфилиппо. Число описанных мутаций в различных генах МПС III продолжает увеличиваться с каждым годом [2, 4].

Клиническая картина

Основной клинической картины МПС III является дегенеративное поражение центральной нервной системы, проявляющееся в прогрессирующем нарушении психического развития с исходом в деменцию [9, 28, 29]. Соматические симптомы данного типа МПС выражены в меньшей, чем при других мукополисахаридозах, степени. Подобное диспропорциональное поражение центральной нервной системы является уникальным свойством синдрома Санфилиппо [1, 30, 31].

Как и для других лизосомных болезней накопления, для синдрома Санфилиппо характерен широкий спектр тяжести заболевания — от дебюта на первом году жизни до манифестации на 3–4-м десятилетии [2].

В связи с выраженной клинической гетерогенностью каждого подтипа МПС III, дифференциация данных синдромов на основании клинических данных представляется чрезвычайно сложной [1, 29, 32]. В целом следует отметить, что МПС IIIA является наиболее тяжелой формой с более ранним дебютом, более быстрым прогрессированием симптомов и меньшей продолжительностью жизни, в то время как МПС IIIB представлен преимущественно легким фенотипом [1, 3, 14]. В исследовании, проведенном в Нидерландах, продемонстрировано, что у 83% пациентов с синдромом Санфилиппо А деменция развивалась до шестилетнего возраста, а при МПС IIIB — лишь на 3-м и 4-м десятилетии жизни [1, 3]. Тем не менее описаны пациенты с легким течением МПС IIIA и более тяжелые формы заболевания при МПС IIIB. Кроме того, существуют случаи возникновения тяжелых и легких форм заболевания в одной семье [1, 12, 33].

Van Nove и соавт. в 2003 г. описали пациента в возрасте 45 лет с синдромом Санфилиппо А, клиническая картина болезни которого была представлена кардиомиопатией и отсутствием неврологического дефицита [33]. Мутация *R206P*, приводящая к снижению активности сульфамидазы до 8% от нормы, выявлена у пациентки в возрасте 20 лет с повышенной экскрецией гепарансульфата и прогрессирующей умственной отсталостью. Данная боль-

ная находилась под наблюдением с шестилетнего возраста, когда у нее впервые были диагностированы задержка роста и интеллектуальная недостаточность [12].

Особенности течения перинатального периода

Некоторые исследователи указывают на высокую частоту осложнений перинатального периода у больных с МПС IIIA. Согласно исследованию Меуег и соавт., у матерей данных пациентов установлена высокая частота (29%) самопроизвольных аборт [34]. По данным Vuhrman и соавт., наиболее частым осложнением перинатального периода при МПС IIIA является оперативное родоразрешение, связанное со слабостью родовой деятельности, макроцефалией и ягодичным предлежанием, что, по мнению авторов, отражает антенатальный дебют патогенетического процесса. В том же исследовании продемонстрировано, что осложнения периода новорожденности в основном были связаны с патологией дыхательной системы и представлены пневмониями, респираторным дистресс-синдромом, тахипноэ, бронхитами, легочной гипертензией. Кроме того, описаны проявления неонатальной желтухи и нарушения вскармливания [5]. Однако все вышеприведенные данные требуют аккуратной интерпретации и дальнейшего изучения [31].

Соматические проявления

Несмотря на общепринятую точку зрения о незначительной выраженности соматических проявлений при синдроме Санфилиппо, в последнее время опубликовано большое число сообщений, свидетельствующих о частых и значительных экстраневральных симптомах при МПС IIIA [5, 31, 34].

Дисморфичность черт лица, практически не выраженная в первые годы жизни, с возрастом становится более заметной и отмечается практически у всех пациентов, однако не достигает значительной степени [1, 4, 32]. Характерными особенностями фенотипа являются долихоцефалическая форма головы, узкий лоб, широкие и густые брови, синофриз, темные ресницы, сухость и жесткость волосяного покрова, гипертрихоз, утолщение кожного покрова, выступающий фильтр, приподнятая верхняя и утолщенная нижняя губа, мясистый кончик носа, кариес зубов. Макроцефалия обычно встречается у детей, в то время как у большинства пациентов старшего возраста окружность головы не увеличена [4, 16, 35].

Скелетные проявления при синдроме Санфилиппо выражены в меньшей степени, чем при других мукополисахаридозах, и обычно развиваются вслед за симптомами поражения нервной системы [3, 28, 32]. Рентгенологические изменения состоят в утолщении костей свода черепа, нарушении пневматизации параназальных синусов и ячеек сосцевидного отростка, овоидной деформации поясничных позвонков и редко встречающейся минимальной клювовидной их деформации, уменьшении высоты крыльев подвздошных костей, деформации вертлужных впадин, недоразвитии и признаках остеонекроза головок бедренных костей с возможным присоединением болевого синдрома. Признаки кифоза минимальны или отсутствуют [3, 36, 37], описано развитие сколиоза, поясничного гиперлордоза, вальгусной деформации коленных суставов, варусной деформации стоп [31, 37]. В первые годы жизни возможно ускорение роста, однако после десятилетнего возраста отмечается его остановка [3]. Конtrakтуры встречаются редко, локализуются в основном в локтевых суставах и выражены в незначительной степени [4, 30]. В литературе представлены единичные описания карпального туннельного синдрома и стенозирующего

теносиновита большого пальца кисти у пациентов с синдромом Санфилиппо [37, 38].

Для пациентов раннего возраста характерны частые инфекции дыхательных путей, отиты. С возрастом данная симптоматика регрессирует [4, 5, 32].

Сердечно-сосудистая система поражается редко. Возможно развитие недостаточности и стеноза митрального клапана. У пациентов с МПС ПИВ описано сочетание гипертрофии миокарда левого желудочка и стеноза аортального клапана, а также развитие фибрилляции предсердий в возрасте старше 50 лет [8, 14].

Гепатомегалия имеет место примерно у 50% пациентов с синдромом Санфилиппо, спленомегалия встречается редко [14, 16, 30]. Описано развитие гипертрансаминемии у пациента с МПС ПИА [35]. Возможно также возникновение пупочных и паховых грыж.

Диарея может быть рецидивирующей, реже — персистирующей, иногда достаточно выраженной на ранних стадиях заболевания [1–3]. Этиология данного симптома неясна [1, 2, 32]. С возрастом проявления диареи становятся менее выраженными. У пациентов старшего возраста чаще встречаются запоры [4, 14].

Для многих пациентов характерно преждевременное половое развитие центрального генеза [1, 3, 39].

422 Дебют заболевания

Дебют клинической симптоматики на фоне нормального развития обычно относится к 2–6 годам жизни, однако возможно более раннее или позднее начало заболевания [1, 40, 41]. По данным Vuhgman и соавт., дебют клинических проявлений при МПС ПИА до 12 мес жизни отмечен у 40%, к 2 годам жизни клиническая симптоматика заболевания имела место у 74% пациентов [5]. По данным других авторов, раннее развитие 75% пациентов с МПС ПИА не соответствовало норме: у 40,6% отмечалась задержка речевого развития, у 7,2% — задержка моторного развития, а для 26% было характерно их сочетание [34]. По результатам исследования Меуер и соавт., при МПС ПИА первыми симптомами, обращавшими на себя внимание родителей, были нарушения поведения и сна [34]. По данным Vuhgman и соавт., манифестными симптомами заболевания были задержка речевого развития (48% случаев), дисморфичность черт лица (22%), тугоухость (20%), задержка моторного развития (13%), сочетанная задержка психического и речевого развития (11%). При этом нарушения поведения в дебюте заболевания отмечены лишь у 9% пациентов, соматические проявления — у 7%, инфекционные болезни среднего уха — у 4% [5]. По данным исследования, проведенного Valstar и соавт., у пациентов с МПС ПИВ дебют заболевания в 95% случаев заключался в задержке психоречевого развития, часто в сочетании с нарушениями поведения, у 2 пациентов первым симптомом стала гепатомегалия [14].

Постановка диагноза после дебюта клинической симптоматики может значительно затягиваться в связи с мягкими соматическими и радиологическими проявлениями и часто встречающимися ложноотрицательными результатами скринингового теста на экскрецию ГАГ мочи [1]. Средний возраст установления диагноза при синдроме Санфилиппо А, по данным Vuhgman и соавт., составляет 35 мес жизни, а временной промежуток от дебюта клинической симптоматики до постановки диагноза — 24 мес [5]. При МПС ПИВ средний возраст постановки диагноза, по данным Valstar и соавт., варьирует от 1 до 66 (в среднем 13) лет, а у пациентов с легким фенотипом болезни он равен 28 годам [14]. По данным других авторов, временной промежуток от появления первых клинических симптомов до по-

становки диагноза при различных типах МПС ПИ составляет, в зависимости от тяжести течения заболевания, от 1,5 до 9 лет [14, 16, 30]. Описаны случаи поздней диагностики заболевания на 6-м и даже 8-м десятилетии жизни [41].

Течение нейродегенеративного процесса

Принято выделять 3 фазы течения тяжелого фенотипа заболевания [4, 28]. Однако скорость регресса интеллектуальных функций варьирует в значительной степени, и течение патологического процесса не всегда соответствует описанному паттерну [16, 29, 34].

В первой (I) фазе, относящейся к возрасту 1–4 лет, обычно до постановки диагноза отмечается задержка развития, преимущественно речевого. У некоторых пациентов при сурдологическом обследовании диагностируют снижение слуха, которым часто и объясняют клиническую симптоматику [28, 30]. Некоторые пациенты никогда не приобретают навыков речи [32].

Во второй (II) фазе заболевания, начинающейся в возрасте 3–4 лет, в клинической картине доминируют нарушения сна, поведения, регресс когнитивных функций [6, 28]. Максимальный уровень развития, достигаемый пациентами, может соответствовать 3,5–4 годам. С возраста 4–6 лет отмечается утрата приобретенных навыков [29, 34]. Регресс речевого развития обычно предшествует регрессу развития психического. Характерно более длительное сохранение рецептивного компонента речи по сравнению с экспрессивным, и адаптивных навыков по сравнению с когнитивными функциями [1, 5, 32]. Потеря моторных навыков следует за утратой когнитивных функций [4, 16, 35].

Характерные для синдрома нарушения поведения представлены снижением концентрации внимания, моторной расторможенностью, импульсивностью, физической агрессией, деструктивным поведением, вспышками раздражения, сепарационной тревожностью, приступами смеха или плача, персеверативным жеванием, нарушением формирования навыков контроля за функциями тазовых органов, аутистическими чертами поведения [6, 29, 42]. Аутистические черты поведения у пациентов с ранним дебютом МПС ПИА обычно проявляются в возрасте от 3 до 4 лет и заключаются в недостаточности коммуникативных и социальных навыков, в то время как стереотипное поведение и ограничение интересов для данных пациентов не характерны. Согласно Rumsey и соавт., подобный дебют аутистических проявлений, отражающий прогрессирование нейродегенеративного процесса, не специфичен для других нейронопатических типов МПС [42]. По данным Potegal и соавт., для поведения пациентов с МПС ПИА характерна тенденция к помещению различных предметов в рот (orality), непрерывное «исследование» окружающих предметов, отсутствие страха, значительное уменьшение эмпатии и взаимодействия с родителями. Совокупность данных симптомов, по мнению авторов, напоминает проявления синдрома Клювера–Бюси, связанного с нарушением функции миндалевидного тела, что подтверждается результатами волюметрического анализа снимков магнитно-резонансной томографии пациентов, демонстрирующими более быстрый темп редукции объема миндалевидного тела по сравнению с редукцией объема гиппокампов у пациентов с МПС ПИА [43].

Глубокая умственная отсталость и нарушение поведения в сочетании с сохранными двигательными функциями у пациентов до десятилетнего возраста во второй стадии болезни значительно затрудняют все терапевтические вмешательства [1–3].

Любые изменения окружающей обстановки могут привести к усилению поведенческих нарушений и проявлению аутистических черт [29].

Нарушения сна развиваются у 72–96% пациентов и включают в себя затруднения при засыпании, ранние пробуждения, пробуждения во время ночного сна, уменьшение продолжительности ночного сна [44, 45]. Возможны также нарушения поведения в ночное время в виде жевания постельного белья, плача, пения или смеха, двигательной расторможенности. Для некоторых пациентов характерно нарушение циркадных ритмов в виде отсутствия сна в течение всей ночи, увеличения продолжительности дневного сна [5, 31, 44]. По данным полисомнографии обнаруживают уменьшение общей продолжительности ночного сна, фазы медленного сна, REM-сна и увеличение продолжительности дневного сна [45]. Средний возраст дебюта нарушений сна, по данным Fraser и соавт., относится к 3,8, по данным Mahon и соавт. — к 2 годам жизни [44, 46]. Родителями пациентов отмечено наличие взаимосвязи между нарушениями ночного сна, дневной сонливостью и агрессивным поведением [46].

Третья (III) фаза болезни, обычно начинающаяся после 10 лет жизни, связана с продолжающейся потерей навыков, появлением бульбарных нарушений, спастичности и медленным прогрессированием неврологической симптоматики вплоть до развития вегетативного состояния [4, 28, 30]. Для третьей фазы характерен регресс поведенческих нарушений [6, 30]. Пациенты с МПС IIIA обычно полностью утрачивают навык вербальной коммуникации в возрасте до 10 лет, пациенты с тяжелой формой МПС IIIB — в среднем к 7,5, а пациенты с МПС IIIC — к 15 годам жизни [14, 16, 34].

Двигательные нарушения дебютируют неустойчивостью походки, частыми падениями и моторной неловкостью рук. Прогрессирующее поражение суставов в сочетании с нарастающей спастичностью и снижением мышечной силы приводит сначала к двигательным нарушениям, а затем к полной обездвиженности [2, 3, 32]. Дети с МПС IIIA теряют способность к самостоятельному передвижению в среднем подростковом возрасте, при тяжелом течении МПС IIIB — приблизительно к 12 годам [14, 34].

Судорожный синдром характерен для большинства пациентов старшего возраста во II–III фазе заболевания. Описана аггравация приступов при уменьшении продолжительности ночного сна [1, 2, 44].

Пациенты обычно умирают в конце 2-го — начале 3-го десятилетия жизни на фоне течения инфекционного респираторного заболевания [4, 9, 40].

Легкий тип течения синдрома Санфилиппо

В последнее время увеличивается число сообщений о легкой форме МПС III [14, 29, 41]. У пациентов с легким типом течения заболевания, в особенности у больных с МПС IIIB, возможна стабилизация интеллектуальной недостаточности, продолжающаяся в течение нескольких лет, вплоть до достижения ими взрослого возраста. Для данных больных характерно длительное сохранение моторных функций и большая продолжительность жизни, достигающая 40–60 лет [14, 29, 30]. Максимальный уровень интеллектуального развития пациентов с легкой формой заболевания, по данным исследования, проведенного Valstar и соавт., соответствует 10 годам [29]. Возраст потери речевых навыков для больных с легким фенотипом МПС IIIB варьирует от 8 до 68 лет и в среднем составляет 35 лет [14]. Способность к самостоятельной

ходьбе у данных пациентов может сохраняться в среднем до 42,5 лет жизни, а у пациентов с МПС IIIC — до 20–30 лет жизни. Средняя продолжительность жизни при МПС IIIC составляет 34, при МПС IIIB — 43,5 года [6, 14, 16].

Данные нейровизуализации

По данным МРТ головного мозга у больных с синдромом Санфилиппо могут быть выявлены следующие изменения: преимущественно корковая или диффузная атрофия, расширение желудочков головного мозга, диффузные изменения сигнала от белого вещества головного мозга, расширение пространств Вирхова–Робина, атрофия мозолистого тела, *mega cisterna magna*, утолщение костей свода черепа [38, 47, 48]. У двух sibсов с МПС IIIB описана гипointенсивность базальных ганглиев (бледного шара, подушки таламуса, черного вещества, красного и хвостатого ядер) в режиме T₂, предполагающая избыточное накопление железа [49].

Поражение органов чувств

Помутнение роговицы практически никогда не выявляется даже при исследовании в щелевой лампе. Однако описаны пигментная дегенерация сетчатки и атрофия зрительных нервов [3].

Для всех пациентов с тяжелым и среднетяжелым течением заболевания характерна прогрессирующая нейро-сенсорная тугоухость [32].

Дифференциальная диагностика

Дифференциальная диагностика синдрома Санфилиппо и других мукополисахаридозов возможна на основании клинического фенотипа. Однако диагноз, основывающийся лишь на клинических симптомах, может оказаться ошибочным [2].

Легкие и атипичные клинические фенотипы, а также ранние стадии течения классического фенотипа сложно дифференцировать с другими формами задержки речевого и психического развития, синдромом дефицита внимания и гиперактивности и заболеваниями из группы аутистического спектра [30, 42, 49]. Следует также отметить, что отсутствие характерного лицевого дисморфизма и соматических черт не должно служить причиной исключения МПС III из дифференциального диагноза [4, 30, 41]. В связи с этим, учитывая неинвазивность и доступность метода, рекомендуется проведение анализа экскреции ГАГ мочи всем пациентам с задержкой психического и речевого развития, особенно сочетающихся с нарушениями поведения. Весьма вероятно, что многие случаи МПС III в отсутствие неонатального скрининга так и остаются недиагностированными [14, 30].

Лабораторные методы подтверждения диагноза

В связи с относительно низкими значениями экскретируемых ГАГ у некоторых пациентов с МПС III возможно получение ложноотрицательных результатов исследования мочи на гиперэкскрецию мукополисахаридов [2, 30, 32]. Даже чувствительность наиболее точного количественного метода определения общего уровня ГАГ мочи с использованием диметиленового синего (DMB) не достигает 100% [4, 50]. Кроме того, ре-

зультаты количественных методов исследования не позволяют предположить тип мукополисахаридоза, в связи с чем для установления предположительного диагноза рекомендовано применение методов электрофореза или тонкослойной хроматографии, позволяющих определить паттерн экскреции ГАГ [2, 30].

Точный диагноз устанавливают при проведении анализа активности фермента в культуре кожных фибробластов или лейкоцитов крови, а при МПС IIIВ — также в плазме крови [3, 28, 32]. В случае дефицита сульфамидазы или глюкозамин-6-сульфатазы для исключения множественной сульфатазной недостаточности необходимо определить активность еще одного фермента, относящегося к классу сульфатаз. Следует отметить, что показатель активности фермента не может быть использован в качестве прогностического фактора тяжести течения заболевания ввиду отсутствия четкой корреляции остаточной активности фермента с фенотипом болезни [2, 30].

Выявление носителей патологического аллеля среди членов семей пациентов возможно при использовании молекулярно-генетического исследования [2, 30].

Пренатальную диагностику осуществляют с использованием образцов ворсин хориона, культивированных клеток ворсин хориона или клеток амниотической жидкости. Предпочтительно применение молекулярно-генетического метода, требующего, однако, предварительного определения мутации в обследуемой семье [2, 4, 28].

Симптоматическое лечение

В настоящее время продолжают исследования в области патогенетической терапии данного синдрома, однако практическая медицинская помощь пока ограничена симптоматическим и паллиативным лечением [5, 51].

Показано наблюдение пациентов мультидисциплинарной командой специалистов, включающей невролога, психиатра, кардиолога, офтальмолога, ортопеда, оториноларинголога и пульмонолога. При наличии показаний проводят адено-, тонзиллэктомию и тимпаностомию. Для купирования диареи возможно применение препаратов лоперамида. Необходимо проведение лечебной физической культуры, занятий с дефектологом, логопедом, сурдопедагогом [4, 30].

Назначение препаратов для коррекции поведения не всегда эффективно; кроме того, ответ на терапию часто бывает непредсказуемым. Наибольшей эффективностью в отношении нарушений поведения обладают нейролептики. Однако родители должны быть предупреждены, что на фоне первичного введения антипсихотического препарата возможно временное ухудшение поведения [4]. Особое внимание следует уделить созданию максимально комфортных условий пребывания с присутствием знакомых лиц и минимальными изменениями в привычной для ребенка окружающей среде [18]. При необходимости медикаментозной терапии нарушений сна препаратом выбора служит мелатонин. Fraser и соавт. продемонстрирована его эффективность у 75% пациентов [46]. Эффективность мелатонина в лечении нарушений сна, вероятно, обусловлена описанным у пациентов с синдромом Санфилиппо нарушением циркадного ритма концентрации мелатонина в крови [44, 52]. В большей степени мелатонин влияет на нарушение засыпания, а не на ноч-

ные пробуждения [53]. Применение препарата должно производиться с осторожностью в связи с отсутствием опыта его использования у детей, данных об отдаленных эффектах и возможностью аггравации судорог у детей с нарушениями нервно-психического развития, сопровождаемыми эпилепсией [44]. При неэффективности мелатонина возможна пробная терапия препаратами бензодиазепинового ряда [45].

Клинические исследования патогенетических методов лечения

Доступная в настоящее время для лечения соматических проявлений МПС I, II, IV и VI типа внутривенная ферментозаместительная терапия в связи с невозможностью проникновения препаратов через гематоэнцефалический барьер не может быть использована у пациентов с синдромом Санфилиппо [51, 54, 55].

Субстратредуцирующая терапия

Одним из возможных методов лечения нейропатических лизосомных болезней накопления является субстратредуцирующая терапия, способная ингибировать синтез субстрата, приводя таким образом к восстановлению баланса между его синтезом и распадом. Исследователями было продемонстрировано, что терапия изофлавоном генистеин (4',5,7-тригидроксиизофлавоном или 5,7-дигидрокси-3-(4-гидроксифенил)-4H-1-бензопиран-4-оном) нарушает синтез ГАГ и, таким образом, может являться эффективным методом редукции отложений ГАГ в клетках тканей и органов пациентов с МПС. Предполагается, что данный эффект обусловлен генистеино-опосредованным ингибированием активности тирозинспецифичной протеинкиназы рецептора эпидермального фактора роста [9, 19, 54]. Эффект генистеина реализуется в связи с его влиянием на экспрессию генов, кодирующих ферменты, необходимые для синтеза ГАГ [19, 51].

В исследованиях, проведенных на экспериментальных мышинных моделях с МПС IIIВ, продемонстрировано уменьшение содержания ГАГ в головном мозге, а также коррекция поведенческих нарушений при длительной терапии генистеином [56]. Однако данные об эффективности данного метода терапии у пациентов с МПС III в различных дозах весьма противоречивы [51, 57, 58].

Интрацеребральная ферментозаместительная и генная терапия

В июне 2014 г. были опубликованы первые результаты I/II фазы клинического исследования интрацеребрального введения аденоассоциированного вирусного вектора (серотипа rh.10), несущего гены гепаран N-сульфамидазы (*SGSH*) и модифицирующего фактора сульфатаз (*SUMF1*), детям с МПС IIIА. Экспериментальное лечение проводили в сочетании с иммуносупрессирующей терапией микофенолат мофетиллом и такролимусом. Наблюдение в течение 1 года за 4 пациентами исследуемой группы продемонстрировало хорошую переносимость, отсутствие побочных эффектов и токсичности иммуносупрессивной терапии. По данным нейропсихологического исследования, отмечалось незначительное улучшение показателей поведения, внимания и сна [59]. Наблюдение за пациентами с целью уточнения отдаленного эффекта данной терапии продолжается (NCT02053064) [60].

В настоящее время также проводится контролируемое открытое мультицентровое исследование эф-

фективности и безопасности интратекального введения рекомбинантного фермента гепаран N-сульфатазы пациентам с МПС IIIA на ранней стадии заболевания (NCT02060526) и продолжается исследование длительно проводимой интратекальной ферментозаместительной терапии у пациентов с данным типом МПС (NCT01299727) [60].

Заключение

Синдром Санфилиппо является наиболее распространенным среди всех мукополисахаридозов. Для клинической картины МПС III характерно преобладание неврологической симптоматики над соматическими проявлениями. Наличие легких и атипичных фенотипов заболевания, возможность получения ложноотрицательных

результатов исследования мочи на гиперэкскрецию ГАГ препятствуют своевременной и точной постановке правильного диагноза.

Медицинская помощь пациентам с синдромом Санфилиппо в настоящее время ограничена симптоматическим и паллиативным лечением, однако возможность получения в ближайшем будущем эффективного метода терапии диктует необходимость ранней диагностики синдрома и повышения осведомленности практических врачей об особенностях течения заболевания.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки / конфликта интересов, о которых необходимо сообщить.

ЛИТЕРАТУРА

- Neufeld E., Muenzer J. The mucopolysaccharidosis. In: Scriver C.R., Beaudet A.L., Sly W.S., Valle D. The Metabolic and Molecular Basis of Inherited Disease. New York: McGraw-Hill. 2001. P. 3421–3452.
- Barranger J.A., Cabrera-Salazar M.A. Lysosomal Storage Disorders. New York: Springer. 2007. 564 p.
- Lyon G., Kolodny E.H., Pastores G.M. Neurology of Hereditary Metabolic Disease of Children. NY: McGraw-Hill. 2006. 542 p.
- Valstar M.J., Ruijter G.J., van Diggelen O.P., Poorthuis B.J., Wijburg F.A. Sanfilippo syndrome: a mini review. *J. Inherit. Metab. Dis.* 2008; 31 (2): 240–252.
- Buhrman D., Thakkar K., Poe M., Escolar M.L. Natural history of Sanfilippo syndrome type A. *J. Inherit. Metab. Dis.* 2014; 37 (3): 431–437.
- Cross E.M., Grant S., Jones S., Bigger B.W., Wraith J.E., Mahon L.V., Lomax M., Hare D.J. An investigation of the middle and late behavioural phenotypes of Mucopolysaccharidosis Type III. *J. Neurodev. Disord.* 2014; 6 (1): 46.
- Baehner F., Schmiedeskamp C., Krummenauer F., Miebach E., Bajbouj M., Whybra C., Kohlschütter A., Kampmann C., Beck M. Cumulative incidence rates of the mucopolysaccharidoses in Germany. *J. Inherit. Metab. Dis.* 2005; 28 (6): 1011–1017.
- Темин П.А., Казанцева Л.З. Наследственные нарушения нервно-психического развития детей. М.: Медицина. 2001. 432 с.
- Arfi A., Richard M., Scherman D. Innovative Therapeutic Approaches for Improving Patient Life Condition with a Neurological Lysosomal Disease. 2012. URL: <http://www.intechopen.com/books/latest-findings-in-intellectual-and-developmental-disabilities-research/innovative-therapeutic-approaches-for-improving-patient-life-condition-with-a-neurological-lysosomal> (available: 13.05.2015).
- The human gene mutation database. Cardiff: Institute of Medical Genetics in Cardiff, Cardiff University. URL: <http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php> (available: 24.05.2015).
- Yogalingam G., Hopwood J.J. Molecular genetics of mucopolysaccharidosis type IIIA and IIIB: Diagnostic, clinical, and biological implications. *Hum. Mutat.* 2001; 18 (4): 264–281.
- Gabrielli O., Coppa G.V., Bruni S., Villani G.R., Pontarelli G., Di Natale P. An adult Sanfilippo type A patient with homozygous mutation R206P in the sulfamidase gene. *Am. J. Med. Genet.* 2005; 133A (1): 85–89.
- Beesley C.E., Jackson M., Young E.P., Vellodi A., Winchester B.G. Molecular defects in Sanfilippo syndrome type B (mucopolysaccharidosis IIIB). *J. Inherit. Metab. Dis.* 2005; 28 (5): 759–767.
- Valstar M.J., Bruggenwirth H.T., Olmer R., Wevers R.A., Verheijen F.W., Poorthuis B.J., Halley D.J., Wijburg F.A. Mucopolysaccharidosis type IIIB may predominantly present with an attenuated clinical phenotype. *J. Inherit. Metab. Dis.* 2010; 33 (6): 759–767.
- Weber B., Guo X.H., Kleijer W.J., van de Kamp J.J., Poorthuis B.J., Hopwood J.J. Sanfilippo type B syndrome (mucopolysaccharidosis III B): allelic heterogeneity corresponds to the wide spectrum of clinical phenotypes. *Eur. J. Hum. Genet.* 1999; 7 (1): 34–44.
- Ruijter G.J., Valstar M.J., van de Kamp J.M., van der Helm R.M., Durand S., van Diggelen O.P., Wevers R.A., Poorthuis B.J., Pshezhetsky A.V., Wijburg F.A. Clinical and genetic spectrum of Sanfilippo type C (MPS IIIC) disease in The Netherlands. *Mol. Genet. Metab.* 2008; 93 (2): 104–111.
- Freeman C., Clements P.R., Hopwood J.J. Human liver N-acetylglucosamine 6-sulphate sulphatase. Purification and characterization. *Biochem. J.* 1987; 246 (2): 347–354.
- Mehta A., Winchester B. Lysosomal Storage Disease: A Practical Guide. NY: Wiley-Blackwell. 2012. 198 p.
- Giugliani R., Federhen A., Silva A.A., Bittar C.M., de Souza C.F., Netto C.B., Mayer F.Q., Baldo G., Matte U. Emerging treatment options for the mucopolysaccharidoses. *Res. and Rep. in Endocrine Disorders.* 2012; 2: 53–64.
- Ceuterick C., Martin J.J., Libert J., Farriaux J.P. Sanfilippo A disease in the fetus comparison with pre- and postnatal cases. *Neuropadiatrie.* 1980; 11 (2): 176–185.
- Wilkinson F.L., Holley R.J., Langford-Smith K.J., Badrinath S., Liao A., Langford-Smith A., Cooper J.D., Jones S.A., Wraith J.E., Wynn R.F., Merry C.L., Bigger B.W. Neuropathology in mouse models of mucopolysaccharidosis type I, IIIA and IIIB. *PLoS One.* 2012; 7 (4): 35787.
- Ohmi K., Greenberg D.S., Rajavel K.S., Ryazantsev S, Li H.H., Neufeld E.F. Activated microglia in cortex of mouse models of mucopolysaccharidoses I and IIIB. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2003; 100 (4): 1902–1907.
- Arfi A., Richard M., Gandolphe C., Bonnefont-Rousselot D., Thérond P., Scherman D. Neuro-inflammatory and oxidative stress phenomena in MPS IIIA mouse model: the positive effect

- of long term aspirin treatment. *Mol. Genet. Metab.* 2011; 103 (1): 18–25.
24. Langford-Smith A., Langford-Smith K.J., Jones S.A., Wynn R.F., Wraith J.E., Wilkinson F.L., Bigger B.W. Female mucopolysaccharidosis IIIA mice exhibit hyperactivity and a reduced sense of danger in the open field test. *PLoS One.* 2011; 6 (10): 25717.
 25. Canal M.M., Wilkinson F.L., Cooper J.D., Wraith JE, Wynn R, Bigger BW. Circadian rhythm and suprachiasmatic nucleus alterations in the mouse model of mucopolysaccharidosis IIIB. *Behav. Brain Res.* 2010; 209 (2): 212–220.
 26. Kresse H., Wiesmann U., Cantz M., Hall C.W., Neufeld E.F. Biochemical heterogeneity of the Sanfilippo syndrome: preliminary characterization of two deficient factors. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1971; 42 (5): 892–898.
 27. Kresse H., Neufeld E.F. The Sanfilippo A corrective factor. Purification and mode of action. *J. Biol. Chem.* 1972; 247 (7): 2164–2170.
 28. Saudubray J., van den Berghe J., Walter J.H. Inborn Metabolic Diseases, Fifth Edition. *Berlin Heidelberg: Springer-Verlag*, 2012. 660 p.
 29. Valstar M.J., Marchal J.P., Grootenhuis M., Colland V., Wijburg F.A. Cognitive development in patients with Mucopolysaccharidosis type III (Sanfilippo syndrome). *Orphanet J. Rare Dis.* 2011; 6: 43.
 30. Wijburg F.A., Węgrzyn G., Burton B.K., Tylki-Szymańska A. Mucopolysaccharidosis type III (Sanfilippo syndrome) and misdiagnosis of idiopathic developmental delay, attention deficit/hyperactivity disorder or autism spectrum disorder. *Acta Paediatr.* 2013; 102 (5): 462–470.
 31. Krawiec P., Pac-Kożuchowska E., Mełges B., Mroczkowska-Juchkiewicz A., Skomra S., Pawłowska-Kamieniak A., Kominek K. From hypertransaminasemia to mucopolysaccharidosis IIIA. *Ital. J. Pediatr.* 2014; 40 (1): 97.
 32. Краснопольская К.Д. Наследственные болезни обмена веществ. Справочное пособие для врачей. М.: *Фохам*. 2005. 364 с.
 33. Van Hove J.L., Wevers R.A., Van Cleemput J., Moerman P., Sciot R., Matthijs G., Schollen E., de Jong J.G., Carey W.F., Muller V., Nicholls C., Perkins K., Hopwood J.J. Late-Onset visceral presentation with cardiomyopathy and without neurological symptoms of adult Sanfilippo syndrome. *Am. J. Med. Genet.* 2003; 118 A (4): 382–387.
 34. Meyer A., Kossow K., Gal A., Mühlhausen C., Ullrich K., Braulke T., Muschol N. Scoring evaluation of the natural course of mucopolysaccharidosis type IIIA (Sanfilippo syndrome type A). *Pediatrics.* 2007; 120 (5): 1255–1261.
 35. Van de Kamp J.J., Niermeijer M.F., von Figura K., Giesberts M.A. Genetic heterogeneity and clinical variability in the Sanfilippo syndrome (types A, B, and C). *Clin. Genet.* 1981; 20 (2): 152–160.
 36. De Ruijter J., Maas M., Janssen A., Wijburg F.A. High prevalence of femoral head necrosis in Mucopolysaccharidosis type III (Sanfilippo disease): a national, observational, cross sectional study. *Mol. Genet. Metab.* 2013; 109 (1): 49–53.
 37. White K.K., Karol L.A., White D.R., Hale S. Musculoskeletal manifestations of Sanfilippo Syndrome (mucopolysaccharidosis type III). *J. Pediatr. Orthop.* 2011; 31 (5): 594–598.
 38. Zafeiriou D.I., Savvopoulou-Augoustidou P.A., Sewell A., Papadopoulou F., Badouraki M., Vargiami E., Gombakis N.P., Katzos G.S. Serial magnetic resonance imaging findings in mucopolysaccharidosis IIIB (Sanfilippo's syndrome B). *Brain Dev.* 2001; 23 (6): 385–389.
 39. Jurecka A., Tylki-Szymańska A. Gynecomastia in MPS IIIA boys: related to treatment or precocious puberty? *Mol. Genet. Metab.* 2014; 111 (2): 61–62.
 40. Айкарди Ж. Заболевания нервной системы у детей. М.: *Лаборатория знаний*. 2013. 568 с.
 41. Moog U., van Mierlo I., van Schrojenstein Lantmande Valk H.M., Spaapen L., Maaskant M.A., Curfs L.M. Is Sanfilippo type B in your mind when you see adults with mental retardation and behavioral problems? *Am. J. Med. Genet. C. Semin. Med. Genet.* 2007; 145 C (3): 293–301.
 42. Rumsey R.K., Rudser K., Delaney K., Potegal M., Whitley C.B., Shapiro E. Acquired autistic behaviors in children with mucopolysaccharidosis type IIIA. *J. Pediatr.* 2014; 164 (5): 1147–1151.
 43. Potegal M., Yund B., Rudser K., Ahmed A., Delaney K., Nestrasil I., Whitley C.B., Shapiro E.G. Mucopolysaccharidosis Type IIIA presents as a variant of Klüver–Bucy syndrome. *J. Clin. Exp. Neuropsychol.* 2013; 35 (6): 608–616.
 44. Mahon L.V., Lomax M., Grant S., Cross E., Hare D.J., Wraith J.E., Jones S., Bigger B., Langford-Smith K., Canal M. Assessment of sleep in children with mucopolysaccharidosis type III. *PLoS One.* 2014; 9 (2): 84128.
 45. Mariotti P., Della Marca G., Iuvone L., Vernacotola S., Ricci R., Mennuni G.F., Mazza S. Sleep disorders in Sanfilippo syndrome: a polygraphic study. *Clin. Electroencephalogr.* 2003; 34 (1): 18–22.
 46. Fraser J., Gason A.A., Wraith J.E., Delatycki M.B. Sleep disturbance in Sanfilippo syndrome: a parental questionnaire study. *Arch. Dis. Child.* 2005; 90 (12): 1239–1242.
 47. Zafeiriou D.I., Batzios S.P. Brain and spinal MR imaging findings in mucopolysaccharidoses: a review. *AJNR Am. J. Neuroradiol.* 2013; 34 (1): 5–13.
 48. Barkovich A.J. Pediatric neuroimaging. *Philadelphia: Williams & Wilkins*. 2012. 1126 p.
 49. Brady J., Trehan A., Landis D., Toro C. Mucopolysaccharidosis type IIIB (MPS IIIB) masquerading as a behavioural disorder. *BMJ Case Rep.* 2013.
 50. Маянский Н.А., Блинова Т.А., Подклетнова Т.В., Кузенкова Л.М., Вашакмадзе Н.Д., Намазова-Баранова Л.С., Баранов А.А. Количественное определение гликозаминогликанов в моче у референсных индивидов и пациентов с мукополисахаридозом с помощью диметилметиленового синего. *Вопросы диагностики в педиатрии*. 2013; 5 (1): 21–26.
 51. Delgadillo V., O'Callaghan Mdel M., Artuch R., Montero R., Pineda M. Genistein supplementation in patients affected by Sanfilippo disease. *J. Inherit. Metab. Dis.* 2011; 34 (5): 1039–1044.
 52. Guerrero J.M., Pozo D., Diaz-Rodriguez J.L., Martinez-Cruz F., Vela-Campos F. Impairment of the melatonin rhythm in children with Sanfilippo syndrome. *J. Pineal. Res.* 2006; 40 (2): 192–193.
 53. Phillips L., Appleton R.E. Systematic review of melatonin treatment in children with neurodevelopmental disabilities and sleep impairment. *Dev. Med. Child. Neurol.* 2004; 46 (11): 771–775.
 54. Piotrowska E., Jakóbkiewicz-Banecka J., Barańska S., Tylki-Szymańska A., Czartoryska B., Węgrzyn A., Węgrzyn G. Genistein-mediated inhibition of glycosaminoglycan synthesis as a basis for gene expression targeted isoflavone therapy for mucopolysaccharidoses. *Eur. J. Hum. Genet.* 2006; 14 (7): 846–852.
 55. Кузенкова Л.М., Намазова-Баранова Л.С., Геворкян А.К., Вашакмадзе Н.Д., Подклетнова Т.В., Студеникин В.М., Лазуренко С.Б. Современный взгляд на мукополисахаридоз II типа у детей: мультисциплинарный подход к проблеме. *Эффективная фармакотерапия. Педиатрия*. 2012; 2: 28–34.
 56. Malinowska M., Wilkinson F.L., Langford-Smith K.J., Langford-Smith A., Brown J.R., Crawford B.E., Vanier M.T.,

- Gryniewicz G., Wynn R.F., Wraith J.E., Wegrzyn G., Bigger B.W. Genistein improves neuropathology and corrects behavior in a mouse model of neurodegenerative metabolic disease. *PLoS One*. 2010; 5(12): 14192.
57. Piotrowska E., Jakóbkiewicz-Banecka J., Tylki-Szymanska A., Liberek A., Maryniak A., Malinowska M., Czartoryska B., Puk E., Kloska A., Liberek T., Baranska S., Wegrzyn A., Wegrzyn G. Genistin rich soy isoflavone extract in substrate reduction therapy for Sanfilippo syndrome: An open-label, pilot study in 10 pediatric patients. *Curr. Ther. Res. Clin. Exp.* 2008; 69 (2): 166–179.
58. Piotrowska E., Jakóbkiewicz-Banecka J., Maryniak A., Tylki-Szymanska A., Puk E., Liberek A., Wegrzyn A., Czartoryska B., Słominska-Wojewodzka M., Wegrzyn G. Two-year follow-up of Sanfilippo Disease patients treated with a genistein rich isoflavone extract: assessment of effects on cognitive functions and general status of patients. *Med. Sci. Monit.* 2011; 17 (4): 196–202.
59. Tardieu M., Zérah M., Husson B., de Bournonville S., Deiva K., Adamsbaum C., Vincent F., Hocquemiller M., Broissand C., Furlan V., Ballabio A., Fraldi A., Crystal R.G., Baugnon T., Roujeau T., Heard J.M., Danos O. Intracerebral administration of adeno associated viral vector serotype rh.10 carrying human SGSH and SUMF1 cDNAs in children with mucopolysaccharidosis type IIIA disease: results of a phase I/II trial. *Hum. Gene Ther.* 2014; 25 (6): 506–516.
60. ClinicalTrials.gov. A service of the U.S. National Institutes of Health. URL: <https://clinicaltrials.gov> (available: 24.05.2015).

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Осипова Лилия Александровна, заочный аспирант НЦЗД, врач-невролог консультативного отделения КДЦ НЦЗД
Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, **тел.:** +7 (495) 967-14-20, **e-mail:** osipova_la@nczd.ru

Кузенкова Людмила Михайловна, доктор медицинских наук, профессор, руководитель отделения психоневрологии и психосоматической патологии НЦЗД

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, **тел.:** +7 (499) 134-04-09, **e-mail:** kuzenkova@nczd.ru

Намазова-Баранова Лейла Сеймуровна, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, директор Научно-исследовательского института педиатрии НЦЗД

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, **тел.:** +7 (495) 967-14-14, **e-mail:** namazova@nczd.ru

Геворкян Анаит Казаровна, кандидат медицинских наук, главный врач КДЦ НЦЗД

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, **тел.:** +7 (495) 967-14-20, **e-mail:** gevorokyan@nczd.ru

Подклетнова Татьяна Владимировна, кандидат медицинских наук, научный сотрудник отделения психоневрологии и психосоматической патологии НЦЗД

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, **тел.:** +7 (499) 134-04-09, **e-mail:** tvp80@mail.ru

Вашакмадзе Нато Джумберовна, кандидат медицинских наук, заведующая отделением восстановительного лечения детей с заболеваниями сердечно-сосудистой системы НИИ ППиВЛ НЦЗД

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, **e-mail:** vashakmadze@nczd.ru

DOI: 10.15690/vramn.v70.i4.1408

А.В. Колесников, А.К. Рябко, И.Г. Шемякин, А.В. Козыр

ГНЦ прикладной микробиологии и биотехнологии Роспотребнадзора, Оболенск, Российская Федерация

Современные подходы к разработке специфической терапии особо опасных токсикоинфекций

Особо опасные токсикоинфекции являются значительной угрозой здоровью населения и нерешенной проблемой обеспечения биологической безопасности. Наибольшую опасность представляют собой ботулизм и сибирская язва, которые не только имеют практически не контролируемые природные резервуары, но также могут служить возможным оружием биотеррористов. Специфическая терапия этих заболеваний практически отсутствует, существующие методы имеют ограниченные возможности применения и низкую эффективность, в то время как высокочувствительная ранняя диагностика еще не получила широкого распространения. Необходима срочная разработка средств специфической терапии и экстренной профилактики ботулизма и сибирской язвы. Анализ современных тенденций развития этих направлений показал, что на данный момент, вероятно, наиболее перспективными технологиями для создания антитоксинов являются олигоклональные антитела и аптамеры, аллостерически ингибирующие активность эффекторных компонентов обоих токсинов — цинкзависимых протеаз.

Ключевые слова: токсикоинфекция, летальный токсин возбудителя сибирской язвы, ботулинический токсин, аптамер, терапевтическое антитело.

(Для цитирования: Колесников А.В., Рябко А.К., Шемякин И.Г., Козыр А.В. Современные подходы к разработке специфической терапии особо опасных токсикоинфекций. *Вестник РАМН.* 2015; 70 (4): 428–434. Doi: 10.15690/vramn.v70.i4.1408)

428

Введение

Наибольшую опасность при бактериальной токсикоинфекции представляет собой токсин — комплекс белков, высвобождаемый бактерией для борьбы с защитными системами организма-хозяина [1, 2]. Способ, при помощи которого происходит подавление защитных систем организма, не всегда очевиден, а механизм интоксикации изучен во многих случаях не полностью. Известно, что бактерии-возбудители токсикоинфекций, лишённые токсинов, в большинстве случаев авирулентны и не представляют существенной опасности или вызывают незначительную патологию, легко поддающуюся лечению [3, 4], поэтому токсины таких микроорганизмов закономерно рассматривают как принципиальные факторы их вирулентности.

Среди достаточно большого числа бактерий, продуцирующих токсины, наибольшую опасность для жизни в результате интоксикации представляют возбудители ботулизма [5] и сибирской язвы [6]: высокая удельная токсичность продуцируемых токсинов обуславливает высокую смертность в условиях интенсивной терапии и

узкое «окно возможностей», при упущении которого вероятность летального исхода многократно возрастает [7, 8]. В силу этого неспецифическая симптоматическая терапия указанных заболеваний может иметь ограниченный успех, а в случае массовой интоксикации смертность может многократно возрасти ввиду отсутствия достаточного числа мест для проведения мероприятий реанимации и интенсивной терапии [9]. В отличие от других упомянутых токсикоинфекций эффективные средства специфической терапии сибирской язвы и ботулизма до сих пор не созданы, а имеющаяся сибирезавенная вакцина не удовлетворяет современным параметрам безопасности применения и не может быть рекомендована для широкого использования. Между тем современная международная обстановка, глобализация экономики, логистики и миграционных потоков, а также растущая угроза биотерроризма диктуют необходимость создания эффективных мер защиты населения от этих патогенов.

Достаточно давно стало очевидным, что наилучшим решением для предотвращения смертности и инвалидности у пациентов с указанными выше инфекциями является специфическая антитоксинная терапия и/или

A.V. Kolesnikov, A.K. Ryabko, I.G. Shemyakin, A.V. Kozyr

State Research Center for Applied Microbiology & Biotechnology, Obolensk, Moscow Region, Russian Federation

Development of Specific Therapy to Category A Toxic Infections

Category A select agents continue to be major threat to human population both as naturally occurring diseases and as potential weapon of bioterrorists. Anthrax and botulism are probably the most threatening agents as both have virtually uncontrolled natural reservoirs from which they can be isolated and propagated. Available specific antitoxin therapy of both diseases is outdated; its efficiency is questionable as well as safety of reactogenic or human-derived components used in treatment. Highly sensitive toxin detection techniques are still not as widespread as it needed for timely alerting medical services. There is urgent need of pre-exposure prophylaxis and postexposure specific antitoxin therapy for anthrax and botulism. Analysis of modern studies in the field suggests oligoclonal antibodies acting against receptor-binding toxin subunits and nucleic acid aptamers as allosteric inhibitors of metalloproteolytic toxin components as the most promising candidates for development of efficient antitoxin therapy.

Key words: toxic infection, lethal toxin of anthrax, botulinum toxin, aptamer, therapeutic antibody.

(For citation: Kolesnikov A.V., Ryabko A.K., Shemyakin I.G., Kozyr A.V. Development of Specific Therapy to Category A Toxic Infections. *Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2015; 70 (4): 428–434. Doi: 10.15690/vramn.v70.i4.1408)

профилактика [10]. На практике для создания средств специфической терапии этих токсикоинфекций необходимо найти решение ряда проблем. В частности, для разработки специфической терапии против бактериального токсина важно не только найти высокоэффективный ингибитор избранной мишени, но и определить терапевтическое окно для данного типа воздействия. Знание этих и других особенностей взаимодействия токсина с организмом пациента позволяет правильно выбрать как мишени в составе многокомпонентной молекулы, каковой является бактериальный токсин, так и способы инактивации токсина и его отдельных компонентов. Уместно отметить, что эффекторными компонентами обоих токсинов, обуславливающими высокую смертность, являются цинкзависимые металлопротеазы [11], расщепляющие субстраты-мишени с высочайшей степенью селективности. Принципиально сходная структура сибиреязвенного и ботулинического токсинов (двухкомпонентная архитектура, цинкзависимые протеазы в качестве эффекторов, необходимость обеспечения высокой степени специфичности расщепления субстратов, невысокая каталитическая эффективность) предопределяет сходные проблемы в разработке ингибирующих эти токсины молекул [12].

Сибиреязвенная инфекция

Проблемы специфической терапии сибирской язвы

Патогенез сибирской язвы и смертность от болезни непосредственно связаны с летальным токсином (ЛТ), состоящим из рецепторсвязывающей субъединицы, известной как протективный антиген (ПА), и эффекторной субъединицы, получившей название летальный фактор (ЛФ) [13]. Вакцинация и антибиотикотерапия являются традиционными мерами борьбы с сибиреязвенной инфекцией. Однако оба подхода не лишены существенных ограничений. Антибиотикотерапия эффективна при условии ранней диагностики инфекции, однако не способна бороться с токсином, уже присутствующим в организме. В результате смерть от интоксикации может произойти даже при условии полной стерилизации организма от патогена [8, 14]. Вакцины, основанные на аттенуированных штаммах или супернатанте культуры таких штаммов, реактогенны и непригодны для широкого применения, а недавно разработанные вакцины на основе ПА требуют неоднократного введения и как минимум 4 нед для развития протективного иммунитета. Кроме того, степень защиты, обеспечиваемая вакцинами, основанными на рекомбинантном ПА, остается не до конца изученной [15].

Несмотря на значительный объем исследований механизма действия ЛТ [16], идентификацию мишеней для ПА и ЛФ [17] и наличие успешной стратегии блокировки действия токсина при помощи нейтрализующих антител [18], успех в разработке средств специфической терапии сибирской язвы сложно назвать полным. Во-первых, несмотря на значительный масштаб исследований, механизм системного поражения организма на поздних стадиях инфекции до конца не ясен [19]. Во-вторых, слабо изучена динамическая структура ЛФ, способного к значительным конформационным перестройкам при связывании субстратов [20, 21]. Это не только затрудняет разработку специфических низкомолекулярных ингибиторов ЛФ, но и поиск новых мишеней этой протеазы, существенная часть которых практически наверняка осталась не идентифицированной [22, 23]. Последние

необходимы для эффективной блокировки действия ЛТ наряду с моноклональными антителами, поскольку антигены препараты не способны проникать внутрь клетки для нейтрализации уже транслоцированного в цитозоль ЛФ [24].

Современные и перспективные средства специфической терапии сибирской язвы

Моноклональные терапевтические антитела, нейтрализующие ЛТ, стали первым современным фармацевтическим препаратом для специфической терапии сибиреязвенной инфекции. Препарат, получивший название раксибакумаб, разрешен к использованию в качестве терапевтического средства Управлением по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (Food and Drug Administration, FDA, США) [25]. Однако эффективность раксибакумаба относительно невысока и, по всей видимости, он не может быть использован для монотерапии [26]. В стадии разработки находится несколько антител, блокирующих действие летального или отечного токсинов [27], однако эффект как минимум части этих препаратов по результатам тестов на животных также не может рассматриваться как полный [28]. Более 10 лет назад был сконструирован доминантно-негативный мутант (dominant-negative inhibitory) ПА DNI [29], некоторое время рассматривавшийся в качестве возможного средства для блокировки действия ЛТ. В последнее время DNI используют только в качестве кандидата на роль высокоэффективного антигена для вакцинации: иммунный ответ к DNI развивается быстрее и обеспечивает больший уровень защиты от инфекции по сравнению с ПА дикого типа [30]. Преимущество DNI в качестве компонента вакцины, очевидно, существенно снижает его ценность как ингибитора, поскольку иммунный ответ способствует быстрой элиминации DNI из крови. К этому же классу ингибиторов относится и ряд других молекул, связывающих гептамер ПА и блокирующих конформационные изменения, необходимые для формирования поры, в которую транслоцируется ЛФ [31], а также сам процесс транслокации [32]. Показано, что одно из наиболее эффективных моноклональных антител к ПА, находящихся в стадии разработки, ингибирует процесс конформационных изменений, связанных с рН-зависимым изменением, необходимым для прохождения эффекторных компонентов токсина через пору [31].

Подходы к разработке специфических ингибиторов токсина сибирской язвы

Описанные выше белковые ингибиторы ЛТ, очевидно, не могут блокировать действие токсина внутри клетки. Более того, поскольку при попадании в клетку ЛТ диссоциирует на ЛФ и ПА, принципиальное значение для внутриклеточного ингибирования токсина имеет блокировка протеолитической активности ЛФ. Последний является цинковой протеазой с уникальными характеристиками, обеспечивающими, с одной стороны, высокую субстратную специфичность [20, 21], а с другой — адаптивность к различным условиям, в частности, выражающуюся в способности использовать весьма широкий спектр двухвалентных ионов металлов в качестве кофакторов, что нехарактерно для большинства металлопротеаз [33]. В силу этих причин разработка специфических низкомолекулярных ингибиторов ЛФ является весьма сложной задачей. В частности, особенности строения и пластичность активного центра ЛФ осложняют дизайн ингибиторов по трехмерной структуре их комплексов с протеазой.

На протяжении последних 10 лет было идентифицировано несколько эффективных ингибиторов ЛФ, блокирующих протеазную активность фермента [34]. Согласно современным воззрениям, ингибирование ЛФ может оказаться наиболее эффективным способом экстренной специфической терапии сибирской язвы потому, что ЛФ не только напрямую обуславливает токсичность, но и существует в организме значительно дольше, чем ПА: в течение нескольких суток после инактивации бактерий. ПА способен транслоцировать ЛФ не только напрямую в цитозоль, но и в эндосомы, где последний оказывается практически защищенным от деградации, постепенно высвобождаясь в цитозоль [35]. Эти наблюдения помогают оценить эффективность использования ингибиторов ПА и ЛФ на различных этапах инфекции: на самых ранних стадиях блокировка ПА может оказаться более эффективной, но затем на протяжении как минимум нескольких суток основной вклад в эффективную терапию будет вносить ингибирование ЛФ.

Ингибиторы I поколения не дошли до стадии клинических испытаний, поскольку обладали низкой селективностью по отношению к металлопротеазам организма человека и недостаточным протективным эффектом *in vivo*, однако их изучение внесло значительный вклад в понимание структуры и функции ЛФ [36]. Ингибиторы II поколения создавались на основе итеративного подхода, в рамках которого библиотеки фрагментов, соответствующих различным классам лекарственноподобных молекул, скринировали на предмет идентификации ингибиторов ЛФ, а затем на базе отобранных слабых ингибиторов создавали несколько итераций небольших библиотек химических соединений с повышающейся эффективностью ингибирования протеазы. Этот подход существенно эффективнее прямого скрининга, поскольку позволяет оперировать с несколькими сотнями, а не с сотнями тысяч молекул. Тем не менее на настоящий момент ни один ингибитор ЛФ II поколения не стал кандидатом для разработки лекарственного средства. Проблему специфичности мог бы решить подход, заключающийся в скрининге аллостерических ингибиторов, особенно ингибиторов конформационных перестроек фермента, предположительно происходящих при взаимодействии с субстратом. На базе концепции взаимодействия ЛФ и его субстратов не только в активном центре, но и в области экзосайтов [20, 21] был получен аллостерический ингибитор, блокирующий эффективное связывание протеазы с полноразмерными субстратами — MAP-киназами [37]. Обнаруженный ингибитор и разработанный метод скрининга могут быть использованы для создания принципиально нового класса ингибиторов ЛФ и других металлопротеаз, традиционно являющихся весьма сложными мишенями для создания эффективных и селективных низкомолекулярных ингибиторов [38].

Ингибиторы ЛФ III поколения разработаны на основе ранее идентифицированных молекул с использованием глубокого развития дизайна итеративного метода [39–41]. Эти ингибиторы уже обладают заметной протективной активностью *in vivo* [41]. Применение данных ингибиторов совместно с ингибиторами ЛФ продемонстрировало интересный феномен кумулятивного действия этих молекул. Если по отдельности каждый из ингибиторов обеспечивал лишь частичный протективный эффект, то совместное действие ингибиторов различных компонентов токсина обеспечивало полную защиту от патогена. Наиболее вероятное объяснение состоит в том, что одновременное ингибирование эффекторных компонентов токсина оставляет активными защитные системы орга-

низма, которые блокируются действием токсина в достаточной степени, чтобы запустить процесс элиминации патогена [41]. Это наблюдение имеет большое значение для разработки эффективных стратегий ингибирования многокомпонентных бактериальных токсинов и других многокомпонентных факторов вирулентности.

В целом стратегии ингибирования активности ЛФ, заключающиеся в итеративной модификации ингибиторов по аналогии с тем, как это происходит с ингибиторами ВИЧ-протеазы, и идентификации аллостерических ингибиторов, специфичных к экзосайтам для узнавания белковых субстратов, являются наиболее многообещающими. Тем не менее для создания реальных прототипов лекарственных соединений с высокой эффективностью ингибирования *in vivo* необходимы дополнительные структурно-функциональные исследования.

Ботулиническая токсикоинфекция

Ботулинический токсин (BoNT), как и сибиреязвенный, является двухкомпонентной системой, содержащей рецепторсвязывающую и эффекторную субединицу, причем последняя так же, как и ЛФ, является цинкзависимой металлопротеазой. Существуют 8 типов (и множество субтипов) ботулинических токсинов, отличающихся распространением, токсичностью, опасностью для человека и мишенями для расщепления [42]. Уникальные механизмы, выработанные в процессе адаптивной эволюции, обеспечивают высокую специфичность как проникновения в нейроны, так и расщепления субстратов, приводящих к блокировке выброса нейротрансмиттеров, параличу и, при отсутствии терапии, смерти от остановки дыхания [43, 44]. В отличие от сибиреязвенного токсина, который вызывает системные повреждения органов и тканей, действие ботулотоксинов может быть полностью обратимо, и при адекватной терапии интоксикация не имеет каких-либо последствий. Данное свойство, а также механизм действия предопределили использование ботулотоксина в медицине при многочисленных спастических и связанных с ними болевых синдромах, а также в косметологии [44, 45]. Успешное и широкое медицинское и косметическое применение ботулотоксина служит одной из причин, по которым вакцинация против наиболее широко встречающихся токсинов типа А и В не получила распространения. Вторая причина — очевидно, финансовая составляющая, связанная с редкостью ботулизма в странах, являющихся основными разработчиками, и отсутствием коммерческого спроса на вакцину [46].

Современное состояние специфической терапии ботулизма

Специфическая терапия ботулизма представлена препаратами гомо- и гетерологичных поликлональных антител. Они не удовлетворяют многим современным требованиям, предъявляемым к фармацевтической продукции: в первую очередь, безопасности применения (потенциальный риск присутствия инфекционных агентов в гомологичных антителах) и реактогенности (в случае гетерологичных антител). Разработка терапевтических моноклональных антител против ботулотоксина ведется давно, однако в настоящее время на стадии клинических испытаний находится единственный препарат (ХОМА ЗАВ), который является триклональным, как следует из названия, антителом [47]. В настоящее время находится в стадии разработки ряд моноклональных антител, нейтра-

лизующих ботулинический токсин (в основном типа А) [27], но ни одно из них не стало на данный момент кандидатом для проведения клинических испытаний. Более того, во многих работах продолжают направление олигоклональных антител ввиду невозможности нейтрализовать действие токсина единственным антителом [48, 49]. Как для олиго- (или поликлональных), так и для моноклональных антител «терапевтическое окно» весьма невелико: если симптомы заболевания уже развились, большая часть токсина находится внутри клеток и недоступна для нейтрализации. Так же, как и в случае ЛФ, протеаза ботулотоксина может быть активна в клетке достаточно продолжительное время, что объясняет и длительное время восстановления пораженных синапсов [50].

Перспективные способы ингибирования активности ботулотоксина. Низкомолекулярные ингибиторы

Наиболее очевидным методом ингибирования активности токсина может стать создание малых молекул или пептидомиметиков, способных проникать внутрь клеток и непосредственно блокировать протеолитическое действие токсина. Таких молекул разработано много [46], однако ни одна из них не обеспечивает защиту на уровне, необходимом для начала проведения клинических испытаний. Идентификация ингибиторов, связывающихся с активным центром металлопротеаз, неоднократно признавалась крайне сложной задачей, в т.ч. и непосредственно для ингибиторов ботулотоксинов [51].

Трудности с созданием эффективных антител и селективных высокоактивных ингибиторов протеолиза привели к разработкам иных методов блокировки активности токсина, таких как блокировка его проникновения внутрь нейронов за счет изменения свойств мембран и цитозоля под действием блокаторов ионных каналов, модификаторов редокс-потенциала нервных клеток, блокаторов транслокации токсина [52] и некоторых других. Общим недостатком этих соединений является их системное токсическое действие на нервные клетки, которое сложно полностью элиминировать без потери этими соединениями антитоксинной активности [51].

Как указано выше, наличие экзосайтов для связывания с субстратами у ЛФ обеспечивает дополнительную специфичность в отношении мишеней для протеолиза. В случае ВоNT связывание протеазы с экзосайтами субстратов не только обеспечивает специфичность расщепления, но и существенно, на 2–3 порядка, ускоряет протекание реакции [53], поэтому блокировка экзосайтов для ВоNT может иметь еще больший ингибирующий эффект, чем для ЛФ. Уместно отметить, что длина минимальных субстратов для различных ботулотоксинов также существенно превосходит длину минимальных субстратов ЛФ: в то время, как ЛФ весьма эффективно протеолизует 11-членный пептид RRKKVYYPYRME [54], ВоNT/A расщепляет минимальный 17-членный субстрат (фрагмент белка SNAP-25) с эффективностью почти на 4 порядка меньшей, чем та, с которой расщепляется минимальный субстрат ЛФ. И только увеличение длины пептида до 65 аминокислот существенно (почти на 3 порядка) увеличивает каталитическую эффективность ВоNT/A по отношению к своему субстрату [53]. Эти наблюдения указывают на потенциальную перспективность разработки ингибиторов к экзосайтам протеазы ботулотоксина как одного из основных направлений исследований. Структурные исследования связывания ВоNT с полноразмерным субстратом определили мишени для последующей идентификации ряда ингибиторов [55]. Основной сложностью идентификации низкомолекулярных ингибиторов связывания с экзосайтами является структур-

ное отличие экзосайтов от активных центров ферментов: последние, как правило, представляют собой достаточно глубокие и узкие структуры, окружающие низкомолекулярный ингибитор с нескольких направлений, в то время как экзосайт не эволюционирует в направлении снижения энергии переходного состояния химической реакции так, как это происходит с активным центром фермента, а обеспечивает только связывание с достаточно большой поверхностью молекулы белка [55–57]. В силу этого экзосайт может иметь более простую, планарную, структуру, которая не благоприятствует высокоаффинным взаимодействиям с малыми молекулами. Действительно, аффинность описанных ингибиторов экзосайтов ВоNT на основе малых органических молекул достаточно невелика и находится в микромолярном диапазоне, чего, как правило, недостаточно для эффективного блокирования активности *in vivo* [56].

Аптамеры как ингибиторы ферментативной активности

В последнее время в качестве ингибиторов ферментов активно исследуют аптамеры — короткие фрагменты нуклеиновых кислот, которые получают при скрининге библиотек олигонуклеотидов с произвольной последовательностью (N)_x, где x — длина рандомной части олигонуклеотида — может составлять в среднем от 20 до 60 оснований [58]. Эта часть фланкирована константными участками, которые являются праймерами для амплификации отобранных аптамеров после каждого раунда селекции. Полученные при проведении скрининга, различные варианты которого известны под общим названием SELEX, аптамеры амплифицируют, конвертируют в одноцепочечный формат и подвергают дальнейшей селекции. Методики селекции в последнее время подверглись существенной модернизации и переосмыслению, в результате чего сформировался ряд новых подходов, позволяющих получать высокоаффинные аптамеры практически к любым молекулам, включая малые [59]. Аптамеры на данный момент являются наиболее эффективным решением для разработки ингибиторов, связывающихся с экзосайтами протеаз. Аптамеры имеют в несколько раз большую площадь связывания с мишенью по сравнению с малыми органическими молекулами и существенно более протяженную структуру. В силу этого эффективность связывания с относительно планарными, по сравнению с активными центрами, структурами у аптамеров существенно выше. Это наблюдение подтверждается фактами селекции высокоаффинных аптамеров к ряду протеаз системы свертывания крови [60], в первую очередь к тромбину [61]. Ряд аптамеров к протеазам этой системы обладает высокой аффинностью и селективностью к мишеням и находится на различных стадиях клинических испытаний [62].

Конформационные и структурные особенности аптамеров позволяют им, в отличие от многих других субъектов скрининга библиотек химических и биологических соединений, эффективно связываться не только с экзосайтами субстратов протеаз, но и с другими сайтами ферментов, блокируя их активность посредством запрета конформационных перестроек, связанных с катализом, или за счет других сходных механизмов [63, 64]. Ингибиторы такого рода являются особенно ценными с фармакологической точки зрения, поскольку, как правило, обладают наибольшей селективностью. Классическим примером такого ингибитора являются широко извест-

ный препарат иматиниб и семейство вновь разрабатываемых ингибиторов тирозинных киназ [65].

Недавно полученные аптамеры, ингибирующие активность ВоNT/A, обладают высокой аффинностью к мишени и являются неконкурентными ингибиторами протеолиза, т.е. связываются вне активного центра либо с экзосайтами, либо с иными участками фермента, взаимодействие с которыми блокирует конформационные перестройки протеазы в процессе катализа.

Таким образом, аптамеры могут рассматриваться как один из наиболее многообещающих типов ингибиторов ботулинического токсина. Уместно отметить, что работы по селекции аптамеров к бактериальным токсинам были начаты совсем недавно. Так, к примеру, исследование аптамеров, специфичных к сибирезвеному токсину, проводилось только в контексте разработки высокочувствительных систем детекции, но не создания новых подходов к терапии [66].

Заключение

Учитывая то, что технологии селекции и способы оптимизации аффинности и стабильности аптамеров интенсивно развиваются, наиболее вероятным сценарием разработки специфической терапии ботулизма и сибирской язвы в ближайшем будущем является совместное использование моноклональных антител и

аптамеров. Эффективное взаимодействие последних с экзосайтами протеаз дает возможность преодолеть проблему селективности ингибиторов протеолитических ферментов. Аптамеры требуют дополнительной оптимизации для обеспечения проникновения внутрь клетки, однако соответствующие технологии так же быстро развиваются [67]. Комбинированный подход к ингибированию токсинов может стать не только основным методом борьбы с особо опасными токсикоинфекциями, но и тонким инструментом анализа патофизиологии интоксикации.

Источник финансирования

Обзор подготовлен при финансовой поддержке Российского научного фонда в соответствии с условиями Соглашения № 14-15-00630 от 11.07.2014 г. на выполнение фундаментальных исследований по научному проекту «Селекция ДНК-аптамеров к летальному токсину *V. anthracis* и нейротоксину ботулизма типа А и исследование их антиоксидантной активности».

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ЛИТЕРАТУРА

1. Todar K. Bacterial Protein Toxins. URL: <http://textbookofbacteriology.net/proteintoxins.html> (Available: 10.05.2015).
2. Proft T. Bacterial Toxins: Genetics, Cellular Biology and Practical Applications. *Norfolk: Caister Academic Press*. 2013. P. 234.
3. Casadevall A., Pirofski L. Host-pathogen interactions: the attributes of virulence. *J. Inf. Dis.* 2001; 184 (3): 337–344.
4. Montie T.C. Bacterial Protein Toxins. *NY: Elsevier*. 2013. Vol. 3. 109 p.
5. Montal M. Botulinum neurotoxin: a marvel of protein design. *Ann. Rev. Biochem.* 2010; 79: 591–617.
6. Mock M., Fouet A. Anthrax. *Ann. Rev. Microbiol.* 2001; 55: 647–671.
7. Brook I. Botulism: the challenge of diagnosis and treatment. *Rev. Neurol. Dis.* 2006; 3 (4): 182–189.
8. Comer J.E., Ray B.D., Henning L.N., Stark G.V., Barnewall R.E., Mott J.M., Meister G.T. Characterization of a therapeutic model of inhalational anthrax using an increase in body temperature in New Zealand white rabbits as a trigger for treatment. *Clin. Vaccine Immunol.* 2012; 19 (9): 1517–1525.
9. Karwa M., Bronzert P., Kvetan V. Bioterrorism and critical care. *Crit. Care Clin.* 2003; 19 (2): 279–313.
10. Rainey G.J., Young J.A. Antitoxins: novel strategies to target agents of bioterrorism. *Nat. Rev. Microbiol.* 2004; 2 (9): 721–726.
11. Miyoshi S., Shinoda S. Bacterial metalloprotease as the toxic factor in infection. *Toxin Rev.* 1997; 16 (4): 177–194.
12. Hicks R.P., Hartell M.G., Nichols D.A., Bhattacharjee A.K., van Hamont J.E., Skillman D.R. The medicinal chemistry of botulinum, ricin and anthrax toxins. *Curr. Med. Chem.* 2005; 12 (6): 667–690.
13. Liu S., Moayeri M., Leppla S.H. Anthrax lethal and edema toxins in anthrax pathogenesis. *Trends Microbiol.* 2014; 22 (6): 317–325.
14. Jernigan D.B., Raghunathan P.L., Bell B.P., Brechner R., Bresnitz E.A., Butler J.C. Investigation of bioterrorism-related anthrax, United States, 2001: epidemiologic findings. *Emerg. Infect. Dis.* 2002; 8 (10): 1019–1028.
15. Kaur M., Singh S., Bhatnagar R. Anthrax vaccines: present status and future prospects. *Exp. Rev. Vaccines.* 2013; 12 (8): 955–970.
16. Baldari C.T., Tonello F., Paccani S.R., Montecucco C. Anthrax toxins: A paradigm of bacterial immune suppression. *Trends Immunol.* 2006; 27 (9): 434–440.
17. Guichard A., Nizet V., Bier E. New insights into the biological effects of anthrax toxins: linking cellular to organismal responses. *Microbes Infect.* 2012; 14 (2): 97–118.
18. Chen Z., Moayeri M., Purcell R. Monoclonal antibody therapies against anthrax. *Toxins (Basel)*. 2011; 3 (8): 1004–1019.
19. Liu S., Zhang Y., Moayeri M., Liu J., Crown D., Fattah R.J., Wein A.N., Yu Z.X., Finkel T., Leppla S.H. Key tissue targets responsible for anthrax-toxin-induced lethality. *Nature*. 2013; 501 (7465): 63–68.
20. Maize K.M., Kurbanov E.K., De La Mora-Rey T., Geders T.W., Hwang D.J., Walters M.A., Johnson R.L., Amin E.A., Finzel B.C. Anthrax toxin lethal factor domain 3 is highly mobile and responsive to ligand binding. *Acta Crystallogr. Biol. Crystallogr.* 2014; 70 (Pt. 11): 2813–2822.
21. Tonello F., Ascenzi P., Montecucco C. The metalloproteolytic activity of the anthrax lethal factor is substrate-inhibited. *J. Biol. Chem.* 2003; 278 (41): 40075–40078.
22. Levinsohn J.L., Newman Z.L., Hellmich K.A., Fattah R., Getz M.A., Liu S., Sastalla I., Leppla S.H., Moayeri M. Anthrax lethal factor cleavage of Nlrp1 is required for activation of the inflammasome. *PLoS Pathog.* 2012; 8 (3): 1002638.
23. Banks D.J., Ward S.C., Bradley K.A. New insights into the functions of anthrax toxin. *Exp. Rev. Mol. Med.* 2006; 8 (7): 1–18.
24. Nestorovich E.M., Bezrukov S.M. Designing inhibitors of anthrax toxin. *Exp. Opin. Drug Discov.* 2014; 9 (3): 299–318.
25. Yao S. FDA NEWS RELEASE. FDA approves raxibacumab to treat inhalational anthrax. 2012. URL: <http://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm332341.html> (Available: 11.05.2015).

26. Kummerfeldt C.E. Raxibacumab: potential role in the treatment of inhalational anthrax. *Infect. Drug Resist.* 2014; 7: 101–109.
27. Chow S.K., Casadevall A. Monoclonal antibodies and toxins – a perspective on function and isotype. *Toxins (Basel)*. 2012; 4 (6): 430–454.
28. Malkevich N.V., Hopkins R.J., Bernton E., Meister G.T., Vela E.M., Atiee G., Johnson V., Nabors G.S., Aimes R.T., Ionin B., Skiadopoulos M.H. Efficacy and safety of AVP-21D9, an anthrax monoclonal antibody, in animal models and humans. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2014; 58 (7): 3618–3625.
29. Aulinger B.A., Roehrl M.H., Mekalanos J.J., Collier R.J., Wang J.Y. Combining anthrax vaccine and therapy: a dominant-negative inhibitor of anthrax toxin is also a potent and safe immunogen for vaccines. *Infect. Immun.* 2005; 73 (6): 3408–3414.
30. Vance D.J., Rong Y., Brey R.N., Mantis N.J. Combination of two candidate subunit vaccine antigens elicits protective immunity to ricin and anthrax toxin in mice. *Vaccine*. 2015; 33 (3): 417–421.
31. Mechaly A., Levy H., Epstein E., Rosenfeld R., Marcus H., Ben-Arie E., Shafferman A., Ordentlich A., Mazor O. A novel mechanism for antibody-based anthrax toxin neutralization: inhibition of prepore-to-pore conversion. *J. Biol. Chem.* 2012; 287 (39): 32665–32673.
32. Karginov V.A., Yohannes A., Robinson T.M., Fahmi N.E., Alibek K., Hecht S.M. Beta-cyclodextrin derivatives that inhibit anthrax lethal toxin. *Bioorg. Med. Chem.* 2006; 14 (1): 33–40.
33. Lo S.Y., Säbel C.E., Webb M.I., Walsby C.J., Siemann S. High metal substitution tolerance of anthrax lethal factor and characterization of its active copper-substituted analogue. *J. Inorg. Biochem.* 2014; 140: 12–22.
34. Kumar B.V., Malik S., Grandhi P., Dayam R., Sarma J.A. Anthrax lethal factor inhibitors as potential countermeasure of the infection. *Curr. Top Med. Chem.* 2014; 14 (17): 1977–1989.
35. Abrami L., Brandi L., Moayeri M., Brown M.J., Krantz B.A., Leppla S.H., van der Goot F.G. Hijacking multivesicular bodies enables long-term and exosome-mediated long-distance action of anthrax toxin. *Cell Rep.* 2013; 5 (4): 986–996.
36. Turk B.E. Discovery and development of anthrax lethal factor metalloproteinase inhibitors. *Curr. Pharm. Biotechnol.* 2008; 9 (1): 24–33.
37. Bannwarth L., Goldberg A.B., Chen C., Turk B.E. Identification of exosite-targeting inhibitors of anthrax lethal factor by high-throughput screening. *Chem. Biol.* 2012; 19 (7): 875–882.
38. Sela-Passwell N., Rosenblum G., Shoham T., Sagi I. Structural and functional bases for allosteric control of MMP activities: can it pave the path for selective inhibition? *Biochim. Biophys. Acta.* 2010; 1803 (1): 29–38.
39. Jiao G.S., Kim S., Moayeri M., Cregar-Hernandez L., McKasson L., Margosiak S.A., Leppla S.H., Johnson A.T. Antidotes to anthrax lethal factor intoxication. Part 1: Discovery of potent lethal factor inhibitors with in vivo efficacy. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2010; 20 (22): 6850–6853.
40. Kim S., Jiao G.S., Moayeri M., Crown D., Cregar-Hernandez L., McKasson L., Margosiak S.A., Leppla S.H., Johnson A.T. Antidotes to anthrax lethal factor intoxication. Part 2: structural modifications leading to improved in vivo efficacy. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2011; 21 (7): 2030–2033.
41. Jiao G.S., Kim S., Moayeri M., Crown D., Thai A., Cregar-Hernandez L., McKasson L., Sankaran B., Lehrer A., Wong T., Johns L., Margosiak S.A., Leppla S.H., Johnson A.T. Antidotes to anthrax lethal factor intoxication. Part 3: Evaluation of core structures and further modifications to the C2-side chain. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2012; 22 (6): 2242–2246.
42. Rossetto O., Pirazzini M., Montecucco C. Botulinum neurotoxins: genetic, structural and mechanistic insights. *Nat. Rev. Microbiol.* 2014; 12 (8): 535–549.
43. Levin B.R., Svanborg E.C. Selection and evolution of virulence in bacteria: an ecumenical excursion and modest suggestion. *Parasitol.* 1990; 100 (Suppl.): 103–115.
44. Shilpa P.S., Kaul R., Sultana N., Bhat S. Botulinum toxin: The Midas touch. *J. Nat. Sci. Biol. Med.* 2014; 5(1): 8–14.
45. Cavallini M., Cirillo P., Fundarò S.P., Quartucci S., Sciuto C., Sito G., Tonini D., Trocchi G., Signorini M. Safety of botulinum toxin A in aesthetic treatments: a systematic review of clinical studies. *Dermatol. Surg.* 2014; 40 (5): 525–536.
46. Patel K., Cai S., Singh B.R. Current strategies for designing antidotes against botulinum neurotoxins. *Expert Opin. Drug. Discov.* 2014; 9 (3): 319–333.
47. Nowakowski A., Wang C., Powers D.B., Amersdorfer P., Smith T.J., Montgomery V.A., Sheridan R., Blake R., Smith L.A., Marks J.D. Potent neutralization of botulinum neurotoxin by recombinant oligoclonal antibody. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2002; 99 (17): 11346–11350.
48. Diamant E., Lachmi B.E., Keren A., Barnea A., Marcus H., Cohen S., David A.B., Zichel R. Evaluating the synergistic neutralizing effect of anti-botulinum oligoclonal antibody preparations. *PLoS One.* 2014; 9 (1): 87089.
49. Chen C., Wang S., Wang H., Mao X., Zhang T., Ji G., Shi X., Xia T., Lu W., Zhang D., Dai J., Guo Y. Potent neutralization of botulinum neurotoxin/B by synergistic action of antibodies recognizing protein and ganglioside receptor binding domain. *PLoS One.* 2012; 7 (8): e43845.
50. Whitemarsh R.C., Tepp W.H., Johnson E.A., Pellett S. Persistence of botulinum neurotoxin subtypes 1–5 in primary rat spinal cord cells. *PLoS One.* 2014; 9 (2): 90252.
51. Kiris E., Burnett J.C., Kane C.D., Bavari S. Recent advances in botulinum neurotoxin inhibitor development. *Curr. Top Med. Chem.* 2014; 14 (18): 2044–2061.
52. Nestorovich E.M., Karginov V.A., Popoff M.R., Bezrukov S.M., Barth H. Tailored β -cyclodextrin blocks the translocation pores of binary exotoxins from *C. botulinum* and *C. perfringens* and protects cells from intoxication. *PLoS One.* 2011; 6 (8): 23927.
53. Lebeda F.J., Cer R.Z., Mudunuri U., Stephens R., Singh B.R., Adler M. The zinc-dependent protease activity of the botulinum neurotoxins. *Toxins (Basel)*. 2010; 2 (5): 978–997.
54. Turk B.E., Wong T.Y., Schwarzenbacher R., Jarell E.T., Leppla S.H., Collier R.J., Liddington R.C., Cantley L.C. The structural basis for substrate and inhibitor selectivity of the anthrax lethal factor. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 2004; 11 (1): 60–66.
55. Breidenbach M.A., Brunger A.T. Substrate recognition strategy for botulinum neurotoxin serotype A. *Nature.* 2004; 432 (7019): 925–929.
56. Xue S., Javor S., Hixon M.S., Janda K.D. Probing BoNT/A protease exosites: implications for inhibitor design and light chain longevity. *Biochemistry.* 2014; 53 (43): 6820–6824.
57. Sikorra S., Henke T., Galli T., Binz T.J. Substrate recognition mechanism of VAMP/synaptobrevin-cleaving clostridial neurotoxins. *Biol. Chem.* 2008; 283 (30): 21145–21152.
58. Radom F., Jurek P.M., Mazurek M.P., Otlewski J., Jeleń F. Aptamers: molecules of great potential. *Biotechnol. Adv.* 2013; 31 (8): 1260–1274.
59. McKeague M., Derosa M.C. Challenges and opportunities for small molecule aptamer development. *J. Nucleic Acids.* 2012; 2012: 748913.
60. Dupont D.M., Andersen L.M., Botkjaer K.A., Andreasen P.A. Nucleic acid aptamers against proteases. *Curr. Med. Chem.* 2011; 18 (27): 4139–4151.
61. Krauss I., Merlino A., Giancola C., Randazzo A., Mazzarella L., Sica F. Thrombin-aptamer recognition: a revealed ambiguity. *Nucleic Acids Res.* 2011; 39 (17): 7858–7867.
62. Ni X., Castanares M., Mukherjee A., Lupold S.E. Nucleic acid aptamers: clinical applications and promising new horizons. *Curr. Med. Chem.* 2011; 18 (27): 4206–4214.

63. Verghese J., Liang A., Sidhu P.P., Hindle M., Zhou Q., Desai U.R. First steps in the direction of synthetic, allosteric, direct inhibitors of thrombin and factor Xa. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2009; 19 (15): 4126–4129.
64. Radi M., Schenone S., Botta M. Allosteric inhibitors of Bcr-Abl: towards novel myristate-pocket binders. *Curr. Pharm. Biotechnol.* 2013; 14 (5): 477–487.
65. Fukuda K., Umehara T., Sekiya S., Kunio K., Hasegawa T., Nishikawa S. An RNA ligand inhibits hepatitis C virus NS3 protease and helicase activities. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2004; 325 (3): 670–675.
66. Choi J.S., Kim S.G., Lahousse M., Park H.Y., Park H.C., Jeong B., Kim J., Kim S.K., Yoon M.Y. Screening and characterization of high-affinity ssDNAaptamers against anthrax protective antigen. *J. Biomol. Screen.* 2011; 16 (2): 266–271.
67. Röder R., Wagner E. Sequence-defined shuttles for targeted nucleic acid and protein delivery. *Ther. Deliv.* 2014; 5 (9): 1025–1045.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Колесников Александр Владимирович, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии ГНЦ ПМБ

Адрес: 142279, Московская обл., Серпуховский р-н, пос. Оболенск, **тел.:** +7 (496) 736-00-03,

e-mail: pfu2000@mail.ru

Рябко Алёна Константиновна, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии ГНЦ ПМБ

Адрес: 142279, Московская обл., Серпуховский р-н, пос. Оболенск, **тел.:** +7 (496) 736-00-03,

e-mail: ryabko_alena@mail.ru

Шемякин Игорь Георгиевич, доктор биологических наук, заместитель директора по научной работе, заведующий лабораторией молекулярной биологии ГНЦ ПМБ

Адрес: 142279, Московская обл., Серпуховский р-н, пос. Оболенск, **тел.:** +7 (496) 736-00-03,

e-mail: shemyakin@obolensk.org

Козырь Арина Владимировна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии ГНЦ ПМБ

Адрес: 142279, Московская обл., Серпуховский р-н, пос. Оболенск, **тел.:** +7 (496) 736-00-03,

e-mail: avkozyr@gmail.com

434

ОПЕЧАТКА

В № 2 нашего журнала за 2015 г. на 237 с. в переводе названия статьи С.И. Колесникова, Б.Я. Власова, Л.И. Колесниковой «Сероводород как третья эссенциальная газовая молекула живых тканей» на английский язык упущено слово «Sulfide». Читать название статьи следует так: «Hydrogen Sulfide as a Third Essential Gas Molecule in Living Tissues». Редакция приносит читателям свои извинения.

DOI: 10.15690/vramn.v70.i4.1409

А.В. Чаплин¹, А.Г. Бржозовский¹, Т.В. Парфёнова², Л.И. Кафарская¹, Н.Н. Володин³,
А.Н. Шкопоров¹, Е.Н. Ильина², Б.А. Ефимов¹

¹ Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова,
Москва, Российская Федерация

² НИИ физико-химической медицины, Москва, Российская Федерация

³ Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Д. Рогачёва, Москва,
Российская Федерация

Изучение видового разнообразия бактерий рода *Bifidobacterium* кишечной микрофлоры с использованием метода MALDI-TOF масс-спектрометрии

Представители рода *Bifidobacterium* представляют значительную часть микрофлоры кишечника взрослых людей и численно доминируют в микрофлоре младенцев. Известно, что видовой состав кишечных бифидобактерий подвергается сильным изменениям с возрастом, однако многие детали этого процесса остаются неясными. **Цель исследования:** изучить видовое разнообразие бифидобактерий кишечника и изменения их качественного и количественного состава в процессе взросления человека при помощи технологии MALDI-TOF масс-спектрометрического анализа белковых профилей чистых культур. **Методы:** кросс-секционное исследование разнообразия бифидобактерий в составе нормальной микрофлоры кишечника проведено у 93 человек в возрасте от 1 мес до 57 лет. Осуществляли выделение чистых культур и их идентификацию на приборе Microflex LT MALDI-TOF MS (Bruker Daltonics, Германия), подтверждение результатов с использованием секвенирования фрагмента гена 16S рРНК. **Результаты:** с применением MALDI-TOF масс-спектрометрии было успешно идентифицировано 93% выделенных штаммов бифидобактерий. Минимум по 2 представителя от каждого из видов были дополнительно определены методом секвенирования фрагмента гена 16S рРНК; во всех случаях результаты методов совпали. Показано, что с возрастом происходит снижение общей концентрации бифидобактерий ($p < 0,001$), уменьшается встречаемость видов *Bifidobacterium bifidum* ($p = 0,020$) и *Bifidobacterium breve* ($p < 0,001$), а встречаемость вида *Bifidobacterium adolescentis* увеличивается ($p < 0,001$), отражая постепенные процессы перестройки микрофлоры. **Заключение:** метод MALDI-TOF масс-спектрометрии показал возможность быстрой и надежной идентификации бифидобактерий, позволившей провести исследование изменений количественных и качественных показателей микрофлоры человека в процессе взросления.

435

Ключевые слова: бифидобактерии, масс-спектрометрия, микрофлора кишечника.

(Для цитирования: Чаплин А.В., Бржозовский А.Г., Парфёнова Т.В., Кафарская Л.И., Володин Н.Н., Шкопоров А.Н., Ильина Е.Н., Ефимов Б.А. Изучение видового разнообразия бактерий рода *Bifidobacterium* кишечной микрофлоры с использованием метода MALDI-TOF масс-спектрометрии. *Вестник РАМН*. 2015; 70 (4): 435–440. Doi: 10.15690/vramn.v70.i4.1409)

A.V. Chaplin¹, A.G. Brzhozovskii¹, T.V. Parfenova², L.I. Kafarskaia¹, N.N. Volodin³,
A.N. Shkoporov¹, E.N. Ilina², B.A. Efimov¹

¹ N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

² Research Institute of Physical-Chemical Medicine, Moscow, Russian Federation

³ D. Rogachev Federal Research Center of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology,
Moscow, Russian Federation

Species Diversity of *Bifidobacteria* in the Intestinal Microbiota Studied Using MALDI-TOF Mass-Spectrometry

Background: The members of genus *Bifidobacterium* represent a significant part of intestinal microbiota in adults and predominate in infants. Species repertoire of the intestinal bifidobacteria is known to be subjected to major changes with age; however, many details of this process are still to be elucidated. **Objective:** Our aim was to study the diversity of intestinal bifidobacteria and changes of their qualitative and quantitative composition characteristics during the process of growing up using MALDI-TOF mass-spectrometric analysis of pure bacterial cultures. **Methods:** A cross-sectional study of bifidobacteria in the intestinal microbiota was performed in 93 healthy people of the ages from 1 month to 57 years. Strains were identified using Microflex LT MALDI-TOF MS, the confirmation was performed by 16S rRNA gene fragment sequencing. **Results:** 93% of isolated bifidobacterial strains were successfully identified using MALDI-TOF mass-spectrometry. At least two of the strains from each species were additionally identified by 16S rRNA gene fragment sequencing, in all of the cases the results were the same. It was shown that the total concentration of bifidobacteria decreases with age ($p < 0.001$) as well as the frequency of isolation of *Bifidobacterium bifidum* ($p = 0.020$) and *Bifidobacterium breve* ($p < 0.001$), and the frequency of isolation of *Bifidobacterium adolescentis*, increases ($p < 0.001$), representing the continuous process of transformation of microbiota. **Conclusion:** The method of MALDI-TOF mass spectrometry demonstrated the ability to perform rapid and reliable identification of bifidobacteria that allowed the study of changes in the quantitative and qualitative characteristics of human microbiota in the process of growing up.

Key words: bifidobacteria, mass-spectrometry, intestinal microbiota.

(For citation: Chaplin A.V., Brzhozovskii A.G., Parfenova T.V., Kafarskaia L.I., Volodin N.N., Shkoporov A.N., Ilina E.N., Efimov B.A. Species Diversity of Bifidobacteria in the Intestinal Microbiota Studied Using MALDI-TOF Mass-Spectrometry. *Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2015; 70 (4): 435–440. Doi: 10.15690/vramn.v70.i4.1409)

Обоснование

Микрофлора желудочно-кишечного тракта человека, и в первую очередь толстого кишечника, на протяжении многих лет привлекает внимание исследователей из-за своего выраженного влияния на гомеостаз человеческого организма [1, 2]. Наиболее заметной ее ролью является создание колонизационной резистентности, предотвращающей заселение кишечника патогенными микроорганизмами за счет синтеза веществ, подавляющих их рост, а также конкуренции за питательные вещества и места для адгезии [1]. Микрофлора кишечника также участвует в синтезе ряда витаминов, всасывающихся через кишечную стенку и участвующих в метаболизме. Их примерами могут служить витамин К, биотин и фолиевая кислота [3]. Синтезируемые бактериями нормальной микрофлоры короткоцепочечные жирные кислоты способны абсорбироваться в кишечнике, служат дополнительным источником энергии, а также участвуют в стимуляции пролиферации и дифференцировки кишечного эпителия и являются участниками сложной сети взаимодействий микрофлоры с иммунной системой [4]. Показано, что кишечная флора индуцирует образование Т-регуляторных клеток, и в ряде исследований была продемонстрирована ассоциация изменений в ее составе с развитием atopических заболеваний, а также некротизирующего энтероколита [5]. Значительное внимание в настоящее время уделяют механизмам и эффектам взаимодействия кишечной микрофлоры с энтеральным и парасимпатическим отделами нервной системы, через которые возможно опосредованное влияние на процессы в центральной нервной системе [6, 7].

Одной из наиболее изученных групп бактерий нормальной микрофлоры кишечника человека являются представители рода *Bifidobacterium*. Это грамположительные облигатно анаэробные бактерии, производящие молочную и уксусную кислоту в качестве основных конечных продуктов брожения. У детей до 2 лет бифидобактерии являются численно преобладающими в микрофлоре толстой кишки по сравнению с другими микроорганизмами [8]; максимум относительной численности бифидобактерий наблюдается в 3 мес [9]. Показано, что у детей, находящихся на искусственном вскармливании, количество бифидобактерий в микрофлоре кишечника значительно снижено по сравнению с детьми на грудном вскармливании [10]. С возрастом количественный и качественный состав микрофлоры кишечника претерпевает значительные изменения: в частности, доля бифидобактерий снижается до 1–5% [11].

Среди представителей рода *Bifidobacterium* колонизировать слизистую оболочку кишечника человека способны виды *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium angulatum*, *Bifidobacterium animalis*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium catenulatum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium pseudolongum* и *Bifidobacterium pseudocatenulatum*. Также иногда могут быть обнаружены *Bifidobacterium gallicum* и *Bifidobacterium kashiwanohense* [12]. Видовой состав бифидобактерий в кишечной микрофлоре обладает значительной внутривидовой изменчивостью, а также меняется в зависимости от возраста. Наиболее представлен в численном плане в микрофлоре детей и взрослых вид *B. longum* [8, 13, 14]. В одном из исследований было обнаружено, что значительная часть бифидобактерий в микрофлоре младенцев представлена бактериями видов *B. pseudocatenulatum* и *B. adolescentis* [14], но другие работы не подтверждают этих наблюдений [8, 13]. Также значительно варьирует, вплоть

до отсутствия их обнаружения в некоторых исследованиях, представленность видов *B. bifidum*, *B. catenulatum* и *B. pseudolongum*. Причинами таких расхождений могут являться межпопуляционные различия и различия в наборе групп, малые выборки, использование описательной статистики без установления значимости различий, а также варьлируемые методы исследования микрофлоры.

Выбор оптимальной методологии исследования микроорганизмов, колонизирующих кишечник человека, до настоящего времени остается проблемой, не имеющей однозначного решения [15]. В последние годы широко применяются подходы, основанные на метагеномном анализе тотальной ДНК либо на анализе амплифицированных фрагментов генов 16S рРНК из биологических образцов с помощью технологий высокопроизводительного секвенирования. Эти технологии позволяют получать информацию о видовом разнообразии как культивируемых, так и некультивируемых бактерий в составе микрофлоры. Вместе с тем они имеют и ряд недостатков: затруднена оценка фенотипических свойств бактерий, почти невозможно получение информации об отдельных штаммах одного вида, одновременно присутствующих в микрофлоре, сложность и дороговизна этих технологий лимитируют получение данных на больших выборках. Другим вариантом изучения микрофлоры человека является классический бактериологический метод, представляющий собой выделение чистых культур и их идентификацию. Он ограничивает спектр определяемых микроорганизмов только культивируемыми видами, однако позволяет проводить детальные исследования выделенных штаммов. Существуют различные методы, обеспечивающие определение выделенных бактерий до уровня вида. До последнего времени наиболее часто применялась биохимическая идентификация по набору ферментативных активностей с использованием готовых тест-систем, однако многие известные виды, в т.ч. и бифидобактерий, невозможно точно разделить с использованием данного подхода [16]; также применение этого метода является относительно дорогостоящим, что затрудняет его масштабирование на большое число идентифицируемых штаммов. Проблема высокой стоимости и трудоемкости возникает и при использовании современных молекулярно-генетических методов идентификации, в частности секвенирования генов 16S рРНК чистых культур бактерий [17].

В последние годы в бактериологии все шире начинают применять метод видовой идентификации, основанный на времяпролетной масс-спектрометрии с лазерной десорбцией-ионизацией при содействии матрицы (Matrix-Assisted Laser Desorption / Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry, MALDI-TOF MS). В этом методе выделенные белковые экстракты либо непосредственно бактериальные клетки смешивают с насыщенным раствором вещества-матрицы, что приводит к их совместной кристаллизации. Лазерный импульс вызывает ионизацию и взрывное испарение матрицы вместе с исследуемыми белками. Образующиеся ионы разгоняются в безвоздушной среде электростатическим полем, после чего пролетают через участок без ускорения и врезаются в мишень детектора; при этом прибор регистрирует время пролета ионов, которое будет отражать их массово-зарядовое соотношение. Таким образом, метод MALDI-TOF масс-спектрометрии позволяет регистрировать белковый спектр чистой культуры бактерий, который при сравнении с базой данных дает возможность провести идентификацию с точностью до вида. Данная технология позволяет анализировать большое число бактериальных штаммов быстро, с высокой точностью, а также, учитывая

стоимость только расходных материалов, значительно дешевле других методов [17].

Целью нашего исследования было проанализировать видовой состав бифидобактерий микрофлоры кишечника детей разных возрастов и взрослых людей при помощи чистых культур и их идентификации с использованием MALDI-TOF масс-спектрометрии и секвенирования генов 16S рНК.

Методы

Дизайн исследования

Проведено кросс-секционное исследование.

Критерии соответствия

Изучение качественного и количественного состава бифидобактерий толстого кишечника проводили у лиц обоего пола во всем диапазоне возрастов. Обследуемые на момент исследования не принимали анти-, про- или пребиотики.

Условия проведения

Исследование проведено на базе кафедры микробиологии и вирусологии РНИМУ им. Н.И. Пирогова (Москва).

Продолжительность исследования

Материал брали однократно; наблюдений за состоянием обследуемых или исследования в динамике в рамках данной работы не проводили.

Методы регистрации результатов

Материалом для исследования служили фекалии, которые собирали стерильным шпателем и помещали в транспортный контейнер. В бактериологической лаборатории из исследуемого материала готовили серийные разведения в физиологическом растворе и высевали аликвоты в количестве 0,1 мл из разведений исследуемого материала 10^5 и 10^7 раз на чашки Петри со средой *Bifidobacterium agar* (Himedia Labs Inc., Индия). Чашки с посевами инкубировали в микроанаэроаэратах (Oxoid, Великобритания), заполненных газовой смесью (85% N_2 , 10% H_2 , 5% CO_2) при 37 °С в течение 48 ч. Все морфологические типы колоний подсчитывали и культивировали независимо. Первичный скрининг штаммов осуществляли бактериоскопическим методом с использованием окраски по Граму. Штаммы, характеризующиеся типичной морфологией бифидобактерий, лиофилизировали в растворе сахарозы (10%) и желатина (1%) в лиофильной сушке SB1 (Chemlab, Бельгия). Все последующие манипуляции с чистыми культурами бифидобактерий осуществляли после выделения культур из лиофилизированных образцов.

Для выделения белков чистые культуры бактерий ресуспендировали в 300 мкл деионизованной воды, после чего добавляли 900 мкл 70% этанола. Далее проводили центрифугирование в течение 2 мин при 10 тыс. об./мин; супернатант удаляли. В осадок, просушенный на воздухе, добавляли 70% муравьиную кислоту в объеме 25–50 мкл. После 3 мин инкубации добавляли равный объем ацетонитрила, смесь перемешивали, затем центрифугировали 2 мин при 10 тыс. об./мин.

Супернатант с экстрагированными белками в объеме 1 мкл наносили на мишень. После высушивания образец сверху покрывали матрицей, состоящей из насыщенного раствора α -циано-4-гидроксикоричной кислоты в раство-

ре 50% ацетонитрила и 2,5% трифторуксусной кислоты. После этого была проведена масс-спектрометрия с использованием прибора Microflex LT MALDI-TOF MS (Bruker Daltonics, Германия). Анализ спектров осуществляли с использованием программного обеспечения MALDI Biotyper 3.0 (Bruker Daltonics, Германия). Учитывали только значения, рейтинг (score) которых составлял $\geq 1,7$.

Штаммы бифидобактерий, видовую принадлежность которых не удалось установить при помощи метода MALDI-TOF масс-спектрометрии, были идентифицированы путем секвенирования фрагмента гена 16S рНК. Кроме того, этот же метод использовали выборочно для подтверждения правильности видовой идентификации бифидобактерий методом масс-спектрометрии. Для определения нуклеотидной последовательности фрагмента гена 16S рНК методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) осуществляли амплификацию участка, соответствующего фрагменту размером 493 п.н. в *Escherichia coli*, с использованием универсальных бактериальных праймеров UF1 (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') и UR1 (5'-GCTGGCACGTAGTTAGCC-3') в течение 35 циклов со следующей программой: денатурация — 94 °С, 20 с; отжиг праймеров — 58 °С, 20 с; элонгация — 72 °С, 30 с. Полученный ПЦР-продукт очищали с использованием ZR DNA Sequencing Clean-Up Kit (Zymo Research, США). Для постановки реакции секвенирования по Сэнгеру с праймера UF1 использовали набор реагентов BigDye Terminator Cycle Sequencing Kit (Amersham, Великобритания). Продукты реакции анализировали при помощи автоматического секвенатора ABI 3100 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США) и набора программного обеспечения к нему. Определение границ отсечения последовательностей по качеству электрофореграммы осуществляли визуально с использованием программы Chromas Lite. Видовую принадлежность бифидобактерий устанавливали на основе поиска полученных последовательностей нуклеотидов в базе данных GenBank при помощи алгоритма BLAST.

Этическая экспертиза

В соответствии с заключением Этического комитета РНИМУ им. Н.И. Пирогова от 25.03.15 г., данное исследование не подлежит этической экспертизе согласно СОП ЭК РНИМУ им. Н.И. Пирогова.

Статистический анализ

Принципы расчета размера выборки

Размер выборки предварительно не рассчитывали.

Методы статистического анализа данных

Статистическую обработку данных осуществляли с применением программного пакета R. Для анализа встречаемости видов использовали критерий Манна–Уитни, в котором в качестве непрерывной переменной выступал возраст обследуемого, а в качестве дискретной — наличие или отсутствие представителей данного вида среди выделенных от пациента штаммов. Использование критерия Манна–Уитни стало возможно вследствие его эквивалентности тесту на нулевую ранговую бисериальную корреляцию [18]. Анализ численности бифидобактерий осуществляли с применением регрессионного анализа. Проверку на нормальность распределения остатков и гомоскедастичность проводили с помощью визуальной оценки квантиль-квантильных графиков и графиков остаток–предсказание, соответственно. Для введения поправок на множественные сравнения использовали метод Бонферрони. Во всех случаях различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Участники исследования

Изучение качественного и количественного состава бифидобактерий толстого кишечника проведено у 93 практически здоровых людей обоего пола [30 (32%) мужского и 63 (68%) женского]. Разброс возраста составлял от 1 мес до 57 лет, при этом дети до 2 лет составляли 33% от общей выборки.

Основные результаты исследования

Суммарно в результате исследования было выделено 260 штаммов бактерий, из которых для 220 была подтверждена принадлежность к роду *Bifidobacterium*. Если в ходе исследования оказывалось, что два или более штамма, выделенных от одного обследуемого, относятся к одному виду, то их рассматривали как один штамм. При этом их концентрация суммировалась. Окончательное число штаммов бифидобактерий в работе составило 187. С использованием MALDI-TOF масс-спектрометрии успешно идентифицировано 93% выделенных штаммов бифидобактерий. В 7% случаев результат масс-спектрометрической идентификации определялся как ненадежный ($score < 1,7$); в этом случае проводили идентификацию с использованием секвенирования гена 16S рРНК.

Дополнительно минимум по 2 представителя от каждого из видов были проанализированы параллельно методом MALDI-TOF масс-спектрометрии и секвенированием фрагментов гена 16S рРНК; во всех случаях результаты совпали.

Среди выделенных штаммов кишечных бифидобактерий ($n = 187$) было идентифицировано 44 штамма *B. adolescentis*, 65 *B. longum*, 31 *B. bifidum*, 13 *B. catenulatum*, 7 *B. pseudocatenulatum*, 2 *B. angulatum*, 7 *B. breve*, 13 *B. animalis* и 5 *B. dentium*. Представители видов *Bifidobacterium pseudolongum*, *B. gallicum* и *B. kashiwanohense* обнаружены не были. Таким образом, самым распространенным из видов был *B. longum* (обнаруживался в 65 случаях из 93 — 70,0%), а самыми редкими — виды *B. dentium* (5 случаев из 93 — 5,4%) и *B. angulatum* (2 случая из 93 — 2,2%). Послед-

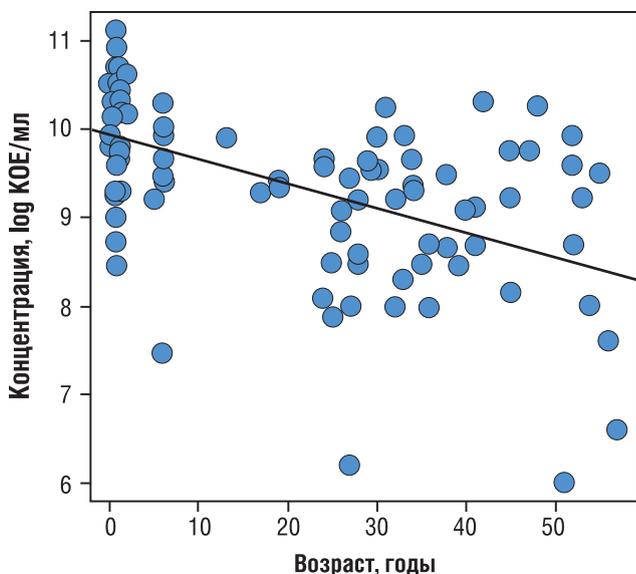


Рис. 1. Зависимость тотальной концентрации бифидобактерий от возраста обследуемого.

Примечание. Каждая точка соответствует одному обследуемому. Линия тренда построена с использованием метода наименьших квадратов в координатах, представленных на графике.

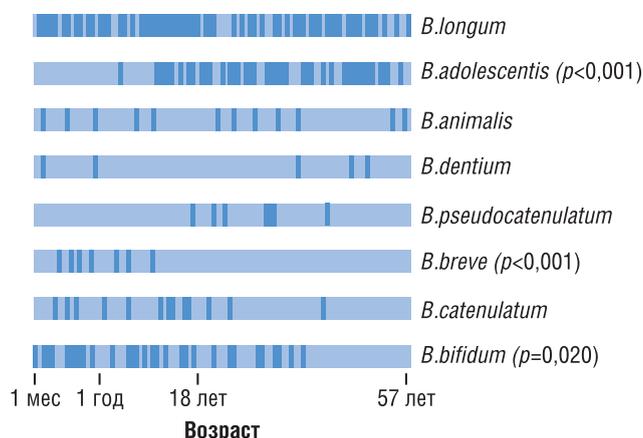


Рис. 2. Встречаемость видов бифидобактерий в зависимости от возраста обследуемого.

Примечание. Диаграммы разделены на 93 столбца, каждый из которых соответствует одному обследуемому; расположены в порядке от наименьшего возраста к наибольшему. Черный цвет означает наличие данного вида среди штаммов, выделенных от данного пациента, серый — отсутствие. Для видов, встречаемость которых значимо зависит от возраста, указаны соответствующие значения p . Вид *B. angulatum*, представленный в данном исследовании всего 2 штаммами, был исключен из анализа.

ний был исключен из анализа встречаемости вследствие крайне малой представленности. Необходимо отметить, что для *B. longum* в данном исследовании не разделялись внутривидовые группы.

Суммарная концентрация бифидобактерий у обследуемых в среднем составила $9,3 \pm 1,0 \log \text{ КОЕ/г}$ (рис. 1); средние концентрации отдельных видов незначимо варьировали от 8,5 до 9,7 $\log \text{ КОЕ/г}$. С использованием регрессионного анализа было показано, что суммарная концентрация бифидобактерий в среднем снижается с возрастом ($p < 0,001$). Также снижение концентрации было выявлено для отдельных видов: *B. longum* ($p < 0,001$), *B. catenulatum* ($p = 0,014$) и *B. animalis* ($p = 0,036$). Ни для одного из видов бифидобактерий не было установлено статистически значимого повышения их абсолютной концентрации с возрастом.

Для некоторых видов показано, что их встречаемость (в концентрации более 10^6 КОЕ/г , служившей порогом чувствительности в данном исследовании) зависит от возраста (рис. 2). В частности, было обнаружено статистически значимое снижение частоты встречаемости *B. breve* с возрастом ($p < 0,001$), максимальный возраст их носителя в данном исследовании составил 2 года. Также с возрастом уменьшалась частота обнаружения *B. bifidum* ($p = 0,020$). Напротив, встречаемость *B. adolescentis* с возрастом увеличивалась ($p < 0,001$). В данной выборке они обнаруживались только среди обследуемых не младше 12 мес. Для остальных видов не установлено значимой зависимости частоты их выделения от возраста.

Обсуждение

По результатам исследования показано значимое уменьшение частоты встречаемости видов *B. bifidum* и *B. breve* с возрастом и повышение частоты встречаемости вида *B. adolescentis*. Также отмечено статистически значимое снижение как тотальной концентрации бифидобактерий, так и в отдельности видов *B. longum*, *B. catenulatum* и *B. animalis*. В исследовании не были обнаружены

ранее выделенные из микрофлоры кишечника человека *B. pseudolongum*, *B. gallicum* и *B. kashiwanohense*. Вероятно, это связано с их относительно редкой встречаемостью в микрофлоре кишечника человека, в соответствии с данными, полученными некультуральными методами [8].

Микробиоценоз толстого кишечника человека является системой, взаимодействия внутри которой чрезвычайно сложны и все еще далеки от полного понимания. Это обусловлено и большим числом формирующих ее микроорганизмов, и значительными ее различиями между индивидуумами, и высоким уровнем внутривидовой изменчивости бактерий в ее составе. В последние годы с появлением технологий высокопроизводительного секвенирования и внедрением MALDI-TOF масс-спектрометрии для идентификации чистых культур микроорганизмов открылись новые возможности для детального изучения различных аспектов нормальной микрофлоры.

В недавних исследованиях показано, что микрофлора человека отличается значительной стабильностью на уровне видов и внутривидовых групп, в т.ч. это относится к самым изученным микроорганизмам среди численно доминирующих представителей микрофлоры — бифидобактериям [19, 20]. При этом в ней ярко прослеживаются плавные изменения в процессе взросления. Причины этого, а также роль данных изменений не являются очевидными. Частично происходящая смена видового состава может быть объяснена изменением спектра доступных для утилизации субстратов в кишечнике при переходе от вскармливания материнским молоком или искусственными смесями к взрослому типу питания. Так, вид *B. adolescentis*, встречаемость которого увеличивается по мере взросления, по-видимому, специализируется на сбраживании растительных углеводов, в частности крахмала [21]. Представители вида *B. bifidum*, встречаемость которых уменьшается с возрастом, обладают набором сиалидаз и фукозидаз, обеспечивающих утилизацию как муцина толстой кишки, так и олигосахаридов грудного молока [22]. Для вида *B. longum*, обладающего значительным генетическим разнообразием, показано уменьшение с возрастом встречаемости подвида *infantis*, способного сбраживать молочные олигосахариды, при сохранении численности подвида *longum*, более приспособленного для метаболизма растительных ксилано- и арабинозосодержащих углеводов [23].

Однако очевидные изменения в рационе питания человека при его взрослении не объясняют быстрое исчезновение вида *B. breve*, обладающего широким спектром гликолитических ферментов для расщепления циклодекстринов и галактанов [24]. Вероятно, в адаптации системы микроорганизм–хозяин большее значение имеют метаболическое взаимодействие между различными микроорганизмами кишечной микрофлоры на уровне взаимодополнения ферментного набора для расщепления различных субстратов, а также использование одними бактериями продуктов жизнедеятельности других [25]. В этом случае бактериальная популяция изменяется как целое, адаптируясь к соответствующим

изменениям своей экологической ниши в ходе взросления человека. Свой вклад в этот процесс также может вносить постепенное повышение с возрастом видовой разнообразия микроорганизмов нормальной микрофлоры из-за постоянных контактов с новыми штаммами бактерий, потенциально способных к колонизации толстой кишки [11].

До настоящего времени остается неизученным влияние смены микрофлоры на физиологические процессы в организме. Можно предположить, что постепенное нарастание видовой и штаммового разнообразия приводит к функциональной избыточности метаболических процессов в микрофлоре, что повышает ее стабильность под действием различных внешних факторов, поскольку снижение функциональной активности ранее доминировавших групп может быть компенсировано другими членами сообщества. В то же время остается неясной роль снижения представленности отдельных видов, характерных только для детского возраста, таких как *B. breve*. Кроме того, малоизучен вклад внутривидовой генетической изменчивости бифидобактерий во взаимоотношения микроорганизм–хозяин. Можно надеяться, что дальнейшие исследования в области анализа взаимодействий, происходящих в нормальной микрофлоре, помогут решить данные вопросы.

Ограничения исследования

Основным ограничением исследования является анализ только видов бифидобактерий, концентрация которых превышала 10^6 КОЕ/г, вследствие использования разведений исследуемого материала при посеве на плотные питательные среды. Также не может быть исключено присутствие в образцах видов бифидобактерий, которые не растут на питательной среде, использованной в данном исследовании.

Заключение

Метод MALDI-TOF масс-спектрометрии показал возможность быстрой, дешевой и надежной идентификации бифидобактерий, выделяемых из микрофлоры кишечника. Это позволило провести сравнительное исследование бифидобактерий толстого кишечника в процессе становления микрофлоры, показавшее постепенную смену микробного пейзажа в ходе взросления человека. Установлено значимое уменьшение частоты встречаемости видов *B. bifidum* и *B. breve* с возрастом и увеличение встречаемости вида *B. adolescentis*. Общая концентрация бифидобактерий в кишечнике снижается, отражая общую перестройку микробного сообщества.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки исследования / конфликта интересов, о которых необходимо сообщить.

ЛИТЕРАТУРА

1. O'Hara A.M., Shanahan F. The gut flora as a forgotten organ. *EMBO Rep.* 2006; 7 (7): 688–693.
2. Jandhyala S.M., Talukdar R., Subramanyam C., Vuyuru H., Sasikala M., Nageshwar Reddy D. Role of the normal gut microbiota. *World J Gastroenterol.* 2015; 21(29): 8787–8803
3. Rossi M., Amaretti A., Raimondi S. Folate production by probiotic bacteria. *Nutrients.* 2011; 3 (1): 118–134.
4. Vieira A.T., Teixeira M.M., Martins F.S. The role of probiotics and prebiotics in inducing gut immunity. *Front Immunol.* 2013; 4: 445.

5. Francino M.P. Early development of the gut microbiota and immune health. *Pathog.* 2014; 3 (3): 769–790.
6. Luna R.A., Foster J.A. Gut brain axis: diet microbiota interactions and implications for modulation of anxiety and depression. *Curr. Opin. Biotechnol.* 2015; 32: 35–41.
7. Foster J.A., McVey Neufeld K.A. Gut brain axis: how the microbiome influences anxiety and depression. *Trends Neurosci.* 2013; 36 (5): 305–312.
8. Turrone F., Peano C., Pass D.A., Foroni E., Severgnini M., Claesson M.J., Kerr C., Ventura M. Diversity of bifidobacteria within the infant gut microbiota. *PLoS One.* 2012; 7 (5): 36957.
9. Jakobsson H.E., Abrahamsson T.R., Jenmalm M.C., Harris K., Quince C., Jernberg C., Björkstén B., Engstrand L., Andersson A.F. Decreased gut microbiota diversity, delayed *Bacteroidetes* colonisation and reduced Th1 responses in infants delivered by Caesarean section. *Gut.* 2014; 63 (4): 559–566.
10. Fan W., Huo G., Li X., Yang L., Duan C., Wang T., Chen J. Diversity of the intestinal microbiota in different patterns of feeding infants by Illumina high-throughput sequencing. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 2013; 29 (12): 2365–2372. Doi: 10.1007/s11274-013-1404-3.
11. Ringel-Kulka T., Cheng J., Ringel Y., Salojarvi J., Carroll I., Palva A., de Vos W.M., Satokari R. Intestinal microbiota in healthy U.S. young children and adults a high throughput microarray analysis. *PLoS One.* 2013; 8 (5): 64315.
12. Mayo V., van Sinderen D. Bifidobacteria: Genomics and Molecular Aspects. *Norfolk, UK: Caister Academic Press.* 2010. 260 p.
13. Шкопоров А.Н., Кафарская Л.И., Афанасьев С.С., Смянов В.В., Кириллов М.Ю., Постникова Е.А., Максимов Ф.Е., Хохлова Е.В., Ефимов Б.А. Молекулярно-генетический анализ видового и штаммового разнообразия бифидобактерий у детей раннего возраста. *Вестник РАМН.* 2006; 1: 45–50.
14. Turrone F., Foroni E., Pizzetti P., Giubellini V., Ribbera A., Merusi P., Cagnasso P., Bizzarri B., de'Angelis G.L., Shanahan F., van Sinderen D., Ventura M. Exploring the diversity of the bifidobacterial population in the human intestinal tract. *Appl. Environ Microbiol.* 2009; 75 (6): 1534–1545.
15. Ignys I., Szachta P., Galecka M., Schmidt M., Pazgrat-Patan M. Methods of analysis of gut microorganism — actual state of knowledge. *Ann. Agric. Environ. Med.* 2014; 21 (4): 799–803.
16. Bahaka D., Neut C., Khattabi A., Monget D., Gavini F. Phenotypic and genomic analyses of human strains belonging or related to *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium infantis*, and *Bifidobacterium breve*. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 1993; 43 (3): 565–573.
17. Nomura F. Proteome based bacterial identification using matrix assisted laser desorption ionization time of flight mass spectrometry (MALDITOF MS): A revolutionary shift in clinical diagnostic microbiology. *Biochem Biophys Acta.* 2015; 1854 (6): 528–537.
18. Willson V.L. Critical Values of the Rank-Biserial Correlation Coefficient. *Edu. Psychol. Meas.* 1976; 36 (2): 297–300.
19. Faith J.J., Guruge J.L., Charbonneau M., Subramanian S., Seedorf H., Goodman A.L., Clemente J.C., Knight R., Heath A.C., Leibel R.L., Rosenbaum M., Gordon J.I. The long term stability of the human gut microbiota. *Science.* 2013; 341 (6141): 1237439.
20. Shkoporov A.N., Efimov B.A., Khokhlova E.V., Chaplin A.V., Kafarskaya L.I., Durkin A.S., McCarrison J., Torralba M. Draft Genome Sequences of Two Pairs of Human Intestinal *Bifidobacterium longum* subsp. *longum* Strains, 44B and 16B and 35B and 22B, Consecutively Isolated from Two Children after a 5 Year Time Period. *Genome Announc.* 2013; 1 (3): e00234–13.
21. Duranti S., Turrone F., Lugli G.A., Milani C., Viappiani A., Mangifesta M., Mancabelli L., Sanchez B., Ferrario C., Mancino W., Gueimonde M. Genomic characterization and transcriptional stability of the starch utilizing strain *Bifidobacterium adolescentis* 22L. *Appl. Environ. Microbiol.* 2014; 80 (19): 6080–6090.
22. Turrone F., Duranti S., Bottacini F., Guglielmetti S., Van Sinderen D., Ventura M. *Bifidobacterium bifidum* as an example of a specialized human gut commensal. *Front Microbiol.* 2014; 5: 437.
23. Lee J.H., O'Sullivan D.J. Genomic insights into bifidobacteria. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 2010; 74 (3): 378–416.
24. Pokusaeva K., Fitzgerald G.F., van Sinderen D. Carbohydrate metabolism in *Bifidobacteria*. *Genes Nutr.* 2011; 6 (3): 285–306.
25. Rios-Covian D., Arboleya S., Hernandez-Barranco A.M., Alvarez-Buylla J.R., Ruas-Madiedo P., Gueimonde M., de los Reyes-Gavilán C.G. Interactions between *Bifidobacterium* and *Bacteroides* species in cofermentations are affected by carbon sources, including exopolysaccharides produced by bifidobacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 2013; 79 (23): 7518–7524.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Чаплин Андрей Викторович, аспирант кафедры микробиологии и вирусологии РНИМУ им. Н.И. Пирогова
 Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, д. 1, тел.: +7 (495) 434-16-77, e-mail: okolomedik@gmail.com

Бржозовский Александр Геннадьевич, лаборант-исследователь РНИМУ им. Н.И. Пирогова
 Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, д. 1, тел.: +7 (495) 434-16-77, e-mail: barjik@mail.ru

Парфёнова Татьяна Витальевна, лаборант-исследователь, младший научный сотрудник НИИ ФХМ
 Адрес: 119435, Москва, ул. Малая Пироговская, д. 1а, тел.: +7 (499) 245-04-71, e-mail: parfenova1983@gmail.com

Кафарская Людмила Ивановна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой микробиологии и вирусологии РНИМУ им. Н.И. Пирогова
 Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, д. 1, тел.: +7 (495) 434-16-77, e-mail: likmed@mail.ru

Володин Николай Николаевич, доктор медицинских наук, академик РАМН, профессор ФНКЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Д. Рогачёва
 Адрес: 117997, Москва, ул. Саморы Машела, д. 1, тел.: +7 (495) 287-65-70, e-mail: info@fnkc.ru

Шкопоров Андрей Николаевич, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник кафедры микробиологии и вирусологии РНИМУ им. Н.И. Пирогова
 Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, д. 1, тел.: +7 (495) 434-16-77, e-mail: a.shkoporov@gmail.com

Ильина Елена Николаевна, доктор биологических наук, доцент, заведующая лабораторией молекулярной генетики микроорганизмов НИИ ФХМ
 Адрес: 119435, Москва, ул. Малая Пироговская, д. 1а, тел.: +7 (499) 245-04-71, e-mail: ilinaen@gmail.com

Ефимов Борис Алексеевич, доктор медицинских наук, профессор кафедры микробиологии и вирусологии РНИМУ им. Н.И. Пирогова
 Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, д. 1, тел.: +7 (495) 434-16-77, e-mail: efimov_ba@mail.ru

DOI: 10.15690/vramn.v70.i4.1410

Д.А. Попков, Н.А. Кононович, Э.Р. Мингазов, Р.Б. Шутов, Д. Барбье

Российский научный центр «Восстановительная травматология и ортопедия» им. акад. Г.А. Илизарова,
Курган, Российская Федерация

Интрамедуллярный эластичный трансфизарный остеосинтез большеберцовой кости и его влияние на рост сегмента

Интрамедуллярный трансфизарный эластичный остеосинтез применяется у детей при заболеваниях, сопровождающихся сниженными прочностными свойствами костной ткани, в первую очередь при несовершенном остеогенезе. **Цель исследования:** изучить рост большеберцовой кости в условиях трансфизарного встречного проведения эластичных стержней без нарушения целостности кости, при моделировании поперечного перелома, а также сочетании трансфизарного армирования и поднадкостничного расположения титановой сетки с вклеенными в нее эластичными стержнями. **Методы:** проведено нерандомизированное контролируемое исследование на 3 группах (сериях) щенков (по 6 животных в каждой серии). В серии I производили встречное трансфизарное армирование большеберцовой кости, в серии II — трансфизарное армирование в сочетании с поперечной остеотомией костей голени, в серии III трансфизарный эластичный остеосинтез выполнялся вместе с поднадкостничным введением сетки из никелида титана с вклеенными в нее эластичными стержнями при поперечной остеотомии костей голени. **Результаты:** трансфизарное армирование вызывало замедление роста оперированной большеберцовой кости с потерей длины на 3,8 мм ($p=0,078$) в I, на 7,8 мм ($p=0,032$) во II и на 7,7 мм ($p=0,042$) в III серии. Эксцентричное проведение трансфизарных стержней формировало угловую деформацию в процессе последующего роста, в среднем на 7° ($p=0,023$) на уровне дистального эпифиза во всех сериях. Пери- и эндостальные реакции способствовали увеличению диаметра диафиза большеберцовой кости в серии II на 3,9 мм ($p=0,037$), в серии III — на 3,8 мм ($p=0,041$) по сравнению с контрольной конечностью. В первой серии разницы диаметров между оперированной и интактной большеберцовой костью не наблюдалось. **Заключение:** интрамедуллярное трансфизарное армирование замедляет рост кости в длину. Для предотвращения угловых деформаций расположение телескопических систем должно быть максимально близким к центру ростковых зон. Поднадкостничное армирование не замедляет консолидацию фрагментов и может сочетаться с интрамедуллярным трансфизарным остеосинтезом.

441

Ключевые слова: трансфизарный эластичный остеосинтез, несовершенный остеогенез.

(Для цитирования: Попков Д.А., Кононович Н.А., Мингазов Э.Р., Шутов Р.Б., Барбье Д. Интрамедуллярный эластичный трансфизарный остеосинтез большеберцовой кости и его влияние на рост сегмента. *Вестник РАМН*. 2015; 70 (4): 441–449. Doi: 10.15690/vramn.v70.i4.1410)

D.A. Popkov, N.A. Kononovich, E.R. Mingazov, R.B. Shutov, D. Barbier

Russian Ilizarov Scientific Center «Restorative Traumatology and Orthopaedics»,
Kurgan, Russian Federation

Intramedullary Elastic Transphyseal Tibial Osteosynthesis and Its Effect on Segmental Growth

Background: Intramedullary transphyseal elastic osteosynthesis is used in children for the diseases accompanied by the reduced strength properties of bone tissue, and primarily for osteogenesis imperfecta. **Objective:** The purpose of the experimental study was to investigate tibial growth under the conditions of transphyseal counter-directed insertion of elastic rods without bone integrity breaking, under transverse fracture modeling, as well as under combining transphyseal reinforcement and subperiosteal positioning the titanium mesh with the elastic rods involved in it. **Methods:** Non-randomized controlled trial was performed. Three series of experiments performed in 18 puppies. Counter-directed transphyseal reinforcement of tibia performed in Series I, transphyseal reinforcement combined with transverse osteotomy of leg bones — in Series II, transphyseal elastic osteosynthesis and subperiosteal positioning the titanium nickelide mesh with involved in it elastic rods during transverse leg bone osteotomy performed in Series III. **Results:** Transphyseal reinforcement resulted in growth retardation of the operated tibia. The loss of residual growth was 3.8 mm ($p=0.078$) in series I; 7.8 mm ($p=0.032$) — in series II; 7.7 mm ($p=0.042$) — in series III. Eccentric insertion of transphyseal rods formed an angular deformity (mean value 7° ; $p=0.023$) of the distal tibial epiphysis in the process of residual growth. Periosteal and endosteal reactions contributed to enlargement of diaphyseal diameter of 3.9 mm (series II; $p=0.037$) and 3.8 mm (series III; $p=0.041$). Any difference of diameter between operated and intact tibia was not observed in series I. **Conclusion:** Intramedullary transphyseal reinforcement retards longitudinal bone growth. The positioning of the telescopic systems should be as close as possible to the center of growth plates in order to prevent angular deformities. Subperiosteal reinforcement doesn't retard consolidation of fragments, and it can be combined with intramedullary transphyseal osteosynthesis.

Key words: transphyseal elastic osteosynthesis, osteogenesis imperfecta.

(For citation: Popkov D.A., Kononovich N.A., Shutov R.B., Barbier D. Intramedullary Elastic Transphyseal Tibial Osteosynthesis and Its Effect on Segmental Growth. *Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2015; 70 (4): 441–449. Doi: 10.15690/vramn.v70.i4.1410)

Обоснование

Системные заболевания скелета, сопровождающиеся сниженными прочностными свойствами костной ткани, особенно несовершенный остеогенез, крайне часто осложняются патологическими переломами, деформациями и неравенством длины конечностей [1–3]. Sofield и Millar первыми предложили для коррекции деформаций при несовершенном остеогенезе выполнять трансфизарный интрамедуллярный остеосинтез [1]. При этом интрамедуллярно введенный материал остается на весь период роста, выполняя роль внутреннего тьютора на время сращения костных фрагментов, а также предотвращая появление новых деформаций. Данный принцип хирургической профилактики и лечения деформаций конечностей остается актуальным [2].

В 1987 г. Métaizeau для лечения обычных переломов трубчатых костей у детей, а также для предотвращения формирования деформаций при системных заболеваниях скелета предложил использовать интрамедуллярное встречное трансфизарное эластичное армирование (flexible intramedullary nailing) [3]. Преимуществом эластичных стержней является возможность их использования при любом диаметре костномозгового канала, что особенно важно у детей в возрасте до 5–6 лет. Трансфизарное расположение стержней предполагает их прохождение через зоны роста. Следовательно, выбор оптимальных участков введения интрамедуллярных фиксаторов имеет важное клиническое значение в ортопедии детского возраста. Однако экспериментальные работы в области влияния дозированного повреждения ростковых пластинок немногочисленны и не позволяют прийти к единому мнению в вопросе определения оптимального пространственного расположения трансфизарных стержней [4–6]. Такая ситуация требует экспериментального обоснования методики трансфизарного армирования.

Другим нерешенным вопросом остается сохранение функций тьютора трансфизарно проведенных спиц по мере их расхождения в средней части кости в процессе естественного роста сегмента. Единственным решением в настоящее время остается замена спиц на более длинные для предотвращения деформаций и/или патологических переломов [3, 6]. Однако до сих пор отсутствует предложенный и тем более экспериментально апробированный способ пролонгации функции тьютора интрамедуллярной (или комбинированной) системы.

Таким образом, вопрос совершенствования трансфизарных систем остается актуальным. Кроме того, при клиническом использовании отсутствуют количественные данные влияния трансфизарно проведенных элементов на продольный рост конечности, формирование эпифизов армированных сегментов или развитие угловых деформаций.

Наше экспериментальное исследование было направлено на изучение следующих вопросов: оптимальное расположение трансфизарных стержней, влияние их на продольный рост и развитие суставных концов оперированного сегмента, а также разработка принципиально нового способа продления свойств внутреннего тьютора добавлением поднадкостничного армирования.

Целью исследования было изучить рост большеберцовой кости в условиях трансфизарного встречного проведения эластичных стержней неповрежденной кости и при моделировании поперечного перелома, а также в сочетании трансфизарного армирования и поднадкост-

ничного расположения титановой сетки с вплетенными в нее эластичными стержнями.

Методы

Дизайн исследования

Проведено нерандомизированное контролируемое исследование на 18 щенках. Животных параллельно разделили на 3 группы (серии) в зависимости от вида оперативного вмешательства.

Критерии соответствия

Основным критерием включения являлись возраст и общее состояние животных.

Условия проведения

Эксперименты выполнены на базе вивария РНЦ «Восстановительная травматология и ортопедия» им. акад. Г.А. Илизарова (Курган). Животных содержали в индивидуальных боксах (по одному). Получали одинаковые стандартные, сбалансированные по питательным веществам, корма и чистую питьевую воду. Каждое животное в группе было идентифицировано индивидуальным четырехзначным номером. Все хирургические манипуляции осуществлены в условиях операционной одной хирургической бригадой.

Продолжительность исследования

Период наблюдения составил 180 сут после выполнения оперативного вмешательства, по окончании которого биологический возраст животных соответствовал 12 мес. Анализировали результаты исследования, полученные непосредственно перед выполнением экспериментов (контрольная точка D_0 , соответствующая предоперационному периоду) и через 180 сут после его начала (контрольная точка M_6 , т.е. 6 мес после операции).

Описание оперативного вмешательства

Всем животным удаляли шерстный покров на правой тазовой конечности. Животных наркотизировали путем внутривенного введения тиопентала натрия в рекомендуемых дозах.

В серии I (рис. 1а) для выполнения встречного биполярного трансфизарного эластичного интрамедуллярного остеосинтеза неповрежденной правой большеберцовой кости использовали по 2 предварительно изогнутых стержня (титановые спицы) диаметром 1,8 мм и длиной 10 см. Радиус изгиба спиц составлял 40° . Одну из спиц наркотизированному животному вводили через проксимальный паратендиозный доступ. Эту спицу проводили антеградно через центр проксимального эпифиза большеберцовой кости. Вторую спицу вводили навстречу предыдущей ретроградно эксцентрично на уровне медиальной лодыжки. Свободные концы спиц U-образно изгибали и инпактировали в медиальном направлении в эпифизы с целью предотвращения миграции стержней внутрь кости по мере роста сегмента.

В серии II (рис. 1б) выполняли поднадкостничную поперечную остеотомию середины диафиза большеберцовой кости вибропилой и остеотомию малоберцовой кости долотом. После этого осуществляли биполярный трансфизарный эластичный интрамедуллярный остеосинтез (аналогично серии I).

В серии III (рис. 1в) после остеотомий берцовых костей и интрамедуллярного эластичного стабильного

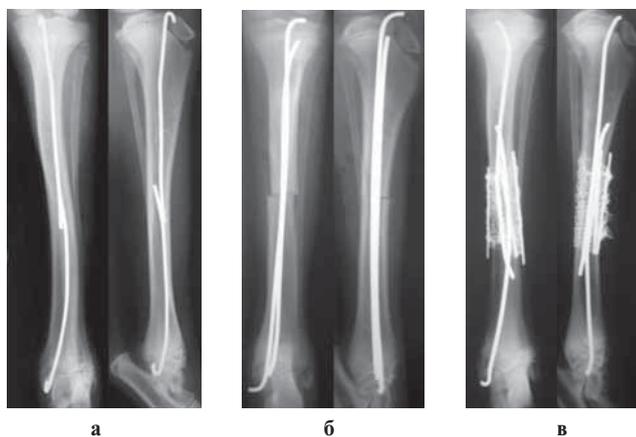


Рис. 1. Рентгенограммы костей голени экспериментальных животных, интрамедуллярный эластичный трансфизарный остеосинтез.

Примечание. а — превентивный интрамедуллярный остеосинтез, б — при поперечной остеотомии диафиза, в — при поперечной остеотомии диафиза и в сочетании с поднадкостничным армированием.

остеосинтеза титановыми стержнями поднадкостнично располагали сетку из никелида титана марки TN-10 (толщина нити 150 мкм, диаметр ячеек 2–2,5 мм) с титановыми стержнями. Сетка перекрывала зону остеотомии большеберцовой кости по всей длине окружности на протяжении 2 см проксимальнее и 2 см дистальнее от концов отломков. Прямые титановые стержни ($n = 3$) диаметром 2 мм были заранее равномерно распределены в сетке и ориентированы параллельно оси сегмента. Надкостницу отдельными узловыми швами фиксировали к сетке.

Исход исследования

Основной исход исследования

Для достижения поставленной цели в периоды эксперимента, обозначенные контрольными точками, определяли:

- длину большеберцовых костей (рис. 2а);
- величину перекреста проксимальной и дистальной спицы в костномозговом канале (рис. 2б);
- поперечный размер диафиза большеберцовой кости в средней трети (см. рис. 2а);
- механический медиальный проксимальный угол (см. рис. 2а) большеберцовой кости (mechanical Medial

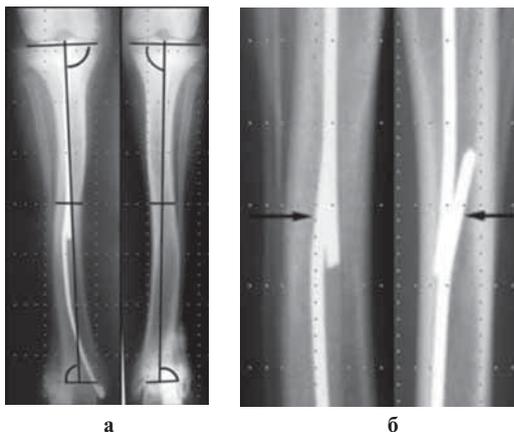


Рис. 2. Схема расположения изучаемых параметров.

Примечание. а — длина большеберцовой кости, поперечный размер диафиза большеберцовой кости в средней трети, угол mMPТА, угол mLDTA, б — величина перекреста проксимальной и дистальной спицы в костномозговом канале.

Proximal Tibial Angle, mMPТА), измеряемый между механической осью сегмента и линией, соединяющей 2 точки (вершины) вогнутых суставных поверхностей мыщелков большеберцовой кости [7];

- механический латеральный дистальный угол (см. рис. 2а) большеберцовой кости (mechanical Lateral Distal Tibial Angle m, LDТА), образуемый механической осью сегмента и суставной линией [7];
- расположение эластичных стержней на уровне физиов относительно их срединных осей в сагиттальной и фронтальной плоскости.

Дополнительные исходы исследования

Во всех сериях дополнительно оценивали функциональное состояние конечности. В сериях II и III отмечали сроки консолидации костных отломков и возможные деформации сегментов в результате возможных вторичных смещений.

Методы регистрации исходов

Основные исходы исследования были получены путем выполнения остеометрии большеберцовых костей по их рентгеновским изображениям. Измерения производил каждый соавтор работы независимо друг от друга. Дополнительные исходы выявляли рентгенологическим и клиническим методом. Рентгенологические исследования правых и левых голени выполняли в прямой и боковой проекции с использованием рентгеновского аппарата VEP X Technology Premium VET (Испания).

Этическая экспертиза

До начала экспериментальных исследований было получено одобрение Комитета по этике РНЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова на их выполнение (протокол № 5 (30) заседания от 14.11.2012 г.).

Статистический анализ

Принципы расчета размера выборки

Размер выборки предварительно не рассчитывали.

Методы статистического анализа данных

Полученные количественные данные подвергали статистической обработке с использованием программы AtteStat 13.1 (Россия). Статистическое исследование включало в себя описательную статистику: средние значения (M) и стандартное отклонение (SD). Сравнительные исследования производили с применением критерия Стьюдента и Вилкоксона для независимых (для проверки равенства средних между показателями правой и левой конечности) и парных (для проверки различий между двумя выборками парных изменений, в т.ч. проверки равенства средних, между показателями одной конечности в начале и конце эксперимента) выборок. Разницу измерений значений между исследователями оценивали с помощью коэффициента вариации. Различия показателей считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Участники исследования

Для выполнения экспериментов были отобраны клинически здоровые беспородные собаки (щенки) обоего пола в возрасте 6 мес. При этом в каждой отдельной группе использовали щенков из одного помета. У всех животных правая голень являлась опытным сегментом, а левая служила контролем (рис. 3).

В серии I при трансфизарном армировании неповрежденной большеберцовой кости имитирова-



Рис. 3. Схема проведения экспериментального исследования.

ли превентивный интрамедуллярный трансфизарный остеосинтез, осуществляемый при несовершенном остеогенезе.

В сериях II и III в определенном приближении имитировали интрамедуллярный трансфизарный эластичный остеосинтез и его сочетание с поднадкостничным армированием при переломе костей голени на фоне несовершенного остеогенеза.

Основные результаты исследования

При выполнении остеометрических исследований разница в измерениях изучаемых показателей между исследователями не превышала 2,5%, что позволяет подтвердить воспроизводимость и точность измерений.

Анализ полученных результатов показал, что на уровне дистальной зоны роста прохождение стержней было медиальнее, что обусловлено проведением их через

444

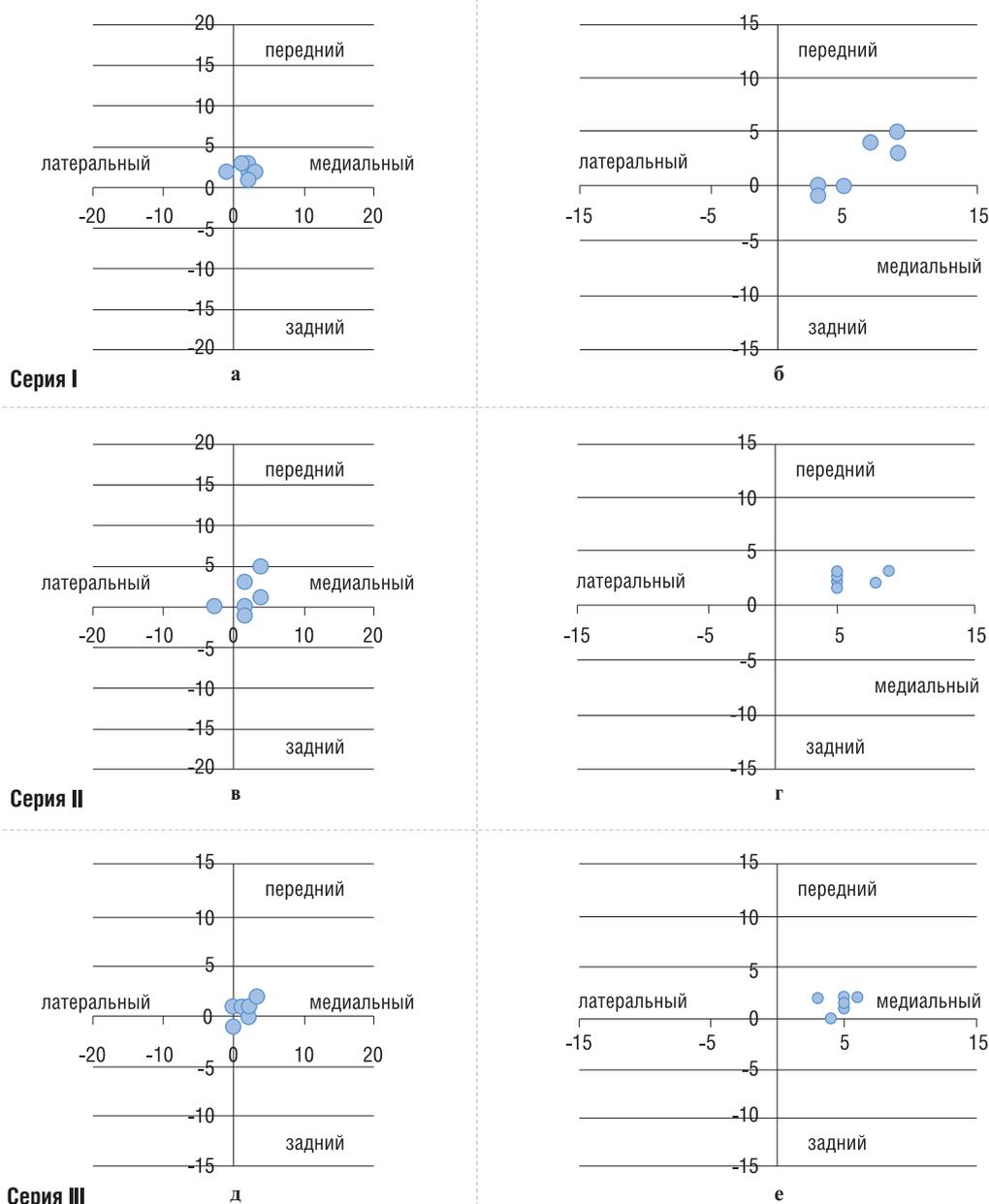


Рис. 4. Расположение стержней диаметром 1,8 мм относительно центров физисов.

Примечание. а, в, д — проксимальный метафиз, б, г, е — дистальный метафиз.

Таблица 1. Значения показателей продольного роста большеберцовых костей (M ± SD)

Серия	Общая длина большеберцовой кости, мм				Потеря общей длины «П» от длины «Л» в период M ₆		Величина прироста в длину за период D ₀ –M ₆		
	D ₀		M ₆		мм	%	От общей длины сегмента M ₆ , %		«П» от «Л», %
	«П»	«Л»	«П»	«Л»			«П»	«Л»	
I	136,5±39,5	136,7±39,4	152,7±36,7 ¹	156,5±37,3 ¹	3,8±2,9	2,5±2,1	11,5±5,0	13,6±4,6	17±12,3
II	139,2±9,5	139,2±9,5	172,5±9,8 ¹	180,3±8,5 ¹	7,8±8,0	4,3±4,3	19,3±3,6	22,8±3,7	14,9±14,0
III	146,8±7,9	146,4±7,8	174±10,5 ¹	181,7±11,3 ¹	7,7±6,6	4,2±3,6	15,5±3,6	19,1±3,6	18,2±15,2

Примечание. ¹ — статистически значимые различия с исходными значениями данной серии; «П» — правая большеберцовая кость, «Л» — левая большеберцовая кость.

внутреннюю лодыжку. В этой области стержень занимал 0,63±0,03% площади метафиза. На уровне проксимального физиса расположение стержней было более центральное, но также в большинстве случаев с тенденцией к смещению в медиальном направлении относительно продольной оси кости на 1–5 мм. От площади проксимального метафиза стержень занимал 0,32±0,03%.

Расположение стержней диаметром 1,8 мм относительно центров физисов в каждой серии представлено на рис. 4.

Результаты исследования длины сегментов представлены в табл. 1.

Как видно из представленных данных, рост большеберцовых костей продолжался у собак всех экспериментальных серий. Исходные значения длины сегментов значимо отличались от длины, достигнутой по окончании эксперимента. При этом между собой в каждый отдельный период времени продольные размеры опытного и контрольного сегмента достоверных отличий не имели. В серии I величина потери продольного роста за время эксперимента была наименьшей и составила от 1 до 7 мм (1–5,4%), в серии II — от 5 до 17 мм (2,8–9,5%), но у одной собаки отмечено ускорение роста оперированной голени, и разница в длине к концу эксперимента составила 5 мм (2,7%). В серии III потеря продольного роста составила от 2 до 16 мм (1,1–9,3%).

При непосредственной оценке полученной величины прироста опытного сегмента по отношению к контрольным значениям в период D₀–M₆ во всех сериях определяли их уменьшение на 15–18%, при этом различий между сериями не зарегистрировано.

При измерении длины перекреста спиц в костномозговом канале отмечено его уменьшение по мере роста большеберцовой кости. Прекращение уменьшения длины перекреста соответствовало закрытию зон роста большеберцовой кости. К концу эксперимента в первой серии уменьшение перекреста по отношению к послеоперационному состоянию в среднем составило 13,4±0,9, во второй — 15,6±5,7, в третьей — 11,2±3,4 мм. Разница этого показателя между сериями не достигла статистической значимости. В серии II в 2 случаях произошла миграция проксимального стержня внутрь кости на 19 и 25 мм, в серии III — в 1 случае на 24 мм. В серии I мы не отметили случаев миграции стержней внутрь в процессе роста сегмента.

На разных этапах эксперимента во всех сериях у опытного сегмента не обнаружено достоверных отличий значений mMPТА между собой и в сравнении с дооперационным значением (табл. 2). У левого (контрольного) сегмента имелись незначительно выраженные изменения этого показателя. Однако эти изменения в 11 (61,1%) случаях из 18 были не значимы по отношению к опытному сегменту.

Таблица 2. Значения проксимального медиального большеберцового угла (mMPТА)

№ серии	Конечность	D ₀		M ₆		M ₆ –D ₀ (правая сторона)	M ₆ –D ₀ (левая сторона)
		M ± SD	P ₁	M ± SD	P ₂	P ₃	P ₄
		(min-max)		(min-max)			
Серия I	Правая	91,7±2,4	p ¹ =0,914	90,8±2,1	p ² =0,642	p ³ =0,306	p ⁴ =0,101
		(87–96)		(88–94)			
	Левая	90,9±2,8		93,4±2,3			
		(84–95)		(90–99)			
Серия II	Правая	92,3±2,1	p ¹ =0,481	91,8±1,9	p ² =0,079	p ³ =0,675	p ⁴ =0,128
		(90–95)		(90–95)			
	Левая	91,5±1,9		90,0±1,1			
		(89–94)		(89–92)			
Серия III	Правая	90,7±5,5	p ¹ =0,905	90,5±2,0	p ² =0,453	p ³ =0,946	p ⁴ =0,541
		(83–96)		(87–92)			
	Левая	90,3±3,8		91,5±2,4			
		(85–95)		(87–94)			

Примечание. p¹ — значения p при сравнении правой и левой стороны D₀; p² — значения p при сравнении правой и левой стороны M₆; p³ — значения p правой стороны D₀ по отношению к M₆; p⁴ — значения p левой стороны D₀ по отношению к M₆; p¹ — p-значения теста Стьюдента.

Таблица 3. Значения латерального дистального большеберцового угла (mLDТА)

№ серии	Конечность	D ₀		M ₆		M ₆ -D ₀ (правая конечность)	M ₆ -D ₀ (левая конечность)
		M ± SD	p ¹	M ± SD	p ₂	p ₃	p ₄
		(min-max)		(min-max)			
Серия I	Правая	85,2±3,1	p ¹ =0,563	88,2±5,3	p ¹ =0,023 p ^w =0,045	p ¹ =0,267	p ¹ =0,088
		(81-89)		(84-96)			
	Левая	84,2±2,7		81,2±2,8			
		(79-87)		(76-84)			
Серия II	Правая	87,7±2,1	p ¹ =0,718	84,2±6,4	p ¹ =0,691	p ¹ =0,251	p ¹ =0,016 p ^w =0,026
		(86-91)		(78-96)			
	Левая	87,2±2,6		83,2±2,5			
		(84-91)		(80-85)			
Серия III	Правая	83,3±4,3	p ¹ =0,607	80,3±2,7	p ¹ =0,190	p ¹ =0,183	p ¹ =0,040 p ^w =0,058
		(77-89)		(78-85)			
	Левая	82,2±3,3		78,5±1,5			
		(77-86)		(76-80)			

Примечание. p¹ — значения p при сравнении правой и левой стороны D₀; p² — значения p при сравнении правой и левой стороны M₆; p³ — значения p правой стороны D₀ по отношению к M₆; p⁴ — значения p левой стороны D₀ по отношению к M₆; p¹ — значения теста Стьюдента; p^w — значения непараметрического теста Вилкоксона.

446

Таблица 4. Поперечные размеры большеберцовой кости в средней трети (мм)

Серия	D ₀ (прямая проекция)		M ₆ (прямая проекция)		D ₀ (боковая проекция)		M ₆ (боковая проекция)	
	Правая	Левая	Правая	Левая	Правая	Левая	Правая	Левая
I	11,3±0,82	11,3±0,82	13,2±0,84 ¹	13,2±0,84 ¹	10±1,55	10±1,55	11,8±1,72	11,2±1,47
II	12,2±1,17	12,2±1,17	17,2±1,94 ¹	14,3±1,21 ^{1,2}	11,2±1,17	11,2±0,75	17,2±1,83 ¹	13,3±1,21 ²
III	11,7±1,03	11,5±0,84	14,8±0,41 ¹	13,5±1,22 ^{1,2}	10±0,63	10,2±0,41	16,1±1,91 ¹	12,3±1,37 ²

Примечание. ¹ — значимые различия D₀ по отношению к M₆ для данной серии (p < 0,05); ² — значимые различия между правой и левой стороной M₆ (p < 0,05).

Значения mLDТА опытного (правого) сегмента во всех сериях к концу эксперимента между собой и дооперационным уровнем значимо не изменились. У контрольного сегмента во всех сериях было установлено значимое (p = 0,088 для серии I, p = 0,016 для серии II и p = 0,04 для серии III) снижение угла mLDТА к моменту завершения роста в сравнении с дооперационными значениями (табл. 3).

Изменение значений внешнего диаметра большеберцовой кости в средней трети в сторону увеличения происходило у всех животных на правой и левой конечности. Значимые (p < 0,05) различия между D₀ и M₆

зарегистрированы во всех сериях. В серии I, согласно данным табл. 4, увеличение диаметра диафиза было одинаковым для оперированной и интактной конечности.

В сериях II и III к окончанию эксперимента значимое увеличение поперечных размеров кости отмечали как по сравнению с исходными данными, так и между контрольной и опытной конечностью (см. табл. 4). Интересно отметить, что наиболее выраженная периостальная реакция и, соответственно, утолщение кортикальной пластинки происходили по задней поверхности большеберцовой кости.

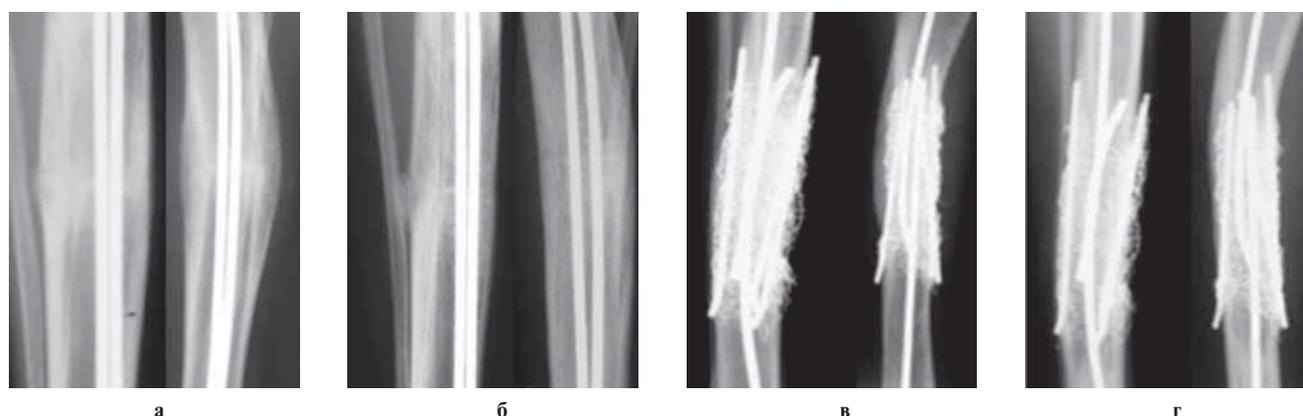


Рис. 5. Фрагменты рентгенограмм: серия II (а, б), серия III (в, г).

Примечание. а, в — срок эксперимента 60 сут; б, г — срок эксперимента 180 сут (M₆).

Дополнительные результаты исследования

Во всех случаях животные начинали опираться на конечность через 2–3 сут после операции. Функция конечности была сохранена до окончания эксперимента.

В сериях II и III рентгенологические признаки консолидации костных фрагментов (исчезновение линии перелома, непрерывность кортикальных пластинок) были отмечены во всех случаях к окончанию 2-го мес эксперимента (рис. 5). Вторичное смещение фрагментов наблюдали лишь у 1 животного в серии II, оно характеризовалось антекурвационной деформацией на 7°.

Нежелательные явления

На протяжении эксперимента не было зарегистрировано нежелательных последствий, в т.ч. осложнений инфекционного и неврологического характера.

Обсуждение

Резюме основного результата исследования

Интрамедуллярное трансфизарное армирование замедляло рост кости в длину. Проведение эластичных стержней, близкое к центру ростковой зоны кости, значимо не влияло на формирование угла наклона суставной поверхности. Эксцентричное проведение трансфизарных стержней формировало угловую деформацию в процессе последующего роста. Поднадкостничное армирование в сочетании с трансфизарным остеосинтезом не замедляло консолидацию фрагментов. При трансфизарном армировании неповрежденной кости влияние интрамедуллярных эластичных стержней на функциональную активность эндостальной выстилки и надкостницы было несущественным, а остеотомия и отслаивание надкостницы являлись условием для развития периостальной реакции.

Обсуждение основного результата исследования

Реконструктивные ортопедические вмешательства на конечностях при системных заболеваниях, сопровождающихся хрупкостью костной ткани, направлены на предотвращение деформаций или их коррекцию. Это, несомненно, оказывает положительное влияние на функциональное состояние пациентов, связанное с увеличением их двигательной активности [8, 9].

В. Boutaud и J.M. Lavielle считают, что использование интрамедуллярного трансфизарного эластичного остеосинтеза предпочтительнее, чем телескопических стержней, т.к. общее число осложнений ниже, чем при применении других систем [10]. Общие сложности и/или недостатки телескопических систем чаще связаны с необходимостью их замены по мере роста ребенка; миграцией стержней или частей (например, резьбовых), осуществляющих фиксацию к кости (от 10,5 до 23,7%); деформацией телескопического стержня (до 18,8%); нерасхождением частей стержней (до 2,1%); переломами стержней (до 6,9%) [11, 12].

В некоторых экспериментальных работах показано, что трансфизарное нахождение прямых спиц диаметром 1,3–2 мм менее 12 нед не вызвало развития нарушения функции роста, а в период 12–24 нед наблюдали эпифизеодез и укорочение сегмента. Использование спиц диаметром 3,2–3,5 мм, занимающих 7% площади зоны роста, приводило к эпифизеодезу и укорочению [4, 13, 14].

В клинической (прежде всего травматологической) практике мнения авторов о влиянии трансфизарного проведения спиц на функцию ростковых хрящей противоречивы. Например, при лечении переломов у детей J. Ногн

и соавт. описывают частичный эпифизеодез и развитие угловой деформации [14]. В свою очередь, P.S. Yung и соавт. R. Langenhan и соавт. и другие ученые не находят влияния трансфизарно проведенных прямых спиц Киршнера на последующий рост оперированной конечности [15, 16].

В нашем исследовании повреждение площади физиса составило менее 6% при нахождении имплантов в течение 25 нед, что не привело к необратимому эпифизеодезу. Во всех трех сериях было зафиксировано замедление роста, однако статистически значимой разницы длины оперированного сегмента по отношению к интактному мы не наблюдали. Трансфизарное армирование при выполнении остеотомии (серия II) или остеотомии в сочетании с интрамедуллярным и поднадкостничным остеосинтезом (серия III) приводило к большему укорочению (до 9,5%) в сравнении с армированием неповрежденной кости (до 5,4%).

Возможно, при подобных исследованиях на животных меньшего возраста и более длительном периоде эксперимента укорочение сегмента будет выражено значительнее.

Наше исследование впервые показало, что интрамедуллярный трансфизарный остеосинтез влияет на формирование угла наклона дистальной суставной поверхности большеберцовой кости. Эксцентричное проведение интрамедуллярных стержней через внутреннюю лодыжку привело либо к варизации голеностопного сустава (в серии I) со значимым отличием между контрольной и опытной конечностью к моменту завершения роста, либо, как в сериях II и III, к торможению физиологической вальгизации (уменьшение α LDTA). Результаты исследований других авторов подтверждают факт угловой девиации при эксцентричном повреждении зоны роста [17, 18].

Центральное трансфизарное проведение стержней не вызывало угловой девиации ни в одной серии исследования. R. Seil и соавт. при выполнении центрально расположенного канала у 18 ягнят также не наблюдали угловой девиации в процессе последующего роста сегмента [19].

Однако в клинической практике при применении трансфизарного армирования по-прежнему отсутствуют данные о количественном влиянии данного способа лечения на рост и развитие сегмента; эта важная функция ростковых зон никак не оценивается в условиях трансфизарного расположения имплантов [20].

Наше исследование трансфизарного армирования показало, что центральное длительное нахождение импланта не вызывает угловых деформаций, но может способствовать формированию укорочения сегмента, а периферическое расположение эластичного стержня ведет к развитию угловой деформации. При этом получены ранее не известные количественные характеристики потери роста во время нахождения импланта *in situ* — 14,9–18,2%.

Важно отметить, что помимо топографии и величины повреждения ростковой зоны постоянное трансфизарное присутствие импланта имеет значение для изменения функции роста. Имеется ряд исследований, в которых установлено, что одномоментное формирование трансфизарного канала без расположения в нем стержней или сухожилий не ведет к образованию эпифизеодеза и не вызывает каких-либо нарушений продольного роста кости [18, 21], в то время как образование узкой зоны эпифизеодеза, окружающей постоянно присутствующий имплант, является необратимой причиной торможения роста в данной части физиса [5, 22]. В то же время именно относительно небольшие размеры эпифизеодеза (менее 7%) позволяют происходить спонтанному дезэпифизеодезу в процессе активного роста. Мы полагаем, что

чередование повторных эпифизеодезов и спонтанных дезэпифизеодезов в процессе роста служит объяснением локального торможения функции физиса в нашем эксперименте. При этом наблюдается замедление роста, но не закрытие зон роста сразу после операции.

Следует отметить, что мы не наблюдали нарушений расхождения спиц в процессе роста в костномозговом канале в серии I, имитирующей превентивное армирование сегмента. Эти данные демонстрируют преимущества интрамедуллярного эластичного армирования перед телескопическими стержнями. Однако в 3 случаях, когда произошло нарушение целостности кости (серии II и III), было отмечено блокирование скольжения эластичных стержней. Препятствием расхождению стержней, на наш взгляд, может служить их фиксация эндостальной мозолью на уровне остеотомии.

Интрамедуллярный эластичный остеосинтез при лечении диафизарных переломов у детей, в т.ч. и патологических, является наиболее распространенным и надежным хирургическим методом, используемым детскими ортопедами многих стран [23, 24]. Вполне естественно, что консолидация костных отломков в серии II нашего исследования произошла во всех случаях и в обычные сроки. Тем интереснее констатировать, что отслаивание надкостницы на уровне остеотомии и поднадкостничное введение сетки и эластичных спиц (серия III) также сопровождалось консолидацией костных фрагментов в тот же срок. При этом наблюдали выраженную периостальную реакцию, способствовавшую значимому увеличению поперечных размеров диафиза кости на данном уровне. Таким образом, можно полагать, что поднадкостничное введение титановой сетки и поднадкостничное армирование эластичными стержнями не нарушают процессов костеобразования и ведут к консолидации в обычные сроки. Аспектом новизны полученных данных является не только возможность создания условия для продления механического увеличения свойств кости за счет интрамедуллярного и поднадкостничного перекрытия зоны перелома, но и получение локального увеличения костной массы за счет периостальной реакции, сопровождающейся утолщением кортикальных пластинок. Это очень важно при лечении патологических переломов у пациентов с заболеваниями, сопровождающимися снижением прочностных свойств костной ткани.

Поднадкостничное армирование тонкими эластичными стержнями, чрескожное введение спиц при тяжелых формах остеогенеза применяют в тех случаях, когда отсутствует костномозговой канал кости, и ввиду чрезвычайно тонкого диаметра диафиза рассверливание его для проведения спицы невозможно [8, 12]. Серия III эксперимента показала, что поднадкостничное эластичное армирование стержнями, закрепленными в сетке из никелида титана, в сочетании с интрамедуллярным эластичным остеосинтезом, способствует стабильности остеосинтеза, не нарушает консолидации фрагментов. Кроме того, такой остеосинтез предотвращает ситуацию, когда из-за расхождения интрамедуллярных стержней средняя треть диафиза остается без внутреннего тугора.

Обнадёживающие результаты применения бисфосфонатов у пациентов с несовершенным остеогенезом [8, 9]

и/или имплантов с биоактивным покрытием позволяют надеяться, что комбинирование терапевтических и хирургических методов лечения позволит улучшить исходы как с точки зрения анатомического (продольный рост сегментов и отсутствие деформаций), так и функционального результата лечения.

Ограничения исследования

Несомненно, сложно экстраполировать результаты данного исследования для применения в клинической практике при несовершенном остеогенезе, когда прочностные свойства костной ткани снижены. Ограничением служит и сравнительно небольшое число животных, что, к примеру, не позволяет установить корреляцию между топографией проведения трансфизарных стержней и величиной угловой деформации.

Заключение

Исследование показало, что трансфизарный эластичный остеосинтез влияет на продольный рост сегмента. Наименьшие потери длины отмечены при изолированном интрамедуллярном трансфизарном остеосинтезе, имитирующем превентивное армирование.

Эксцентричное проведение трансфизарных стержней способствует формированию угловой деформации либо замедляет физиологическую ориентацию суставной поверхности. Таким образом, трансфизарные телескопические системы должны предусматривать расположение элементов импланта только в центре ростковых зон.

При трансфизарном интрамедуллярном остеосинтезе или при его сочетании с поднадкостничным армированием консолидация костных отломков наступает в одинаковые сроки.

При трансфизарном эластичном остеосинтезе в процессе роста сегмента может происходить затруднение расхождения интрамедуллярных стержней в результате формирования эндостального регенерата в области контакта импланта с костью.

Энд- и периостальные реакции на введение интрамедуллярных и поднадкостничных имплантов ведут к увеличению толщины кортикальных пластинок и диаметра кости, что может иметь значение при комбинированном лечении несовершенного остеогенеза фармакологическими и хирургическими методами.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки исследования / конфликта интересов, о которых необходимо сообщить.

Выражение признательности

Авторы выражают признательность Н.В. Попковой за помощь при подготовке данной статьи.

ЛИТЕРАТУРА

1. Sofield H.A., Millar E.A. Fragmentation, realignment, and intramedullary rod fixation of deformities of the long bones in children. *J. Bone Joint Surg. Am.* 1959; 41: 1371–1391.
2. Laron D., Pandya N.K. Advances in the orthopedic management of osteogenesis imperfecta. *Orthop. Clin. North Am.* 2013; 44 (4): 565–573.

3. Metaizeau J.P. Sliding centro medullary nailing. Application to the treatment of severe forms of osteogenesis imperfecta. *Chir. Pediatr.* 1987; 28: 240–243.
4. Hajdu S., Schwendenwein E., Kaltenecker G., László I., Lang S., Vécsei V., Sarahrudi K. The effect of drilling and screw fixation of the growth plate an experimental study in rabbits. *J. Orthop. Res.* 2011; 29 (12): 1834–1839.
5. Fischerauer S., Kraus T., Wu X., Tendl S., Sorantin E., Hanzi A.C., Löffler J.F., Uggowitz P.J., Weinberg A.M. In vivo degradation performance of micro arc oxidized implants: a micro CT study in rats. *Acta Biomater.* 2013; 9 (2): 5411–5420.
6. Lascombes P. Flexible intramedullary nailing. *Springer-Verlag: Berlin-Heidelberg.* 2010. 310 p.
7. Popkov D., Lascombes P., Berte N., Hetzel L., Ribeiro Baptista B., Popkov A., Journeau P. The normal radiological anteroposterior alignment of the lower limb in children. *Skeletal Radiol.* 2015 44 (2):197–206.
8. Esposito P., Plotkin H. Surgical treatment of osteogenesis imperfecta: current concepts. *Curr. Opin. Pediatr.* 2008. 20: 52–57.
9. Ruck J., Dahan-Oliel N., Montpetit K., Rauch F., Fassier F. Fassier-Duval femoral rodding in children with osteogenesis imperfecta receiving bisphosphonates: functional outcomes at one year. *J. Child Orthop.* 2011; 5 (3): 217–224.
10. Boutaud B., Laville J.M. L'embrochage centromédullaire coulissant dans l'ostéogénèse imparfaite. *Rev. Chir. Orthop.* 2004; 90: 304–311.
11. El-Adl G., Khalil M.A., Enan A., Mostafa M.F., El-Lakkany M.R. Telescoping versus non-telescoping rods in the treatment of osteogenesis imperfecta. *Acta Orthop. Belg.* 2009; 75 (2): 200–208.
12. Monti E., Mottes M., Frascini P., Brunelli P.C., Forlino A., Venturi G., Doro F., Perlini S., Cavarzere P., Antoniazzi F. Current and emerging treatments for the management of osteogenesis imperfecta. *Ther. Clin. Risk Manag.* 2010; 6: 367–381.
13. Mäkelä E.A., Vainionpää S., Vihtonen K., Mero M., Rokkanen P. The effect of trauma to the lower femoral epiphyseal plate. An experimental study in rabbits. *J. Bone Joint Surg. Brit.* 1988; 70 (2): 187–191.
14. Horn J., Kristiansen L.P., Steen H. Partial physal arrest after temporary transphyseal pinning. A case report. *Acta Orthop.* 2008; 79 (6): 867–869.
15. Langenhan R., Baumann M., Hohendorff B., Probst A., Trobisch P. Arthroscopically assisted reduction and internal fixation of a femoral anterior cruciate ligament osteochondral avulsion fracture in a 14 year old girl via transphyseal inside-out technique. *Strategies Trauma Limb. Reconstr.* 2013; 8 (3): 193–197.
16. Yung P.S., Lam C.Y., Ng B.K., Lam T.P., Cheng J.C. Percutaneous transphyseal intramedullary Kirschner wire pinning: a safe and effective procedure for treatment of displaced diaphyseal forearm fracture in children. *J. Pediatr. Orthop.* 2004; 24 (1): 7–12.
17. Guzzanti V., Falciglia F., Gigante A., Fabbriani C. The effect of intra-articular ACL reconstruction on the growth plates of rabbits. *J. Bone Joint Surg. Brit.* 1994; 76 (6): 960–963.
18. Ono T., Wada Y., Takahashi K., Tsuchida T., Minamide M., Moriya H. Tibial deformities and failures of anterior cruciate ligament reconstruction in immature rabbits. *J. Orthop. Sci.* 1998; 3 (3): 150–155.
19. Seil R., Pape D., Kohn D. The risk of growth changes during transphyseal drilling in sheep with open physes. *Arthroscopy.* 2008; 24 (7): 824–833.
20. Nicolaou N., Bowe J.D., Wilkinson J.M., Fernandes J.A., Bell M.J. Use of the Sheffield telescopic intramedullary rod system for the management of osteogenesis imperfecta: clinical outcomes at an average follow up of nineteen years. *J. Bone Joint Surg. Am.* 2011; 93 (21): 1994–2000.
21. Babu L.V., Evans O., Sankar A., Davies A.G., Jones S., Fernandes J.A. Epiphysiodesis for limb length discrepancy: a comparison of two methods. *Strategies Trauma Limb. Reconstr.* 2014; 9 (1): 1–3.
22. Stevens P.M. Guided growth: 1933 to the present. *Strategies Trauma Limb. Reconstr.* 2006; 1 (1): 29–35.
23. Knorr P., Schmittenbecher P.P., Dietz H.G. Treatment of pathological fractures of long tubular bones in childhood using elastic stable intramedullary nailing. *Unfallchirurg.* 1996; 99 (6): 410–414.
24. Попков А.В., Попков Д.А. Биоактивные имплантаты в травматологии и ортопедии. *Иркутск: НЦПВХ СО РАМН.* 2012. 438 с.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Попков Дмитрий Арнольдович, доктор медицинских наук, заведующий лабораторией коррекции деформаций и удлинения конечностей РНЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова

Адрес: 640014, Курган, ул. М. Ульяновой, д. 6., тел.: +7 (3522) 43-05-37, e-mail: dpopkov@mail.ru

Кононович Наталья Андреевна, кандидат ветеринарных наук, ведущий научный сотрудник лаборатории коррекции деформаций и удлинения конечностей РНЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова

Адрес: 640014, Курган, ул. М. Ульяновой, д. 6., тел.: +7 (3522) 43-05-37, e-mail: n.a.kononovich@mail.ru

Мингазов Эдуард Рифович, аспирант очной аспирантуры РНЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова

Адрес: 640014, Курган, ул. М. Ульяновой, д. 6., тел.: +7 (3522) 43-05-37, e-mail: edikmed@mail.ru

Шутов Роман Борисович, врач травматолог-ортопед, травматолого-ортопедического отделения № 11 РНЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова

Адрес: 640014, Курган, ул. М. Ульяновой, д. 6., тел.: +7 (3522) 43-05-37, e-mail: shrb78@mail.ru

Барбье Доминик, интерн РНЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова

Адрес: 640014, Курган, ул. М. Ульяновой, д. 6., тел.: +7 (3522) 43-05-37, e-mail: d.barbier.mail@gmail.com

Нарушение продольного роста конечности и сократительная способность мышц

Снижение сократительной способности мышц у больных после оперативного удлинения отстающей в росте конечности является главным фактором, ограничивающим масштаб ортопедического лечения. **Цель исследования:** изучить зависимость сократительной способности мышц бедра и голени от их продольных размеров у здоровых и больных индивидуумов разного возраста и у больных при различных вариантах нарушения естественного роста одной из нижних конечностей до и после ее оперативного удлинения по Илизарову. **Методы:** с помощью оригинальных динамометрических стенов проведено сравнительное исследование максимального момента силы различных групп мышц бедра и голени. **Результаты:** в исследовании приняли участие 78 больных в возрасте от 4 до 40 лет с отставанием в продольном росте одной из нижних конечностей на величины от 3 до 12 см. Контрольную группу составили 424 здоровых ребенка в возрасте от 7 до 15 лет и 36 обследуемых в возрасте 18–35 лет. Показана зависимость максимального момента силы различных групп мышц бедра и голени от продольных размеров этих сегментов конечности как у здоровых обследуемых разного возраста и пола, так и у больных при нарушении продольного роста конечности до и после ее оперативного удлинения. На каждый сантиметр отставания пораженной конечности в продольных размерах происходило снижение силы ее мышц и мышц интактной конечности (например, задней группы мышц голени на 3,2 и 1,7 Нм, соответственно). **Заключение:** при равной величине укорочения голени сила ее мышц относительно больше снижалась у больных с врожденными заболеваниями и последствиями перенесенного остеомиелита и меньше — при последствиях травм. Обнаружено компенсаторное увеличение силы мышц контрлатерального бедра лишь при существенном снижении сократительной способности мышц больной голени.

Ключевые слова: сила мышц, длина конечностей, нарушение роста.

(Для цитирования: Щуров В.А. Нарушение продольного роста конечности и сократительная способность мышц. *Вестник РАМН*. 2015; 70 (4): 450–455. Doi: 10.15690/vramn.v70.i4.1411)

450

Обоснование

У здоровых детей продольный рост конечностей сопровождается адекватным увеличением объема мышц и их сократительной способности. У высокорослых детей сила мышц конечностей, отнесенная к массе тела, сравнительно больше. Положительная зависимость силы мышц от продольных размеров тела сохраняется у юношей вплоть до достижения длины тела 185 см. Такая взаимосвязь позволяет рассматривать прирост динамометрических показателей мышц, связанный с увеличением продольных размеров тела как положительное явление

[1]. Данное положение подтверждается при анализе спортивных достижений атлетов и является одним из положительных следствий акселерации роста тела [1].

Продольный рост и увеличение силы идут не совсем синхронно. Известно, что рост и развитие — чередующиеся по времени события, что обнаруживается в период пубертатного ускорения роста. Более того, при оперативном удлинении конечности, когда темп distraction в 30 раз выше скорости естественного роста, наблюдается не увеличение, а падение сократительной способности мышц, на последующее восстановление показателей которой требуются месяцы и годы [2].

V.A. Schurov

Russian Ilizarov Scientific Center «Restorative Traumatology and Orthopaedics», Kurgan, Russian Federation

Disorder of the Longitudinal Limb Growth and Muscular Contractility

Background: The reduction of the muscular contractility in the patients after operative lengthening of the limb with delayed growth is the main factor limiting the volume of orthopaedic treatment. **Objective:** Our aim was to study the dependence of the muscular contractility of the femur and tibia on their longitudinal sizes in healthy individuals and patients of various age and in the patients with different variants of natural growth disorders of one of the lower limb before and after its operative lengthening according to Ilizarov. **Methods:** Maximal torque of various groups of the femoral and tibial muscles was evaluated in 78 patients aged from 4 to 40 years with delayed longitudinal growth from 3 to 12 cm of one of the lower limbs using original dynamometers. Control group included 424 healthy children aged from 7 to 15 years and 36 persons aged from 18 to 35 years. **Results:** The dependence of maximal torque of various groups of the femoral and tibial muscles on their longitudinal sizes in healthy individuals and patients of various ages and gender as well as in the patients with growth disorders before and after their operative lengthening was presented. The affected limb muscular strength and the same of the intact one reduced every cm of the longitudinal growth delay (for instance, the posterior tibial muscle for 3.2 and 1.7 Nm correspondingly). **Conclusion:** Compensatory increase of the muscular strength in the contralateral femur was found only in significant reduction of the muscular contractility of the affected tibia. In equal amount of the tibial shortening its muscular strength reduced relatively more in the patients with congenital disease and consequences of the osteomyelitis and less in trauma cases.

Key words: muscular strength, limb length, growth disorder.

(For citation: Schurov V.A. Disorder of the Longitudinal Limb Growth and Muscular Contractility. *Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2015; 70 (4): 450–455. Doi: 10.15690/vramn.v70.i4.1411)

У детей после переломов длинных костей также возможно изменение продольных размеров конечностей. Уменьшение длины конечности на 4 см или увеличение на 1 см практически не оказывало влияния на уровень восстановления максимальной силы мышц в отдаленные сроки после лечения, в т.ч. у взрослых людей [3, 4]. Однако при большей потере длины конечности сила мышц в отдаленные сроки после травмы восстанавливалась не полностью, оставаясь сниженной в среднем на 5,6% на каждый сантиметр потери ее продольных размеров.

Увеличение длины конечности в процессе естественного роста и при оперативном удлинении по Илизарову способствует увеличению длины шага и, следовательно, скорости ходьбы. Однако при этом требуется соответствующее увеличение силы мышц бедра и голени. Важно заранее просчитать, не повлияет ли получаемый эстетический эффект от изменения пропорций тела на функциональную составляющую — скорость локомоций и проходимость за сутки путь [2, 5].

Целью исследования было изучить зависимость сократительной способности мышц конечностей от их продольных размеров и возраста у здоровых детей при различных вариантах нарушения естественного продольного роста.

Методы

Дизайн исследования

Физиологическая работа по сравнительному анализу динамометрических показателей мышц выполнена по типу контролируемого нерандомизированного исследования.

Критерии соответствия

Основным критерием соответствия была методическая однотипность проведения исследования в основной группе и группе сравнения.

Условия проведения

Физиологические исследования проведены в лаборатории коррекции деформаций и удлинения конечностей РНЦ «Восстановительная травматология и ортопедия» (Курган) с использованием одних и тех же динамометрических стенов. Все обследуемые основной и контрольной группы находились в одинаковых стандартных условиях.

Продолжительность исследования

Обследование детей и взрослых в контрольной группе выполнено однократно (поперечное исследование); обследование больных выполнено до лечения и в отдаленные сроки (более 1 года после окончания оперативного уравнивания длины пораженной и интактной конечностей).

Описание медицинского вмешательства

Оперативное удлинение отстающей в росте конечности производили по методу Илизарова [6], как правило, с темпом 1,0 мм/сут (по 0,25 мм 4 раза/день) после остеотомии в зоне дистального метафиза бедренной или проксимального метафиза большеберцовой кости.

Исходы исследования

Основной исход исследования

У больных детей при нарушении продольного роста конечности наблюдается снижение сократительной способности мышц. При этом динамометрические показате-

тели, соотнесенные с массой тела, могут быть ниже, чем относительные показатели силы мышц у детей меньшего возраста, но с такой же длиной конечности, поскольку при врожденных и приобретенных заболеваниях возможна не только задержка развития, но и непосредственное повреждение самих мышц. Важно было дать ответы на следующие вопросы:

- имеется ли пропорциональность между величиной отставания конечности в продольных размерах и степенью снижения сократительной способности мышц;
- прогрессирует ли отставание силы мышц у больных с увеличением их возраста;
- зависит ли степень снижения силы различных групп мышц от этиологии укорочения конечности?

Дополнительные исходы исследования

Для оценки резервов компенсации функциональных нарушений конечности необходимо выяснить, возможна ли компенсация сниженных силовых возможностей одного сегмента конечности за счет увеличения силы мышц других сегментов и контрлатеральной конечности. Кроме того, нужно выяснить, восстанавливается ли (и до какого уровня) сократительная способность различных групп мышц у детей в отдаленные сроки после окончания оперативного удлинения продольных размеров пораженной конечности.

Анализ в подгруппах

Разделение всех обследуемых на основную и контрольную группу, а также выделение в основной группе подгрупп больных с последствиями врожденных заболеваний, гематогенного остеомиелита и травм конечности позволило провести сравнительный анализ сократительной способности мышц-сгибателей и разгибателей бедра и голени у пациентов этих подгрупп.

Методы регистрации исходов

У всех обследуемых определяли продольные размеры и массу тела, а также размеры сегментов нижних конечностей. Максимальный момент силы передней и задней группы мышц бедра и мышц голени выражали в ньютонах (Н), умноженных на длину рычага от оси вращения до места приложения силы (выраженного в метрах, м) и оценивали при помощи разработанных нами динамометрических стенов [7]. Учитывая, что на показатель силы мышц оказывали влияние не только длина, но и масса тела, мы сравнивали не только абсолютные, но и относительные показатели максимальной силы мышц.

Этическая экспертиза

Обследование детей контрольной группы проводилось с письменного согласия городского отдела народного образования, администрации школы № 49 и родителей. Все обследуемые пациенты давали письменное согласие на проведение физиологических исследований, проводимых с согласия Комитета по этике РНЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова (протокол № 2 (44) от 29.06.15).

Статистический анализ

Принципы расчета размера выборки

В контрольной группе у детей на каждый исследуемый год жизни обследованы подгруппы мальчиков и девочек, состоящие из 15–30 человек. Размеры подгрупп больных с отставанием в росте одной из конечностей определялись числом поступающих на лечение пациентов за последние 20 лет.

Методы статистического анализа

При анализе результатов исследования использованы методы вариационной статистики, заложенные в пакете прикладных программ Excel for Windows (2010). Для оценки степени достоверности различий результатов использовали t-критерий Стьюдента. Применяли методы корреляционного и регрессионного анализа. Данные представлены в виде средней величины (M), ошибки средней (m) и уровня значимости различий (p). Различия считали статистически значимыми при p < 0,05.

Результаты

Участники исследования

Контрольную группу практически здоровых детей составили учащиеся общеобразовательной школы № 49 г. Кургана (210 мальчиков и 214 девочек в возрасте от 7 до 15 лет). Кроме того, 36 обследованных были первого взрослого возраста (студенты 1-го курса Курганского университета и сотрудники РНЦ «ВТО»).

Критерием отбора больных в основную группу (n =78) было сохранение функции коленного и голеностопного сустава. Повторные обследования в отдаленные сроки после окончания лечения проведены у части больных, в основном проживавших в Курганской обл. или поступивших для решения вопроса о целесообразности последующего этапа лечения. Больные основной группы были в возрасте от 4 до 40 (средний возраст 19±1,1) лет, с врожденным (n =52) и приобретенным после остеомиелита (n =12) или травмы (n =14) отставанием одной из нижних конечностей в продольном росте на величины от 3 до 12 см.

Основные результаты исследования

У здоровых девочек и мальчиков контрольной группы в процессе роста от 7 до 15 лет длина голени увеличивалась на 10,3 и 10,1 см, а относительный момент силы (ОМС) мышц подошвенных сгибателей стопы (ПСС) — на 25,5 (p =0,005) и на 39,5% (p =0,00002), соответственно. Следовательно, на каждый сантиметр увеличения длины голени прирост ОМС мышц у девочек составил 2,4, а у мальчиков — 4,9%. Следует отметить, что величина ОМС мышц-ПСС у детей мужского и женского пола линейно возрастала до 11–12 лет, а у девочек после 12 лет имела тенденцию к снижению в связи с опережающим увеличением массы тела (рис. 1).

На показатели сократительной способности мышц, в т.ч. детей, существенное влияние оказывал пол обследуемых. Величину момента силы задней группы мышц голени у здоровых девочек и мальчиков можно определить на основании соответствующих расчетов:

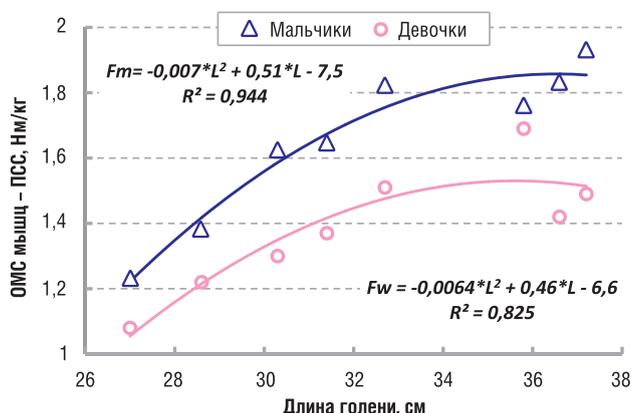


Рис. 1. Зависимость относительного момента силы икроножной мышцы от длины голени у здоровых детей мужского и женского пола.

Примечание. ПСС — мышцы подошвенные сгибатели стопы. Здесь и на рис. 2–4, 7: ОМС — относительный момент силы.

$$F_w = \frac{p^2 \times L \times (0,719 \times T + 10,71) \times 10^{-2}}{4 \times \pi}$$

$$F_m = \frac{p^2 \times L \times (0,916 \times T + 12,93) \times 10^{-2}}{4 \times \pi}$$

где p — максимальный обхват голени (см), L — длина голени (см), T — возраст обследуемого (годы), π — величина равная 3,14.

Следует обратить внимание на то, что у больных с патологией одной из конечностей продольный рост контрлатеральной (интактной) нижней конечности и корпуса тела не был нарушен. Дефинитивные продольные размеры тела у пациенток составили 162±2,2, у пациентов — 174±2,6 см, т.е. они не отличались от значений длины тела здоровых сверстников.

С увеличением возраста обследуемых различие в силе мышц бедра интактной и пораженной конечности становилось больше, достигая к 10 годам 30% (p =0,042) и сохраняясь в дальнейшем на этом уровне (рис. 2).

Представляет интерес сравнение влияния укорочения конечности на силу мышц при различной этиологии укорочения конечности (табл. 1). При сопоставимых по величине значениях отставания в длине голени у больных разных групп (при последствиях остеомиелита — 7,1±1,0; при врожденной патологии — 6,9±0,7; при последствиях травм — 5,7±0,7 см) показатели силы мышц бедра, отнесенные к массе тела, в этих группах находились в пределах 1,0–1,2 Нм/кг. Сила задней группы мышц интактной голени у этих же больных составила 1,47±0,15, 1,38±0,06 и 1,69±0,14 Нм/кг, соответственно. Показатели мышц пораженной голени были меньше на

Таблица 1. Момент силы мышц бедра и голени пораженной конечности (M ± m) и процент от уровня интактной конечности у различных групп больных

Группы больных	Разгибатели голени, Нм/кг	Сгибатели голени, Нм/кг	Подошвенные сгибатели стопы, Нм/кг	Тыльные сгибатели стопы, Нм/кг
Врожденные укорочения (n =52)	1,14±0,09	0,97±0,07	0,93±0,08	0,48±0,05
Интактная / Больная	72% (p <0,001)	77% (p =0,003)	68% (p <0,001)	72% (p =0,005)
Последствия остеомиелита (n =12)	0,95±0,16	0,95±0,12	0,82±0,15	0,56±0,09
Интактная / Больная	54% (p =0,005)	70% (p =0,018)	54% (p =0,016)	60% (p =0,013)
Последствия травмы (n =14)	1,22 ±0,19	1,09±0,15	1,37±0,21	0,76±0,08
Интактная / Больная	63% (p =0,064)	83% (p =0,157)	81% (p =0,160)	71% (p =0,021)

Таблица 2. Относительный момент силы (ОМС) мышц голени у больных разного возраста

Возраст, годы	n	ОМС мышц подошвенных сгибателей стопы			ОМС мышц тыльных сгибателей стопы		
		Интakтная	Бо́льная	Бо́льная / Интakтная	Интakтная	Бо́льная	Бо́льная / Интakтная
6	12	1,19±0,12	0,87±0,14	73% (p=0,046)	0,54±0,06	0,41±0,06	76% (p=0,085)
8	18	1,37±0,13	0,80±0,10	58% (p=0,007)	0,52±0,06	0,38±0,07	73% (p=0,060)
10	18	1,58±0,14	1,22±0,18	77% (p=0,052)	0,70±0,09	0,45±0,07	64% (p=0,013)
13	14	1,45±0,12	1,19±0,16	82% (p=0,102)	0,72±0,07	0,55±0,09	76% (p=0,071)
16	13	1,24±0,14	0,87±0,18	70% (p=0,095)	1,07±0,16	0,70±0,15	70% (p=0,108)
20	12	1,60±0,20	1,19±0,20	74% (p=0,077)	0,81±0,08	0,59±0,10	73% (p=0,051)
33	13	1,38±0,18	1,14±0,22	83% (p=0,193)	1,05±0,12	0,75±0,07	71% (p=0,019)

33 (p < 0,001), 27 (p < 0,001) и 12% (p = 0,078). Таким образом, установлено, что различие в показателях силы мышц поврежденной и интактной конечности менее выражено у больных с последствиями травм и более существенно у больных с последствиями перенесенного остеомиелита и при врожденной патологии развития.

По мере увеличения возраста у детей становилась больше масса тела. Сила мышц, отнесенная к массе тела, с увеличением возраста на интактной конечности возрастала (табл. 2). Отставание показателей передней и задней группы мышц голени пораженной конечности у детей до 12 лет в среднем составляло 27%. В более старшем возрасте такой уровень отставания сохранился у передней группы мышц, в то время как у задней он сократился до 15%, что обусловлено низким темпом увеличения относительного момента силы задней группы мышц здоровой конечности. Это обусловлено тем, что при ходьбе мышцы здоровой конечности вынуждены «подстраиваться» под ограниченный режим работы мышц бо́льной.

В то же время темп возрастного увеличения ОМС мышц пораженной конечности у больных женского пола не уступал темпу увеличения показателя силы мышц интактной конечности (рис. 3), хотя постоянная составляющая уравнения линейной регрессии возрастной динамики показателя на отстающей в росте конечности была ниже, чем на интактной.

Такое же отставание показателя ОМС мышц-ПСС бо́льной конечности от интактной и показателя мышц у обследуемых контрольной группы выявлено и при анализе зависимости показателя от длины голени (рис. 4).

Абсолютная сила мышц у больных зависела от степени отставания продольных размеров пораженной конечности и по мере увеличения разницы в длине голени снижалась не только на пораженной, но и на интактной конечности (рис. 5). Это снижение обусловлено уменьшением общей двигательной активности, «подстраиванием» показателей контрлатеральной конечности под силовые показатели бо́льной. Такая «подстройка» необходима для сохранения синхронности и равномерности параметров локомоции [8].

Между показателями силы интактной и пораженной конечностей имеет место линейная взаимосвязь. У девочек и мальчиков угловые коэффициенты уравнений линейной регрессии отличались несущественно (-0,78 и -0,82), постоянная составляющая равна 0,124 и 0,03 Нм/кг, а коэффициент корреляции — -0,878 и -0,952, соответственно.

Отставание одной из конечностей в росте повлияло на функциональное состояние мышцы сегментов конечности, смежных с пораженными. По мере увеличения де-

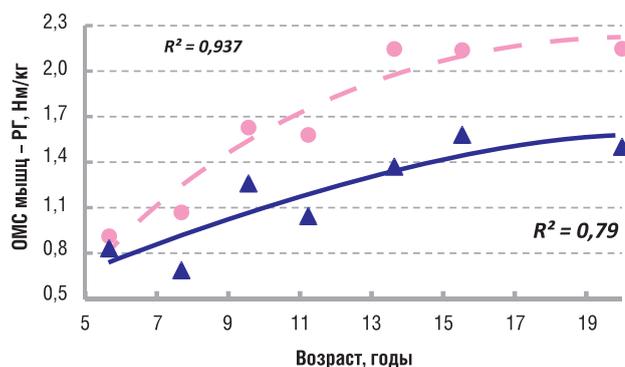


Рис. 2. Возрастная динамика относительного момента силы мышц разгибателей голени интактной и пораженной конечности.

Примечание. РГ — разгибатели голени.

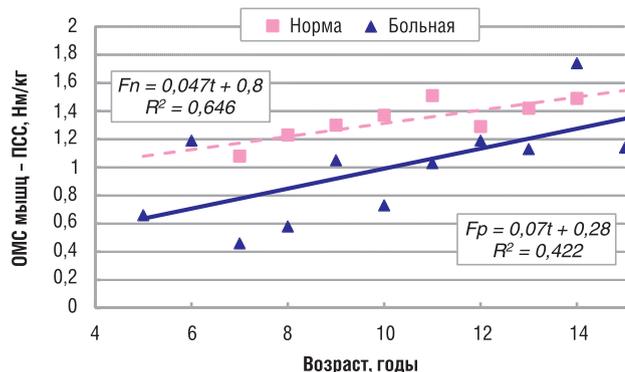


Рис. 3. Возрастная динамика относительного момента силы мышц-подошвенных сгибателей стопы у здоровых обследуемых женского пола и у больных на пораженной конечности.

Примечание. ПСС — мышцы подошвенные сгибатели стопы.

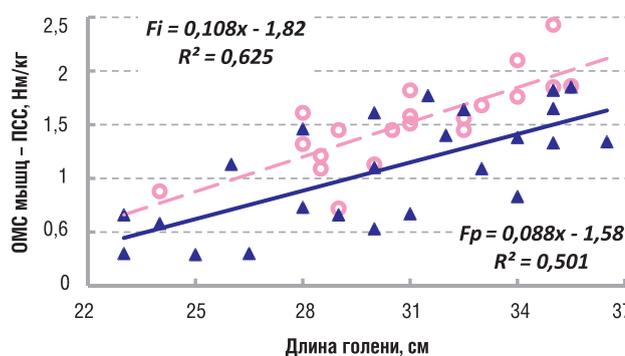


Рис. 4. Зависимость относительного момента силы мышц подошвенных разгибателей стопы интактной и пораженной конечности у больных мужского пола.

Примечание. ПСС — мышцы подошвенные сгибатели стопы.

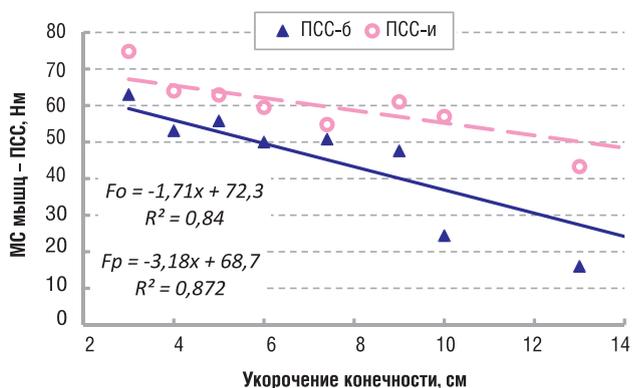


Рис. 5. Зависимость силы мышц голени интактной (и) и пораженной (б) конечности от степени отставания больной конечности в росте.

Примечание. МС — мышечная сила, ПСС — мышцы подошвенные сгибатели стопы.

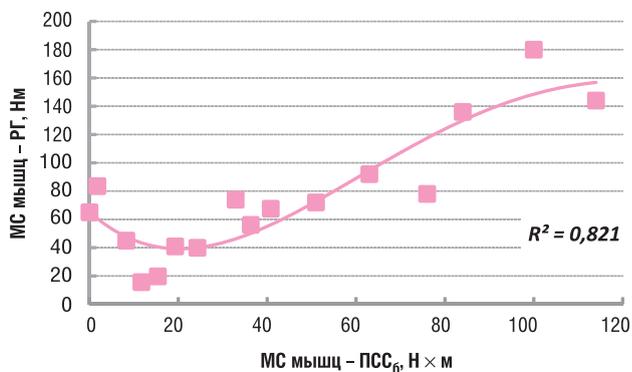


Рис. 6. Зависимость силы мышц интактного бедра от степени снижения силы мышц пораженной голени (б).

Примечание. МС — мышечная сила, РГ — разгибатели голени.

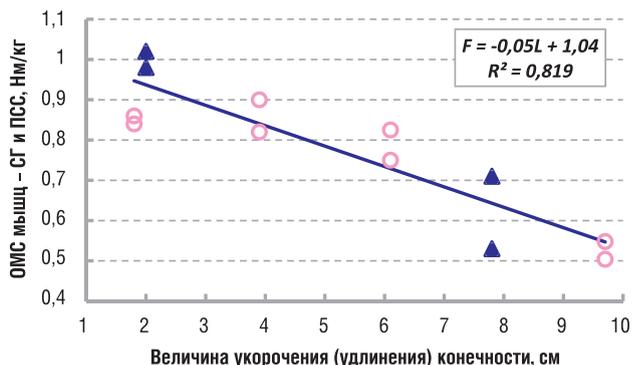


Рис. 7. Влияние величины укорочения (удлинения; треугольники) конечности на показатель относительного момента силы мышц бедра и голени.

Примечание. СГ — сгибатели голени, ПСС — мышцы подошвенные сгибатели стопы.

фицита длины конечностей снижалась сила мышц бедра и тыльных сгибателей стопы (см. рис. 5).

Чем меньше была сила мышц пораженной голени, тем, соответственно, ниже оказывалась у больных сократительная способность мышц интактной конечности (рис. 6). При этом о компенсаторном повышении силы мышц бедра контрлатеральной конечности можно говорить лишь при очень низких значениях силы мышц больной голени (менее 20 Нм).

Представляет практический интерес тот факт, что величины ОМС мышц оперированной конечности, существенно отстававшие от показателей интактной сразу после окончания лечения, на протяжении последующих

5 лет функциональной реабилитации достигали исходного уровня. Несмотря на возрастную прибавку массы тела, это отставание от показателей интактной конечности сохранялось на уровне различий в величинах ОМС, которое имело место до лечения (рис. 7).

Обсуждение

В настоящее время в связи с сохранением относительного увеличения числа больных с патологией опорно-двигательной системы [9] и повышением эстетических требований соотечественников к своему внешнему виду в поле зрения ортопеда попадает все больше больных с различной степенью отставания в продольных размерах как одной, так и обеих конечностей. При этом при планировании операции ортопед традиционно ориентировался на степень дефицита длины одной из конечностей или на желание пациента увеличить продольные размеры своего тела за счет оперативного лечения обеих конечностей. Функциональные исходы такого удлинения могли оказаться существенно хуже ожидаемых.

Для нас представлялось важным показать влияние увеличения продольных размеров конечности на сократительную способность мышц как в условиях естественного роста тела, так и после оперативного удлинения конечности. Непременным условием прогнозирования эффективности лечения больных в любом случае было точное определение показателя максимальной силы основных групп мышц обеих конечностей, соотнесение показателей с массой тела и сопоставление со значениями возрастной нормы у женщин и у мужчин. Если у здоровых людей продольный рост и развитие функции осуществляются практически синхронно, то быстрое увеличение длины конечности при distrакции приводит к падению функциональных способностей мышц с последующим длительным периодом восстановления, растягивающимся на несколько лет, в зависимости от величины удлинения и возраста пациента.

Нами установлено, что на пораженной конечности так же, как и на интактной, с увеличением ее длины в период естественного роста у детей сила мышц становится больше. Обнаружено, что сила мышц голени при последствиях перенесенного остеомиелита снижается больше, а при последствиях травм — меньше по сравнению с соответствующими показателями у больных с врожденными заболеваниями. Однако при этом у больных на пораженной конечности показатель динамометрии ниже не только по сравнению с показателями здоровых сверстников, но и по сравнению с показателями более молодых обследуемых контрольной группы, но с такой же длиной конечности.

Компенсаторного увеличения силы мышц интактной голени не наступает. Напротив, у больных на интактной конечности сила мышц также снижается по сравнению со здоровыми сверстниками. Лишь при существенном снижении сократительной способности мышц больной голени возможно компенсаторное увеличение сократительной способности силы мышц бедра интактной конечности.

Нерешенной проблемой остается неосуществленное желание ортопедов в последующие годы после оперативного удлинения конечности получить такой же эффект прироста силы, который наблюдается в условиях ее естественного роста. Описана возможность прироста под влиянием distrакции числа саркомеров и гипертрофии мышц у животных в экспериментальных условиях [10–12]. У детей также наблюдается прирост абсолютных

значений силы мышц оперированной конечности вследствие продолжающегося возрастного развития. Эффект возможен и при специальной тренировке, но при этом показатели больной конечности не достигают уровня таковых у здоровых сверстников [13].

Заключение

У больных детей по мере увеличения возраста до 12 лет отставание сократительной способности мышц пораженной конечности увеличивается. В дальнейшем разница может стать меньше за счет снижения темпа роста силы мышц интактной конечности.

Отставание одной из нижних конечностей в продольных размерах у детей приводит к пропорциональному снижению максимальной силы задней группы мышц голени не только на пораженной конечности (на 3,2 Нм на каждый 1 см укорочения), но и на интактной (на 1,7 Нм). Лишь при существенном снижении сократительной способности мышц больной голени, когда она становится менее 20% от уровня интактной, возможно

компенсаторное увеличение силы мышц контрлатерального бедра.

Максимальная сила задней группы мышц голени у больных с последствиями перенесенной травмы снижена относительно меньше, чем у больных с врожденным укорочением конечности и у больных с последствиями перенесенного остеомиелита.

Конфликт интересов

Автор подтвердил отсутствие финансовой поддержки исследования / конфликта интересов, о которых необходимо сообщить.

Выражение признательности

Автор выражает искреннюю благодарность д.м.н., проф., чл.-корр. РАН В.И. Шевцову, д.м.н., проф. А.В. Попкову, д.м.н., проф. Г.С. Джанбахишеву, д.м.н. К.И. Новикову, к.м.н. С.О. Мурадисинову за помощь в организации обследования больных с отставанием конечностей в росте.

ЛИТЕРАТУРА

1. Туманян Г.С., Маркиросов Э.Г. Телосложение и спорт. М.: *Фитес*. 1976. 239 с.
2. Шевцов В.И., Щуров В.А., Менщикова Т.И. Теоретические предпосылки и практические последствия увеличения длины нижних конечностей у больных ахондроплазией. *Российский журнал биомеханики*. 2000; 3: 74–79.
3. Schurov V.A., Khubaev N.D., Mitina Yu.L., Skripnikov A.A. Recovery of contractility of the muscles after closed fractures of the ankle. *Human Physiology*. 2015; 41(1): 83–86.
4. Bhavne A., Paley D., Herzenberg J.E. Improvement in gait parameters after lengthening for the treatment of limb length discrepancy. *J. Bone Joint Surg. Am.* 1999; 81: 529–534.
5. De Deyne P.G., Hayatsu K., Meyer R., Paley D., Herzenberg J.E. Muscle regeneration and fiber type transformation during distraction osteogenesis. *J. Orthop. Res.* 1999; 17: 560–570.
6. Попков А.В. Оперативное удлинение конечностей методом чрескостного остеосинтеза: современное состояние и перспективы. *Травматология и ортопедия России*. 1994; 2: 135–142.
7. Schurov V.A. Dynamics of the biomechanical properties of the skin, the walls of the arteries and skeletal muscle by increasing the longitudinal dimensions of the tibia. *Russia Journal of Biomechanics*. 2015; 19 (2): 410.
8. Скворцов Д.В. Клинический анализ движений, анализ походки. М.: *НПЦ Стимул*. 1996. 344 с.
9. Самков А.С. Компрессионно-дистракционный метод в лечении детей с системными заболеваниями. Автореф. дис. ... докт. мед. наук. М. 2001. 44 с.
10. Takahashi M., Yasui N., Enishi T., Sato N., Mizobuchi T., Homma Y., Sairyo K. Diverse muscle architecture adaptations in a rabbit tibial lengthening model. *Muscles Ligaments Tendons J.* 2015; 4 (4): 433–437.
11. Boakes J.L., Foran J., Ward S.R., Lieber R.L. Muscle adaptation by serial sarcomere addition 1 year after femoral lengthening. *Clin. Orthop. Relat. Res.* 2007; 456: 250–253.
12. Шевцов В.И., Щудло Н.А., Щудло М.М., Филимонова Г.Н. Структурная адаптивность и пластичность скелетных мышц при удлинении конечности. *Гений ортопедии*. 2009; 4: 39–47.
13. Менщикова Т.И. Структурно-функциональные аспекты в обосновании оперативного удлинения нижних конечностей. Автореф. дис. ... докт. биол. наук. Тюмень. 2007. 48 с.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Щуров Владимир Алексеевич, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории коррекции деформаций и удлинения конечностей РНЦ «Восстановительная травматология и ортопедия» им. акад. Г.А. Илизарова

Адрес: 640001, Курган, ул. М. Ульяновой, д. 6, **тел.:** +7 (3522) 45-42-86, **e-mail:** shchurovland@mail.ru

DOI: 10.15690/vramn.v70.i4.1412

С.А. Бойцов¹, И.В. Самородская¹, В.В. Третьяков², М.А. Ватолина¹

¹ ГНИЦ профилактической медицины, Москва, Российская Федерация

² Рейтинговое агентство «РИА Рейтинг», Москва, Российская Федерация

Потерянные годы жизни в результате преждевременной смерти и их взаимосвязь с климатическими и социально-экономическими показателями регионов

В настоящее время показатель «потерянные годы потенциальной жизни» (ПППЖ) широко используется в международных исследованиях. Недостаточно изученными остаются различия показателей в регионах Российской Федерации (РФ) и их взаимосвязь с социально-экономическими показателями. **Цель исследования:** изучить показатели ПППЖ в регионах РФ за 2013 г. и их взаимосвязь с региональными социально-экономическими показателями. **Методы:** проведено неклиническое наблюдательное исследование. Объект исследования — ПППЖ в регионах РФ. Показатели ПППЖ на 100 тыс. населения (нестандартизованные и стандартизованные на мировой стандарт возрастной структуры населения) рассчитаны на основе полученных по запросу данных Росстата о числе умерших и численности населения в возрастных группах в регионах РФ. Предмет исследования — вариабельность показателей ПППЖ в регионах, оценка корреляционной взаимосвязи ПППЖ с климатическими и социально-экономическими показателями регионов. **Результаты:** среднее значение стандартизованных показателей ПППЖ в регионах составило 20 185 (95% ДИ 19 272–21 029); нестандартизованных — 25 880 (95% ДИ 24 744–26 957). Выявлена значительная вариабельность показателей ПППЖ: максимальный стандартизованный показатель ПППЖ выше минимального в 3,4 раза. Минимальные показатели ПППЖ зарегистрированы в республиках Северного Кавказа, Москве и Санкт-Петербурге; максимальные — в Чукотском автономном округе, Республике Тыва и Еврейской автономной области. Отрицательные статистически значимые взаимосвязи средней силы установлены между ПППЖ и 1) удельным весом общей площади помещений, оборудованных водопроводом, горячим водоснабжением и канализацией; 2) долей населения с высшим образованием в общей численности населения; 3) плотностью автомобильных дорог (км дорог на 1000 км² территории); 4) комфортностью климатических условий. **Выводы:** региональные показатели ПППЖ значительно варьируют и превышают аналогичные показатели в экономически развитых странах. Результаты исследования свидетельствуют о влиянии на показатели ПППЖ экономики, показателей бытовых условий проживания населения, развитости инфраструктуры региона, уровня образования населения, климатических условий. В то же время требуется дальнейшее мультидисциплинарное изучение проблемы.

Ключевые слова: потерянные годы потенциальной жизни, преждевременная смертность, социально-экономические показатели, регионы Российской Федерации.

(Для цитирования): Бойцов С.А., Самородская И.В., Третьяков В.В., Ватолина М.А. Потерянные годы жизни в результате преждевременной смерти и их взаимосвязь с климатическими и социально-экономическими показателями регионов. *Вестник РАМН*. 2015; 70 (4): 456–463. Doi: 10.15690/vramn.v70.i4.1412

456

S.A. Boytsov¹, I.V. Samorodskaya¹, V.V. Tret'yakov², M.A. Vatolina¹

¹ State Research Center for Preventive Medicine, Moscow, Russian Federation

² RIA Rating, Moscow, Russian Federation

Years of Life Lost Due to Premature Death and Their Relationship with Climate and Socio-Economic Performance of Regions

Background: The «years of potential life lost» (YPLL) indicator is widely used in international studies. Still YPLL's variety in the Russian regions is poorly investigated. **Objective:** Our aim was to study the performance of YPLL in the regions of Russia in 2013 and their relationship with the regional socio-economic indicators. **Methods:** Non-clinical observational study was conducted. The object of study — YPLL in the Russian regions. YPLL per 100 thousand population (non-standardized and standardized to the world standard population age structure) is based on data of Rosstat. Subject of investigation — YPLL variability in the regions, the evaluation of the correlation between YPLL, climatic effect and socio-economic indicators of the regions. **Results:** The average standardized YPLL in the region was 20 185 (95% CI 19 272–21 029); non-standardized — 25 880 (95% CI 24 744–26 957). Maximum standardized YPLL above the minimum in 3.4 times. Minimum YPLL rates were recorded in the North Caucasus, Moscow and St. Petersburg; maximum — in Chukotka, Republic of Tuva and the Jewish Autonomous Region. Negative statistically significant correlation to the average power detected between YPLL and: 1) specific weight of the total space, equipped with water supply, hot water supply and sanitation; 2) share of population with tertiary education in total population; 3) road density (km of roads per 1000 sq km); 4) climatic conditions. **Conclusion:** The regional YPLL indicators vary considerably and are higher than the similar indicators in developed countries. According to the findings YPLL indicator are influenced by economic factor, indicators of household living conditions of the population, the infrastructure system in the region, the level of education of the population and climatic effect. The results we got require further multidisciplinary study of the problem.

Key words: years of potential life lost, premature mortality, socio-economic indicators, the regions of the Russian Federation.

(For citation): Boytsov S.A., Samorodskaya I.V., Tret'yakov V.V., Vatolina M.A. Years of Life Lost Due to Premature Death and Their Relationship with Climate and Socio-Economic Performance of Regions/ *Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2015; 70 (4): 456–463. Doi: 10.15690/vramn.v70.i4.1412

Обоснование

Начиная с 1990 г. в мире (ВОЗ, ОЭСР, Мировым банком, другими международными организациями и регулирующими органами стран) помимо показателя смертности для оценки потерь здоровья населения используют показатель ПГПЖ (потерянные годы потенциальной жизни; Potential Years of Life Lost, PYLL) [1]. В отличие от коэффициента смертности ПГПЖ позволяет оценить не только число умерших, но и возраст, в котором наступила смерть, по различным причинам — как самым массовым, так и присущим молодым возрастам. По мнению ряда авторов, применение показателя ПГПЖ позволяет провести конвертирование демографических потерь в экономические и финансовые, что особенно актуально при современных подходах к охране здоровья населения России [2–4].

Согласно данным проведенного в 2010 г. международного исследования, показатель потерянных лет от всех причин в США на 100 тыс. населения составил 11 447, в Австралии — 7722, в Канаде — 8546, в Великобритании — 8949, в Финляндии — 9050, в Японии — 6827, в Китае — 14024, в Боливии — 23 695, в Ираке — 22498, в Индии — 33 366, в Монголии — 34 325, в России — 25 387 [5, 6]. В России за последние годы проведен ряд региональных исследований по оценке ПГПЖ [7, 8]. Однако следует сразу отметить, что авторы использовали разные критерии (точки отсчета) для оценки потерянных лет жизни, что, с нашей точки зрения, затрудняет сопоставление результатов [2–4]. Можно согласиться с мнением R.J. Marshall о необходимости использования единых методических подходов и «норм» в таких исследованиях, иначе сопоставление результатов будет невозможным [9]. Согласно отчету Global Burden of Disease (Seattle, WA: IHME, 2013), в качестве точки отсчета для потерянных лет жизни принят показатель 86 лет — это ожидаемая продолжительность жизни (ОПЖ) женщин в Японии, что соответствует самой высокой национальной продолжительности жизни, наблюдавшейся в мире на 2010 г.) [1, 10].

Данные исследований свидетельствуют о значительном влиянии социально-экономических показателей на смертность населения, однако в исследованиях по оценке ПГПЖ вопросы влияния климатических и социально-экономических факторов на показатели ПГПЖ не изучались [7, 11–13].

Цель: на основании стандартизации показателей и применения международной точки отсчета изучить региональные показатели ПГПЖ и их взаимосвязь с социально-экономическими показателями.

Методы

Дизайн исследования

Проведено неклиническое наблюдательное исследование.

Продолжительность исследования

Продолжительность исследования составила 1 год (2013 г.).

Описание вмешательства

На основе данных за 2013 г. о числе умерших и численности населения в пятилетних возрастных группах в регионах РФ, полученных по запросу из Росстата, опре-

делены потерянные годы потенциальной жизни (ПГПЖ, PYLL) по формуле:

$$PYLL = \sum D_i \times a_i,$$

где D_i — абсолютное число умерших в возрастном интервале i ; a_i — недожитые годы.

Далее на основе коэффициентов мирового стандарта населения вычислены показатели: общие и стандартизованные ПГПЖ на 100 тыс. населения.

Статистический анализ

Вычислены показатели описательной статистики (среднее, медиана, межквартильный размах, дисперсия). Проведено ранжирование регионов по уровню ПГПЖ. На основании полученных данных проведен корреляционный анализ с отдельными социально-экономическими показателями регионов. Социально-экономические показатели, приведенные в исследовании, отражены в официальной статистике Росстата [14]. Для оценки климата использован комплексный показатель (комфортность климатических условий), применяемый специалистами РИА «Рейтинг» в ежегодном рейтинге «Оценка качества жизни в регионах» [15]. Показатель учитывает:

- сумму положительных температур (градусов в год);
- контрастность температур зимы и лета;
- длительность периода с температурой ниже нуля градусов;
- число дней с сильным ветром в зимний период.

Показатель оценивают в баллах по шкале от 5 до 90, где минимум соответствует неблагоприятным, максимум — наиболее оптимальным в Российской Федерации (РФ) условиям. Корреляционный анализ взаимосвязи ПГПЖ с вышеперечисленными показателями выполнен с включением Москвы, Санкт-Петербурга, республик Северного Кавказа и после их исключения. Для его проведения использовали метод Пирсона; взаимосвязь считали статистически значимой при $p < 0,05$.

Результаты

Объект исследования

Объект исследования — ПГПЖ в регионах РФ.

Основные результаты исследования

В табл. 1 представлены результаты оценки потерянных лет потенциальной жизни в регионах РФ и ранги стандартизованных и нестандартизованных показателей ПГПЖ. Величина среднего значения стандартизованных показателей ПГПЖ составила 20 185 (95% ДИ 19 272–21 029), для нестандартизованных — 25 880 (95% ДИ 24744–26957). Медиана для стандартизованных показателей ПГПЖ составила 19 907, для нестандартизованных — 26 788. Между регионами отмечены существенные различия в показателях ПГПЖ: стандартное отклонение для стандартизованных показателей — 4183, межквартильный размах — 3980; для нестандартизованных — 5068 и 4572; дисперсия — 17 503 026 и 25 685 297, соответственно. Минимальные стандартизованные и нестандартизованные показатели ПГПЖ зарегистрированы в республиках Северного Кавказа, Москве и Санкт-Петербурге. Среди регионов «первой десятки» для Ямало-Ненецкого автономного округа и Чеченской Республики ранг ухудшается (увеличение абсолютного значения ранга), если для его оценки используются стандартизованные показатели ПГПЖ.

Таблица 1. Стандартизованные и нестандартизованные показатели потерянных лет потенциальной жизни (ППЖ) в регионах Российской Федерации (РФ)

Субъекты РФ	ППЖ станд.	Ранг	ППЖ нестандарт.	Ранг
Республика Ингушетия	10 448,05	1	9578,9	1
Республика Дагестан	12 513,97	2	11 972,9	2
Чеченская Республика	14 793,38	8	13 063,8	3
Москва	12 632,09	3	16 640,97	4
Кабардино-Балкарская Республика	14 111,94	5	16 850,77	5
Карачаево-Черкесская Республика	14 267,61	6	16 905,65	6
Ямало-Ненецкий автономный округ	17 715,94	17	17 308,6	7
Ханты-Мансийский автономный округ (Югра)	15 860,39	10	17 765,12	8
Республика Северная Осетия (Алания)	14 454,93	7	17 883,18	9
Санкт-Петербург	13 959	4	19 602,81	10
Ставропольский край	15 593,79	9	19 793,88	11
Тюменская область	17 510,27	16	20 224,78	12
Республика Калмыкия	17 852,31	19	21 143,82	13
Краснодарский край	16 008,62	12	21 642,58	14
Республика Татарстан	16 690,56	13	21 771,52	14
Республика Адыгея	16 920,92	14	22 246,45	16
Белгородская область	15 962,77	11	22 371,43	17
Астраханская область	17 880,83	20	22 778,69	17
Ростовская область	17 554,91	17	23 559,47	19
Республика Саха (Якутия)	21 475,61	59	23 691,59	20
Волгоградская область	18 109,89	22	23 752,75	21
Томская область	19 209,54	35	24 203,93	22
Мурманская область	18 505,18	26	24 439,41	23
Чувашская Республика	18 500,99	25	24 603,22	24
Московская область	18 089,8	21	24 619,9	25
Пензенская область	17 087,84	14	24 639,37	26
Калининградская область	18 648,78	28	24 887,29	27
Новосибирская область	19 452,12	40	25 560,11	28
Саратовская область	18 604,15	28	25 569,59	28
Удмуртская Республика	19 968,38	43	25 628,13	30
Воронежская область	18 481,29	24	25 646,97	30
Архангельская область	19 617,51	41	25 838,09	32
Республика Мордовия	18 786,75	30	25 856,18	33
Липецкая область	18 579,77	27	25 926,49	34
Ульяновская область	19 177,46	33	26 027,11	35
Республика Башкортостан	20 701,28	50	26 078,59	35
Рязанская область	19 140,46	32	26 338,7	37
Омская область	20 322,68	47	26 368,63	38
Тамбовская область	18 209,69	23	26 466,18	39
Свердловская область	20 204,45	45	26 471,22	40
Ярославская область	18 853,48	30	26 597,9	41
Ленинградская область	19 180,29	34	26 788,88	42
Челябинская область	20 704,41	51	26 865,87	43
Алтайский край	20 473,73	47	26 875,42	44

Таблица 1. Стандартизованные и нестандартизованные показатели потерянных лет потенциальной жизни (ПППЖ) в регионах Российской Федерации (РФ) (Окончание)

Субъекты РФ	ПППЖ станд.	Ранг	ПППЖ нестанд.	Ранг
Республика Коми	20 630,59	47	26 885,17	45
Орловская область	19 188,9	35	26 907,91	46
Кировская область	19 300,9	37	26 955,46	47
Красноярский край	21 540,77	60	27 057,9	47
Курская область	19 356,68	38	27 149,83	47
Калужская область	20 105,64	44	27 165,86	50
Республика Марий Эл	20 872,44	54	27 187,57	51
Костромская область	19 442,61	39	27 190,58	52
Республика Алтай	25 057,82	78	27 359,49	53
Брянская область	20 243,14	46	27 495,03	54
Республика Хакасия	22 363,94	64	27 609,02	55
Вологодская область	20 960,72	55	27 790,48	56
Ненецкий автономный округ	24 826,28	76	27 954,68	56
Ивановская область	19 907,61	42	28 023,59	58
Республика Бурятия	24 133,3	73	28 034,52	59
Оренбургская область	22 069,99	63	28 074,28	60
Нижегородская область	20 769,23	52	28 288,53	61
Самарская область	21 032,74	56	28 292,23	62
Пермский край	22 021,53	62	28 325,55	63
Республика Карелия	21 143,13	56	28 766,38	64
Камчатский край	22 989,04	64	28 932,14	64
Забайкальский край	24 879,14	77	29 191,52	66
Смоленская область	21 794,09	61	29 534,11	67
Владимирская область	21 208,38	58	29 538,76	68
Тульская область	20 824,42	53	29 574,98	69
Приморский край	23 193,75	68	29 695,65	70
Хабаровский край	23 668,74	71	29 790,43	71
Сахалинская область	23 008,6	66	30 186,53	72
Курганская область	23 359,56	69	30 624,39	73
Кемеровская область	24 160,6	74	30 971,99	74
Магаданская область	24 162,64	75	30 995,2	75
Тверская область	23 129,07	67	31 584,52	76
Иркутская область	26 098,8	79	31 846,55	77
Псковская область	23 359,74	70	32 613,57	78
Новгородская область	23 911,87	72	32 653,15	79
Амурская область	26 432,96	80	32 885,5	80
Еврейская автономная область	29 837,59	81	35 893,64	81
Республика Тыва	36 348,87	83	36 390,7	82
Чукотский автономный округ	35 262,26	82	37 339,53	83

Аналогичным образом по той же причине при расчете стандартизованных показателей значительно ухудшается ранговое место в таких регионах, как Республика Саха (Якутия), Республика Башкортостан, Бурятия и Алтай, Омская область, Ненецкий автономный округ, Забайкальский край.

В то же время при стандартизации показателей ПППЖ значительно улучшаются показатели (уменьшается величина ПППЖ на 100 тыс. населения и величина рангового места) в таких регионах, как Тамбовская, Ярославская, Свердловская, Курская, Калужская, Пензенская, Тульская, Ивановская, Ленинградская и не-

которых других областях (см. табл. 1). Это происходит за счет большей доли в них лиц пожилого возраста по сравнению с другими регионами, что в определенной степени нивелируется при использовании стандартизованных показателей ПГПЖ.

Несколько меняются показатели ПГПЖ при их стандартизации, но сохраняется самый низкий ранг в таких регионах, как Чукотский автономный округ, Республика Тыва, Еврейская автономная область, Амурская область.

В табл. 2 представлены результаты корреляционного анализа взаимосвязи социально-экономических показателей и ПГПЖ (стандартизованных и нестандартизованных с включением всех регионов и при исключении Москвы, Санкт-Петербурга и республик Северного Кавказа). Статистически значимые положительные взаимосвязи выявлены между всеми вариантами показателей ПГПЖ и обеспеченностью больничными койками на 10 тыс. населения, а также числом травм, отравлений и некоторых других последствий воздействия внешних причин на 1000 человек населения. Отрицательные статистически значимые взаимосвязи средней силы установлены между ПГПЖ (стандартизованными и нестандартизованными с включением всех регионов и при исключении Москвы, Санкт-Петербурга и республик Северного Кавказа) и 4 анализируемыми показателями:

- удельным весом общей площади помещений, оборудованных водопроводом, горячим водоснабжением и канализацией;
- долей населения с высшим образованием в общей численности населения в возрасте 15 лет и старше;
- плотностью автомобильных дорог общего пользования с твердым покрытием, км дорог на 1000 км² территории;
- комфортностью климатических условий.

Выявлена статистически значимая положительная взаимосвязь между таким показателем, как доля населения с доходами ниже прожиточного минимума, и стандартизованными показателями ПГПЖ, а также нестандартизованными показателями ПГПЖ при исключении Москвы, Санкт-Петербурга и республик Северного Кавказа, где ПГПЖ определяется в значительной степени факторами, не присущими другим регионам. Статистически значимая положительная взаимосвязь установлена также между уровнем безработицы и стандартизованными показателями ПГПЖ как с включением, так и при исключении Москвы, Санкт-Петербурга и республик Северного Кавказа (при отсутствии статистически значимой взаимосвязи с нестандартизованными показателями ПГПЖ).

460

Таблица 2. Корреляционная взаимосвязь социально-экономических показателей и показателей потерянных лет потенциальной жизни (ПГПЖ)

Показатели		ПГПЖ станд.	ПГПЖ нестанд.	ПГПЖ станд. 1	ПГПЖ нестанд. 1
Доля населения с доходами ниже прожиточного минимума, %	Корреляция Пирсона	0,297**	0,116	0,406**	0,266*
	Значение <i>p</i>	0,003	0,148	0	0,011
Общая площадь жилых помещений, приходящая в среднем на одного жителя за исключением ветхого и аварийного фонда, м ² на человека	Корреляция Пирсона	0,018	0,375**	-0,355**	0,025
	Значение <i>p</i>	0,436	0,001	0,001	0,415
Удельный вес общей площади, оборудованной водопроводом, %	Корреляция Пирсона	-0,461**	-0,366**	-0,414**	-0,330**
	Значение <i>p</i>	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,002
Удельный вес общей площади, оборудованной водоотведением (канализацией), %	Корреляция Пирсона	-0,320**	-0,229*	-0,316**	-0,259*
	Значение <i>p</i>	0,002	0,019	0,003	0,013
Удельный вес общей площади, оборудованной горячим водоснабжением, %	Корреляция Пирсона	-0,288**	-0,225*	-0,237*	-0,213*
	Значение <i>p</i>	0,004	0,02	0,021	0,034
Рейтинговый балл в рейтинге регионов по развитию спортивной инфраструктуры	Корреляция Пирсона	0,152	0,156	0,002	-0,128
	Значение <i>p</i>	0,085	0,079	0,492	0,139
Выбросы в атмосферу загрязняющих веществ от стационарных и передвижных источников на единицу площади населенных пунктов, тонн на км ²	Корреляция Пирсона	-0,059	-0,137	-0,045	-0,201*
	Значение <i>p</i>	0,299	0,108	0,351	0,043
Комфортность климатических условий, баллы	Корреляция Пирсона	-0,580**	-0,484**	-0,510**	-0,350**
	Значение <i>p</i>	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,001
Обеспеченность населения питьевой водой, отвечающей требованиям безопасности, %	Корреляция Пирсона	-0,017	-0,027	-0,015	-0,058
	Значение <i>p</i>	0,439	0,405	0,448	0,312
Смертность населения в ДТП в расчете на 100 тыс. человек населения	Корреляция Пирсона	0,188*	0,241*	0,122	0,213*
	Значение <i>p</i>	0,044	0,014	0,15	0,034
Доля населения с высшим образованием в общей численности населения в возрасте 15 лет и старше, %	Корреляция Пирсона	-0,354**	-0,313**	-0,371**	-0,463**
	Значение <i>p</i>	0,001	0,002	0,001	<0,0001

Таблица 2. Корреляционная взаимосвязь социально-экономических показателей и показателей потерянных лет потенциальной жизни (ППГЖ) (Окончание)

Показатели		ППГЖ станд.	ППГЖ нестанд.	ППГЖ станд. 1	ППГЖ нестанд. 1
Плотность автомобильных дорог общего пользования с твердым покрытием, км дорог на 1000 км ² территории	Корреляция Пирсона	-0,504**	-0,429**	-0,454**	-0,207*
	Значение <i>p</i>	<0,0001	<0,0001	<0,0001	0,038
Плотность железнодорожных путей общего пользования, км путей на 10 000 км ² территории	Корреляция Пирсона	-0,370**	-0,14	-0,365**	-0,072
	Значение <i>p</i>	0	0,103	0,001	0,272
Доля городского населения, %	Корреляция Пирсона	0,09	0,279**	-0,105	0,026
	Значение <i>p</i>	0,209	0,005	0,187	0,414
Объем ВРП на душу населения, тыс. руб. на человека	Корреляция Пирсона	-0,006	0,035	-0,03	0,017
	Значение <i>p</i>	0,478	0,378	0,401	0,444
Доля собственных доходов в общем объеме доходов консолидированных бюджетов, %	Корреляция Пирсона	-0,019	0,101	0,01	0,158
	Значение <i>p</i>	0,431	0,182	0,465	0,09
Объем прямых иностранных инвестиций в расчете на 1 жителя, долл. США на человека	Корреляция Пирсона	0,001	0,041	-0,035	0,003
	Значение <i>p</i>	0,496	0,356	0,383	0,49
Доля прибыльных предприятий, %	Корреляция Пирсона	0,114	0,188*	0,135	0,231*
	Значение <i>p</i>	0,152	0,044	0,125	0,024
Уровень безработицы, %	Корреляция Пирсона	0,256**	0,075	0,307**	0,122
	Значение <i>p</i>	0,01	0,249	0,004	0,151
Численность занятых в малом бизнесе и индивидуальном предпринимательстве в % к численности экономически активного населения	Корреляция Пирсона	0,029	0,333**	-0,332**	-0,054
	Значение <i>p</i>	0,399	0,001	0,002	0,323

Примечание. 1 — анализ выполнен при исключении Москвы, Санкт-Петербурга и республик Северного Кавказа; ** — корреляция значима на уровне 0,01; * — корреляция значима на уровне 0,05. ДТП — дорожно-транспортное происшествие, ВРП — валовой региональный продукт.

Обсуждение

Резюме основного результата исследования

Среднее значение стандартизованных показателей ППГЖ в регионах составило 20 185 (95% ДИ 19 272–21 029); нестандартизованных — 25 880 (95% ДИ 24744–26957). Установлена значительная вариабельность показателей ППГЖ: максимальный стандартизованный показатель ППГЖ выше минимального в 3,4 раза. Минимальные показатели ППГЖ зарегистрированы в республиках Северного Кавказа, Москве и Санкт-Петербурге; максимальные — в Чукотском автономном округе, Республике Тыва и Еврейской автономной области. Отрицательные статистически значимые взаимосвязи средней силы выявлены между ППГЖ:

- и удельным весом общей площади помещений, оборудованных водопроводом, горячим водоснабжением и канализацией;
- долей населения с высшим образованием в общей численности населения;
- плотностью автомобильных дорог (км дорог на 1000 км² территории);
- комфортностью климатических условий.

Обсуждение основного результата исследования

Минимальные стандартизованные показатели ППГЖ в регионах РФ значительно выше, чем показатели ППГЖ в развитых странах. Только в первой десятке регионов показатели сопоставимы по уровню ППГЖ с аналогичным

показателем в Китае (14 024), в большинстве же регионов уровень ППГЖ сопоставим с таковым в Боливии (23 695) и Ираке (22 498), а в последних (в Республике Тыва и Чукотском автономном округе) превышает уровень ППГЖ в Индии (33 366) и Монголии (34 325) [1, 5, 6]. Следует обратить внимание, что не только в РФ, но и в ряде других стран отмечают региональные различия в показателях, в том или ином аспекте оценивающих популяционную смертность [16, 17]. Однако только в России различия достигают столь значительных величин: максимальный стандартизованный показатель ППГЖ выше минимального в 3,4 раза. В то же время, вероятно, это связано с тем, что только в России регионы столь значительно различаются между собой не только по экономическим показателям, но и по плотности населения, климатическим условиям, этническим особенностям проживающих в них людей. В некоторых регионах ранг ППГЖ значительно изменяется в зависимости от ранжирования на основе стандартизованных или нестандартизованных показателей, что обусловлено различиями в возрастной структуре населения. Например, в Ямало-Ненецком автономном округе и Чеченской Республике из-за более высоких показателей детской смертности до 1 года и более высокой доли молодого населения стандартизованные показатели смертности выше нестандартизованных, что ведет к ухудшению ранга этих регионов.

Значительное число исследований свидетельствует о том, что на смертность и продолжительность жизни населения оказывает влияние большое разнообразие

факторов: экономические (ВВП, уровень неравенства, бедность, безработица), социальные (социальная защищенность отдельных групп населения, уровень образования, одиночество), природно-климатические и экологические, генетические и эпигенетические факторы, образ жизни и качество оказания медицинской помощи, политика в области охраны здоровья (меры по борьбе с курением, злоупотреблением алкоголем, уменьшению числа дорожно-транспортных происшествий). В нашем исследовании невозможно было учесть влияние индивидуальных факторов риска преждевременной смерти, и мы провели оценку взаимосвязи ПППЖ только с некоторыми социально-экономическими факторами, доступными для анализа. В то же время нельзя исключить, что рассматриваемые показатели могут оказывать различное, порой противофазное влияние на уровень смертности. Например, Москва и Санкт-Петербург в значительной степени опережают другие регионы по качеству жизни, а в республиках Северного Кавказа, вероятно, значительную роль играет такой фактор, как «знаменитое кавказское долголетие», определяемый, в свою очередь, комплексом условий проживания и укладом жизни. Вполне вероятно, что в одном регионе более значимо влияние на смертность социально-экономических факторов и состояния системы здравоохранения, в то время как в других — действие природно-климатических и экологических факторов. Именно поэтому, с нашей точки зрения, полученные результаты не позволяют в полной мере оценить влияние социально-экономических факторов на показатели ПППЖ, особенно в условиях отсутствия информации о процентном соотношении в регионе населения из разных социально-экономических групп. Так, согласно данным экспертов ВОЗ, в настоящее время имеются убедительные доказательства того, что градиент смертности проявляется как в различиях смертности между богатыми и бедными странами, так и в каждой стране между 5 группами населения, разделенными в зависимости от их социально-экономического статуса [18]. В заключительном докладе Комиссии по социальным детерминантам здоровья (Final Report of the Commission on Social Determinants of Health, 2008) также обращается внимание на тот факт, что смертность в социально незащищенных слоях населения в бедных странах гораздо выше, чем среди аналогичных слоев населения богатых стран, но отмечается, что величина градиента значительно варьирует: в Европе он существенно ниже, чем в странах Ближнего Востока и Северной Африки.

Часть социально-экономических показателей имеет статистически значимую взаимосвязь только со стандартизованными показателями ПППЖ (например, уровень безработицы). Это вполне объяснимо, поскольку и ПППЖ и уровень безработицы зависят от возрастной структуры населения, и взаимосвязь между уровнем ПППЖ и уровнем безработицы проявляется после стандартизации показателей ПППЖ. И в этом случае корреляционная взаимосвязь, несмотря на ее небольшую величину, остается статистически значимой как при включении в анализ Москвы, Санкт-Петербурга и республик Северного Кавказа, так и при их исключении.

Понятны отрицательные взаимосвязи и с такими факторами, как комфортность климатических условий, уровень образованности населения региона, обеспеченность водопроводом, горячим водоснабжением и канализацией и плотность автомобильных дорог. Последние 3 показателя в определенной степени отражают развитость инфраструктуры региона, его экономическое развитие.

Логично предположить (особенно учитывая результаты других исследований, что обеспеченность регионов развитой инфраструктурой положительно влияет на сохранение здоровья населения [3, 11–13]. Однако обращает на себя внимание отсутствие взаимосвязи между таким экономическим показателем, как объем валового регионального продукта (ВРП) на душу населения и показателями ПППЖ (и стандартизованными и нестандартными, как с включением Москвы, Санкт-Петербурга и республик Северного Кавказа, так и при их исключении). Однако такие результаты не исключают влияния данного показателя на смертность и ПППЖ. Так, в нашем исследовании установлена слабая отрицательная ($r = -0,226$), но статистически значимая ($p = 0,04$) взаимосвязь между объемом ВРП на душу населения (тыс. руб) и показателями смертности в возрасте 20–40 лет в регионах [11]. Вероятно, это свидетельствует о том, что такая взаимосвязь может зависеть от методики расчета отдельных показателей, а также о том, что экономические показатели и общепопуляционное состояние здоровья на региональном уровне, отражаемое с помощью разных показателей (заболеваемость, смертность, ПППЖ, преждевременная смертность, инвалидность), не всегда имеют линейную взаимосвязь, и влияние экономических, социальных и некоторых других показателей, вероятно, лучше выражается на индивидуальном уровне или на уровне отдельных групп населения (общин, домохозяйств). Так, обнаруженная нами в данном исследовании положительная статистически значимая корреляция между показателями ожидаемой продолжительности жизни и числом больничных коек на 10 тыс. населения труднообъяснима с логической точки зрения. По-видимому, такая взаимосвязь является случайной (с точки зрения статистического анализа), «ложной», и свидетельствуют о том, что число больничных коек отражает какой-то неучтенный фактор, непосредственно влияющий на смертность. Возможно, таким фактором служит распространенность тяжелых жизнеугрожающих заболеваний в регионе (возможно, запущенных форм хронических заболеваний), число которых может увеличиваться как с ростом доли пожилого населения в регионе, так и доли лиц с низким социально-экономическим статусом, среди которых и частота жизнеугрожающих заболеваний и состояний встречаются гораздо чаще, чем среди лиц с более высоким социально-экономическим статусом. Кроме того, возможно взаимосвязь «смертность — число больничных коек» опосредуется через плотность населения региона, особенности климата и определенный способ организации медицинской помощи. Возможно также, что большое число больничных коек на 10 тыс. населения является показателем неэффективной организации медицинской помощи, имеющей в основном экстенсивный характер. Для оценки такой взаимосвязи необходимо исследование с определенным дизайном и методикой получения соответствующей информации.

Полученные данные подтверждают, что состояние здоровья населения, а следовательно, и показатели преждевременной смертности зависят от многих факторов, которые находятся в тесной, но не линейной взаимосвязи друг с другом [12, 19]. Для оценки вклада не только социально-экономических факторов, но и ряда других (роли системы здравоохранения, методов лечения и профилактики, употребления алкоголя, этнических особенностей популяции и ряда других), влияющих на показатели смертности, в т.ч. потерянные годы жизни в результате преждевременной смертности в разных регионах РФ, необходимы специально организованные исследования.

Учитывая высокую вероятность нелинейного характера большинства взаимосвязей между показателями смертности (ППЖ) и социально-экономическими факторами, вероятно, целесообразно применение нестандартных методов математической статистики, возможно, разработка специальных математических моделей [13]. Кроме того, совершенно очевидно, что оценка взаимосвязи социально-экономических показателей со смертностью и ППЖ должна выполняться мультидисциплинарной командой с участием специалистов в области здравоохранения, экономики, статистики, математики, метеорологии, демографии и эпидемиологии. Такой подход может обеспечить более точную оценку степени влияния каждого из факторов на показатели смертности и ППЖ. Вероятно, такая оценка вклада факторов сможет стать основой для обоснования планирования мероприятий по снижению смертности (особенно преждевременной) в регионах РФ.

Заключение

Региональные показатели ППЖ значительно варьируют и превышают аналогичные показатели в экономически развитых странах. Результаты исследования свидетельствуют о влиянии на показатели ППЖ экономики, показателей бытовых условий проживания населения, развитости инфраструктуры региона, уровня образования населения, климатических условий. В то же время требуется дальнейшее мультидисциплинарное изучение проблемы.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки исследования / конфликта интересов, о которых необходимо сообщить.

ЛИТЕРАТУРА

- Murray C.J.L., Lopez A.D. Measuring the Global Burden of Disease. *New Engl. J. Med.* 2013; 369: 448–457.
- Красильников И.А., Иванова А.Е., Семенова В.Г., Сабгайда Т.П., Евдоушкина Г.Н. Методические рекомендации по использованию показателя «потерянные годы потенциальной жизни» (ППЖ) для обоснования приоритетных проблем здоровья населения России на федеральном, региональном и муниципальном уровнях. М.: ЦНИИОИЗ МЗ РФ. 2014. 32 с.
- Кобякова О.С., Деев И.А., Бойцов В.А., Шибалков И.П. Количество потерянных лет жизни (DALY) в результате преждевременной смертности населения Томской области в 2012 году. *Вестник РАМН.* 2013; 11: 60–64.
- Иванова А.Е., Семенова В.Г., Сабгайда Т.П., Евдоушкина Г.Н. Рекомендации по использованию методики потерянных лет потенциальной жизни для характеристики приоритетных проблем здоровья населения и увеличения продолжительности жизни, ориентированных на различные категории населения Санкт-Петербурга. М. 2012. 13с.
- Wang H., Dwyer-Lindgren L., Lofgren K.T., Rajaratnam J.K., Marcus J.R., Levin-Rector A., Levitz C., Lopez A.D., Murray C.J.L. Age specific and sex specific mortality in 187 countries, 1970–2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *Lancet.* 2012; 380: 2071–2094.
- Charles Atkinson B.S., Lozano R., Naghavi M., Vos T., Whiteford H., Christopher J.L. Murray Ph. The burden of mental disorders in the USA: new tools for comparative analysis of health outcomes between countries. *Lancet.* 2013; 381: 10.
- Бойцов С.А., Самородская И.В. Смертность и потерянные годы жизни в результате преждевременной смертности от болезней системы кровообращения *Кардиоваскулярная терапия и профилактика.* 2014; 13 (2): 4–11.
- Ватолина М.А., Самородская И.В., Бойцов С.А. Смертность и потерянные годы жизни в результате болезни Альцгеймера в России. *Психиатрия.* 2014; 1 (61): 47–51.
- Marshall R.J. Standard expected years of life lost as a measure of mortality: norms and reference to New Zealand data. *Aust. NZJ Public Health.* 2004; 28 (5): 452–457.
- Institute for Health Metrics and Evaluation, Human Development Network World Bank. Global Burden of Disease: the generation of evidence for policy direction. *Seattle, WA: IHME.* 2013. 70 p.
- Бойцов С.А., Самородская И.В. Третьяков В.В. Градиент смертности в возрасте 40–59 лет в субъектах РФ. *Вестник РАМН.* 2014; 7–8: 106–112.
- Обзор социальных детерминант и разрыва по показателям здоровья в Европейском регионе ВОЗ. 2014. URL: <http://www.euro.who.int/pubrequest?language=Russian> (Available: 01.02.2015).
- Косолапов А.Б. Влияние социально-экономических факторов на показатели смертности мужского населения на Дальнем Востоке России. Современные научные исследования и инновации. 2012; 12. URL: <http://web.snauka.ru/issues/2012/12/19047> (дата обращения: 01.02.2015).
- URL: www.gks.ru (дата обращения: 01.04.2015.)
- URL: <http://www.sci.aha.ru/RUS/wadb2.htm> (дата обращения: 01.04.2015.)
- Rosenthal T. Geographic variation in health care. *Ann. Rev. Med.* 2012; 63: 493–509.
- Welch H.G., Sharp S.M., Gottlieb D.J., Skinner J.S., Wennberg J.E. Geographic variation in diagnosis frequency and risk of death among Medicare beneficiaries. *JAMA.* 2011; 305 (11): 1113.
- Final Report of the Commission on Social Determinants of Health. World Health Organization, 2008. URL: http://www.who.int/social_determinants/thecommission/finalreport/en/index.html (Available: 01.02.2015).
- Mackenbach J.P., Karanikolos M., McKee M. The unequal health of Europeans: successes and failures of policies. *Lancet.* 2013; 381 (9872): 1125–1134.

463

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Бойцов Сергей Анатольевич, доктор медицинских наук, профессор, директор ГНИЦ профилактической медицины
Адрес: 117334, Москва, Петроверигский пер., д. 10, **тел.:** +7 (495) 623-86-36, **e-mail:** prof.boytsov@gmail.com

Самородская Ирина Владимировна, доктор медицинских наук, профессор, руководитель лаборатории демографических аспектов здоровья населения ГНИЦ профилактической медицины
Адрес: 117334, Москва, Петроверигский пер., д. 10, **тел.:** +7 (495) 623-86-36, **e-mail:** samor2000@yandex.ru

Третьяков Валерий Вячеславович, кандидат технических наук, генеральный директор ООО «Рейтинговое агентство «РИА Рейтинг»
Адрес: 119021, Москва Зубовский бульвар, д. 4, **тел.:** +7 (968) 766-93-66, **e-mail:** v.tretyakov@rian.ru

Ватолина Мария Александровна, младший научный сотрудник лаборатории демографических аспектов здоровья населения ГНИЦ профилактической медицины
Адрес: 117334, Москва, Петроверигский пер., д. 10, **тел.:** +7 (495) 623-86-36, **e-mail:** maryvatolina@yandex.ru

С.А. Борзенко^{1,2}, Д.С. Афанасьева¹, М.Б. Гущина¹

¹ МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Фёдорова, Москва, Российская Федерация

² Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова, Москва, Российская Федерация

Жировая ткань глазницы: амортизационная подушка, или *Terra incognita* в офтальмологии

Представление о роли жировой ткани в организме человека за последние десятилетия претерпело значительные изменения. Знание о ее участии в эндокринных и иммунных процессах открыло новые стороны патогенеза и терапии различных заболеваний, перспективные возможности регенеративной медицины. Дальнейшим направлением исследований становится более детальное изучение строения и функций отдельных жировых скоплений. Наибольший интерес в этом аспекте представляет жировая ткань глазницы, отличающаяся своим нейроэктодермальным происхождением. В данной обзорной статье приведены данные об анатомии, структуре, клеточном и биохимическом составе орбитального жира. Уделено внимание отдельным типам клеток: адипоцитам и мезенхимальным стволовым клеткам. Обобщены данные о таких характеристиках стволовых клеток орбитальной клетчатки, как поверхностные CD-маркеры и способность к дифференцировке. Данные об особенностях жировой клетчатки глазницы в зависимости от состояния органа зрения и его вспомогательного аппарата позволяют предположить ее участие в формировании разнообразной глазной патологии. В статье перечислены возможные направления дальнейшего изучения и практического использования орбитального жира и входящих в его состав клеток в офтальмологии, реконструктивно-пластической хирургии и регенеративной медицине.

Ключевые слова: стволовые клетки, адипоциты, ретробульбарная клетчатка, трансплантация клеток.

(Для цитирования: Борзенко С.А., Афанасьева Д.С., Гущина М.Б. Жировая ткань глазницы: амортизационная подушка, или *Terra incognita* в офтальмологии. *Вестник РАМН*. 2015; 70 (4): 464–467. Doi: 10.15690/vramn.v70.i4.1413)

464

Актуальность

В последние десятилетия изменилось отношение к роли жировой ткани в физиологии и патологии человека. Многочисленными научными группами показано, что эта разновидность соединительной ткани, составляющая более 3 кг массы тела [1], представляет собой не только энергетическое депо и опору для внутренних органов, но и участвует в иммунных реакциях [2]. При этом разнообразные адипокины, продуцируемые клетками жировой ткани, оказывают не только локальное воздействие (факторы роста VEGF, FGF-2, IGF-1 и HGF) [3], но и влияют на формирование системной патологии [4], в частности,

компонентов метаболического синдрома [5]. Кроме того, жировая ткань является общепризнанным источником стволовых клеток у взрослых ввиду доступности и простоты выделения клеточной популяции по сравнению с костномозговой фракцией [6].

Жировые подушки окружают многие органы человека, в т.ч. и глазное яблоко. Однако в современных фундаментальных руководствах по анатомии органа зрения дается сравнительно скудное описание глазничной клетчатки [7]. Тем не менее жировая ткань этой локализации привлекает внимание уже своим нейроэктодермальным происхождением в отличие от других жировых депо, формирующихся из мезодермы

S.A. Borzenok^{1,2}, D.S. Afanasyeva¹, M.B. Gushchina¹

¹ S.N. Fyodorov Eye Microsurgery State Institution, Moscow, Russian Federation

² Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russian Federation

Orbital Adipose Tissue: Just a Fat Pad or *Terra Incognita* in Ophthalmology

Our understanding of the role of adipose tissue has been completely changed during the past decades. The knowledge of its contribution to endocrine and immune pathways opened the new insights on the pathogenesis and therapy of many diseases and new perspectives for the regenerative medicine. The further researches should be provided to study anatomy and functions of local fat depots in more details. Of the most interest is the orbital adipose tissue due to its origin from the neural crest. This review represents the current data about anatomy, structure, cell composition and biochemistry of orbital fat. The main attention is put to such cell types as adipocytes and adipose derived mesenchymal stem cells. The foreign authors' findings on such characteristics of stem cells from orbital adipose tissue as CD markers and differential capacity are reviewed. The found evidences of interaction between orbital adipose tissue, eyeball and associated structures allow us to hypothesize that this fat depot may contribute to various ocular pathology. In this paper, we outlined the possible directions for further investigation and clinical application of orbital fat and cells its composing in ophthalmology, reconstructive and plastic surgery and regenerative medicine.

Key words: stem cells, adipocytes, retrobulbar adipose tissue, cell transplantation.

(For citation: Borzenok S.A., Afanasyeva D.S., Gushchina M.B. Orbital Adipose Tissue: Just a Fat Pad or *Terra Incognita* in Ophthalmology. *Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2015; 70 (4): 464–467. Doi: 10.15690/vramn.v70.i4.1413)

[8]. В отечественных изданиях нами обнаружено лишь незначительное число публикаций о жировой ткани глазницы. Наиболее часто она рассматривается в связи с эндокринной (аутоиммунной) офтальмопатией [9]. Более детальному изучению ретробульбарной клетчатки посвящены исследования Г.А. Шилкина и соавт., проведенные в конце прошлого века [10–12]. Напротив, в зарубежной печати постоянно появляются все новые публикации, в которых всесторонне изучают клетки жировой ткани глазницы.

Целью настоящего обзора было представить читателю обобщенные данные о структуре орбитальной жировой клетчатки и ее роли в физиологии и патологии органа зрения.

Общая характеристика жировой ткани глазницы

Согласно данным руководств по топографической анатомии, жировая клетчатка глазницы располагается в пространстве между мышечными, сосудистыми и нервными структурами, окружающими глазное яблоко [7, 13]. Тарзоорбитальная фасция разделяет жировое тело на две части. Позади нее жировая ткань заполняет всю мышечную воронку, а впереди с центральной стороны формирует преапоневротическую жировую подушку, с назальной стороны — медиальную жировую подушку. Выделение последних двух образований обусловлено несколькими факторами. Во-первых, они значительно отличаются по цвету. Медиальная жировая подушка имеет более светлую окраску по сравнению с насыщенно желтым жиром центральной части. Во-вторых, формирование медиального и центрального жира в эмбриогенезе происходит, вероятно, из различных листков. Центральный жир напоминает белую жировую ткань туловища и, судя по всему, также происходит из мезодермы [14]. В свою очередь, медиальная жировая подушка продолжается жировой тканью мышечной пирамиды и имеет схожую морфологию. Подобно остальным соединительнотканным образованиям глазницы, эти фракции жировой ткани характеризуются нейроэктодермальным происхождением [8, 15].

Особое внимание изучению анатомии и гистологии орбитальной жировой ткани человека было уделено в работах научной группы, возглавляемой D. Bremond-Gignas и H. Copin [16]. В своих исследованиях, проведенных на трупном материале, эти авторы показали наличие двух морфофункциональных топографических вариантов орбитальной жировой ткани. Первый представлен толстыми соединительнотканными перегородками с мелкими адипоцитами. Располагаясь в области мышц и слезной железы, он играет роль поддерживающей ткани, дающей точки вращения. Второй, содержащий крупные адипоциты и тонкие перегородки между ними, локализуется в задних отделах орбиты, окружает зрительный нерв и позволяет ему совершать движения в орбите.

Клеточный состав

Клеточный состав жировой ткани глазницы качественно не отличается от жировой ткани другой локализации. Несмотря на то, что в подавляющем большинстве изученных публикаций орбитальный жир относят к белой жировой ткани [17, 18], существует мнение, что орбиталь-

ный жир имеет многие характеристики бурой жировой ткани [19].

По данным С. Onyimba и соавт., адипоциты орбитального жира в целом мельче и менее дифференцированы, чем аналогичные клетки подкожной жировой клетчатки и сальника [20]. Кроме того, уровень экспрессии 11 β -HSD1 у них ниже, а GRa H6PDH — выше. Орбитальная жировая клетчатка имеет значительную популяцию CD68+ клеток. Все это свидетельствует о том, что данная разновидность жировой ткани способна активно участвовать в воспалительных заболеваниях орбиты.

Под руководством V. Plankovani был выполнен сравнительный морфометрический анализ глазничной, буккальной и подкожной жировой клетчатки туловища. Согласно опубликованным ими данным, по таким параметрам, как относительные объемы коллагена, эндотелиальные клетки и показатель количественной плотности тучных клеток, жировая ткань глазницы близка к буккальному жиру и значительно отличается от подкожной жировой клетчатки туловища [21].

По результатам биохимического анализа, представленного в работе B.S. Sires и соавт. (1998), орбитальная жировая клетчатка содержит пальмитиновую (22–24,6%), олеиновую (45–51,5%) и линоленовую (15–18,6%) кислоты. При этом значимых отличий в содержании жирных кислот и протеинов между различными жировыми подушками глазницы не обнаружено [22]. Тем не менее показано, что центральный жир содержит больше β -каротина и лютеина, чем медиальная жировая подушка [23]. Однако следует отметить, что физиологическое значение этого различия до сих пор не известно.

В настоящее время можно считать хорошо известным факт высокого содержания стволовых клеток в подкожной и висцеральной жировой ткани. Были предприняты попытки выделить и изучить аналогичные клеточные популяции из орбитального жира. Суммарное число регенераторных клеток, полученных из жира медиальной и центральной жировых подушек, составило $7,1 \times 10^5$ и $15,6 \times 10^5$ клеток/грамм, соответственно. Клетки из обеих фракций характеризовались экспрессией набора CD-маркеров, характерных для стволовых клеток, полученных из жировой ткани другой локализации, в т.ч. имели типичные маркеры стволовых клеток взрослых CD90 и CD105 [23]. При этом в медиальном жире оказалось в 2 раза больше CD34+ клеток (маркер HSCs, эндотелиальных и некоторых мезенхимальных стволовых клеток). В то же время клетки, полученные из медиального и центрального жира, различались по интенсивности экспрессии маркеров нервных клеток. По данным B.S. Kohn, стволовые клетки, выделенные из медиального жира, позитивно окрашивались на маркеры зрелых нейронов NeuN, TH и β -тубулин III, астроцитарные маркеры GFAP и маркеры олигодендроцитов O4 и CNPase. Окраска на Nestin, маркер нейрональных стволовых клеток была положительной только у клеток из центральной жировой ткани глазницы [23].

Не осталась без внимания исследователей и возможность направленной дифференцировки стволовых клеток медиальной и центральной жировых подушек *in vitro*. Установлено, что при добавлении в культуральную среду соответствующих факторов мультипотентные клетки, выделенные из орбитального (назального и центрального) жира, приобретают морфологию зрелых адипоцитов, гладких миоцитов и клеток нервной ткани (нейрональных и глиальных) и экспрессируют характерные CD-маркеры [23]. Показано, что из медиального и

центрального жира можно выделить различные прогениторные клетки, способные к дифференцировке *in vitro* в клетки эндотелия сосудов, хондроциты и остеоциты [24]. Однако способность к адипогенной дифференцировке у клеток обеих фракций оказалась значительно ниже, чем у стволовых клеток абдоминальной жировой ткани. При этом менее 1% клеток позитивно окрашивались на маркеры гладких миоцитов после инкубации в соответствующей дифференциальной среде.

Согласно данным I.H. Но и W.H. Ма, при сокультивировании с эпителиоцитами роговицы стволовые клетки орбитальной жировой клетчатки меняли свою морфологию и становились округлыми, полигональными, утрачивали экспрессию CD105 и приобретали маркеры эпителиальных клеток [25].

Роль в формировании патологии органа зрения

Одним из первых предположения о связи изменений ретробульбарной клетчатки с патологией органа зрения высказал Г.А. Шилкин [10]. Им были описаны случаи, когда при осевой миопии в ретробульбарной клетчатке определялись бессосудистые пустоты и тяжи, но при этом она оставалась рыхлой. В свою очередь, у пациентов с гиперметропией, микрофтальмом, колобомами хориоидеи и энтофтальмом наблюдали бессосудистое уплотнение жировой клетчатки глазницы. Позднее возможность взаимосвязи объема орбитальной клетчатки с повышением внутриглазного давления была рассмотрена в работе О. Stojanov и соавт. [18]. Они показали, что у тучных людей больше объем ретробульбарной жировой ткани (6,23 против 4,85 см³; $p < 0,01$) и выше внутриглазное давление (15,96 против 12,99 мм рт.ст.; $p < 0,01$) по сравнению с людьми, имеющими нормальную массу тела. При этом установлена положительная корреляция между значением показателя внутриглазного давления и объемом ретробульбарной жировой ткани.

У пациентов с глаукомой обнаружены изменения орбитальной жировой клетчатки после использования простагландинсодержащих капель [26]. Инстиляции латанопроста, биматопроста или травопроста у таких пациентов сопровождались снижением средней плотности адипоцитов центральной жировой подушки по сравнению с контрольной группой.

При проведении спектрофотометрического анализа в группе пациентов с приобретенным птозом инволютивного характера была выявлена тенденция к меньшему содержанию каротиноидов в преапоневротическом жире [27].

Перспективы использования орбитальной жировой клетчатки в офтальмологии и регенеративной медицине

Нельзя исключать, что дальнейшее изучение орбитальной жировой клетчатки может пролить свет на этиологию и патогенез патологии органа зрения. Принимая во внимание общее нейроэктодермальное происхождение глазного яблока и орбитального жира, стволовые клетки орбитальной жировой клетчатки могут стать прекрасным источником лечения врожденной и приобретенной патологии глаза [28]. Так, стволовые клетки, выделенные из орбитальной жировой ткани, могут применяться для регенерации поврежденных клеток при патологии сетчатки (например, макулярная дегенерация, врожденная абийотрофия и пр.), глаукоматозных, травматических и дегенеративных повреждениях зрительного нерва, инфекционных и ожоговых повреждениях глазной поверхности [23, 29].

Использование стволовых клеток орбитальной клетчатки нам представляется перспективным и для целей реконструктивно-пластической офтальмохирургии. Например, они могли бы использоваться для обогащения трансплантатов жировой ткани при липофилинге. Помимо местного использования в офтальмологии, орбитальную жировую клетчатку нельзя не рассматривать и как возможный источник стволовых клеток для достижения противовоспалительного эффекта при системном применении [30].

Заключение

Анализ данных литературы о жировой клетчатке глазницы показал, что в отношении строения и функции этой ткани остается много неизученных вопросов. Достижения в изучении свойств подкожной и висцеральной жировой ткани туловища определяют и перспективы поиска новых звеньев патогенеза глазных болезней, учитывая возможную роль клеток орбитального жира. Единое нейроэктодермальное происхождение клетчатки глазницы и глазного яблока делает ее одним из предпочтительных источников стволовых клеток для регенеративной медицины, а также поиска новых терапевтических мишеней в офтальмологии.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки исследования / конфликта интересов, о которых необходимо сообщить.

ЛИТЕРАТУРА

- Tran T.T., Kahn C.R. Transplantation of adipose tissue and adipose-derived stem cells as a tool to study metabolic physiology and for treatment of disease. *Nat. Rev. Endocrinol.* 2010; 6: 195–213.
- Шварц В. Жировая ткань как орган иммунной системы. *Цитокины и воспаление.* 2009; 4. URL: <http://www.cytokines.ru/2009/4/Art1.php>. (дата обращения 10.04.2015).
- Planat-Benard V., Silvestre J.S., Cousin B., André M., Nibelink M., Tamarat R. Plasticity of human adipose lineage cells toward endothelial cells — Physiological and therapeutic perspectives. *Circulation.* 2004; 109 (5): 656–663.
- Schäffler A., Müller-Ladner U., Schölmerich J., Büchler C. Role of adipose tissue as an inflammatory organ in human diseases. *Endocr. Rev.* 2006; 27 (5): 449–467.
- Осиков И.А., Беспалова И.Д., Бычков В.А., Рязанцева Н.В., Каложин В.В., Афанасьева Д.С. Нарушения межклеточных взаимодействий в патогенезе воспаления жировой ткани при метаболическом синдроме. *Бюллетень Сибирского отделения Российской академии медицинских наук.* 2013; 34 (4): 51–58.
- Salgado A.J., Reis R.L., Sousa N., Gimble J.M. Adipose tissue derived stem cells secretome: soluble factors and their roles in regenerative medicine. *Curr. Stem Cell Res. Ther.* 2010; 5: 103–110.
- Вит В. Строение зрительной системы человека. *Одесса: Астропринт.* 2010. 587 с.
- Johnston M.C., Noden D.M., Hazelton R.D., Coulombre J.L., Coulombre A.J. Origins of avian ocular and periocular tissues. *Exp. Eye Res.* 1979; 29: 27–43.

9. Сорожкина Е.С., Сирмайс О.С. Роль иммунологических факторов в патогенезе эндокринной офтальмопатии. *Российский офтальмологический журнал*. 2013; 3: 106–112.
10. Шилкин Г.А., Гемонов В.В., Андрейцев А.Н., Иванова З.Г., Калинин Ю.Ю., Шилкин А.Г. Эмбриогенез и функции ретробульбарной клетчатки и ее связь с клинической офтальмологией. *Актуальные вопросы детской офтальмологии*. М. 1990. С. 154–160.
11. Шилкин Г.А., Чабров А.Е., Давыдов Д.В., Науменко Н.А., Иванова З.Г., Андрейцев А.Н. Морфологические особенности ретробульбарной клетчатки у человека в раннем возрастном периоде. *Актуальные вопросы детской офтальмологии*. М. 1990. С. 161–165.
12. Шилкин Г.А., Михайлова Г.Д., Климов Н.И., Харизов А.А. Ультразвуковая характеристика ретробульбарной клетчатки. Лазерные методы лечения и ангиографические исследования в офтальмологии. М. 1983. С. 266–271.
13. Turney T.A., Golden B.A. Orbital anatomy for the surgeon. *Oral Maxillofacial Surg. Clin. North Am.* 2012; 24: 525–536.
14. Ahmadi A.J., Saari J.C. Decreased carotenoid content in preaponeurotic orbital fat of patients with involutional ptosis. *Ophthalm. Plast. Reconstr. Surg.* 2005; 21 (1): 46–51.
15. Meier S. The distribution of cranial neural crest cells during ocular morpho-genesis. *Prog. Clin. Biol. Res.* 1982; 82: 1–15.
16. Bremond-Gignac D., Copin H. Anatomical histological and mesoscopic study of the adipose tissue of the orbit. *Surg. Radiol. Anat.* 2004; 26 (4): 297–302.
17. Gesta S., Tseng Y.H., Kahn C.R. Developmental origin of fat: tracking obesity to its source. *Cell.* 2007; 131 (2): 242–256.
18. Stojanov O., Stokić E., Sveljo O., Naumović N. The influence of retrobulbar adipose tissue volume upon intraocular pressure in obesity. *Vojnosanit Pregl.* 2013; 70 (5): 469–476.
19. Wiersinga W.M., Kahaly G. Graves' orbitopathy: a multidisciplinary approach: questions and answers. *Karger Medical and Scientific Publishers*. 2007. 260 p.
20. Onyimba C., Bujalska I., Durrani O., Abbott J., Khosla P., Moosavi A. Glucocorticoid metabolic pathways in human orbital adipose tissue: a comparison with subcutaneous and omental depots. *Endocrine Abstracts*. 2007; 13: 115.
21. Ilankovan V., Soames J.V. Morphometric analysis of orbital, buccal and subcutaneous fats: their potential in the treatment of enophthalmos. *Brit. J. Oral Maxillofac Surg.* 1995; 33(1): 40–42.
22. Sires B.S., Lemke B.N., Dortzbach R.K., Gonnering R.S. Characterization of human orbital fat and connective tissue. *Ophthalm Plast Reconstr. Surg.* 1998; 14 (6): 403–414.
23. Korn B.S., Kikkawa D.O., Hicok K.C. Identification and characterization of adult stem cells. *Ophthalm. Plast. Reconstr. Surg.* 2009; 25 (1): 27–32.
24. Chen S.Y., Mahabole M., Horesh E., Wester S., Goldberg J.L., Tseng S.C. Isolation and characterization of mesenchymal progenitor cells from human orbital adipose tissue. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2014; 55 (8): 4842–4852.
25. Ho I.H., Ma W.H., Tseng T.C., Chen Y.F., Chen M.H., Lee O.K. Isolation and characterization of multi-potent stem cells from human orbital fat tissues. *Tissue Eng. Part A.* 2011; 1–2: 255–266.
26. Park J., Cho H.K., Moon J.I. Changes to upper eyelid orbital fat from use of topical bimatoprost, travoprost, and latanoprost. *Jpn. J. Ophthalmol.* 2011; 55 (1): 22–27.
27. Ahmadi A.J., Saari J.C., Mozaffarian D., Garwin G.G., Tarbet K.J., Orcutt J.C. Decreased carotenoid content in preaponeurotic orbital fat of patients with involutional ptosis. *Ophthalm. Plast. Reconstr. Surg.* 2005; 21 (1): 46–51.
28. Wester S.T. Orbital stem cells. *Curr. Ophthalmol. Rep.* 2014; 2: 107–115.
29. Lin K.J., Loi M.X., Lien G.S., Cheng C.F., Pao H.Y., Chang Y.Ch. Topical administration of orbital fat-derived stem cells promotes corneal tissue regeneration. *Stem Cell Res. Ther.* 2013; 4 (3): 72.
30. Chien M.H., Bien M.Y., Ku C.C., Chang Y.C., Pao H.Y., Yang Y.L. Systemic human orbital fat-derived stem/stromal cell transplantation ameliorates acute inflammation in lipopolysaccharide-induced acute lung injury. *Crit. Care Med.* 2012; 40 (4): 1245–1253.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Борзенко Сергей Анатольевич, доктор медицинских наук, академик РАЕН, заведующий Центром фундаментальных и прикладных медико-биологических проблем МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Фёдорова, профессор кафедры глазных болезней МГМСУ им. А.И. Евдокимова

Адрес: 127486, Москва, Бескудниковский б-р, д. 59А, **тел.:** +7 (499) 488-85-58, **e-mail:** borzenok@mntk.ru

Афанасьева Дарья Сергеевна, клинический ординатор МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Фёдорова

Адрес: 127486, Москва, Бескудниковский б-р, д. 59А, **e-mail:** ada-tomsk@yandex.ru

Гущина Марина Борисовна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Фёдорова

Адрес: 127486, Москва, Бескудниковский б-р, д. 59А, **тел.:** +7 (499) 488-85-25, **e-mail:** mbg1411@yandex.ru

DOI: 10.15690/vramn.v70.i4.1414

Т.П. Ветлугина, В.Б. Никитина, С.А. Сергеева, М.М. Аксенов, О.А. Лобачева,
Д.Н. Савочкина, Е.М. Епанчинцева, Н.А. Бохан

НИИ психического здоровья, Томск, Российская Федерация

Влияние адамантилбромфениламина на параметры иммунитета и симптомы астении у пациентов с непсихотическими психическими расстройствами

Цель исследования: оценить влияние антиастенического препарата адамантилбромфениламина на систему иммунитета и симптомы астении у пациентов с непсихотическими психическими расстройствами и определить возможные критерии прогноза эффективности лечения. **Методы:** проведено неконтролируемое исследование с прерванным временным рядом. По эффективности лечения пациенты были разделены на 2 группы (1-я группа, $n=21$ — с сильно выраженным и выраженным улучшением состояния; 2-я группа, $n=9$ — с незначительным улучшением). Адамантилбромфениламин назначали пациентам в виде монотерапии по 100 мг/сут в течение 28 сут. Обследование проводили до и после лечения. Выраженность астенической симптоматики определяли по шкале MFI-20; оценивали параметры клеточного и гуморального иммунитета, митогениндуцированную продукцию интерлейкинов (ИЛ) 1 β и ИЛ 4 иммунокомпетентными клетками пациентов. **Результаты:** обследованы 30 пациентов (средний возраст 35,33 \pm 8,79 года) с непсихотическими психическими расстройствами, в клинической картине заболевания которых преобладала астеническая симптоматика. До начала лечения каждый обследуемый по 5 пунктам шкалы MFI-20 в сумме имел более 60 баллов. По отношению к контролю установлено уменьшение числа лимфоцитов CD3 $^{+}$ -, HLA-DR $^{+}$, CD16 $^{+}$ -фенотипов; повышение соотношения CD4 $^{+}$ / CD8 $^{+}$, концентрации IgM, фагоцитарной активности нейтрофилов. По окончании терапии в 1-й группе общая сумма баллов астении снизилась до 26 (23–37) ($p < 0,001$), во 2-й группе — до 57 (47–61). Только в 1-й группе установлена позитивная динамика параметров иммунитета. Показано, что исходное содержание провоспалительного цитокина ИЛ 1 β в группе с выраженным терапевтическим эффектом препарата было значимо ниже, чем в группе с незначительным улучшением ($p = 0,005$). Эти различия сохранялись и после курса лечения ($p = 0,042$). **Заключение:** показана сопряженность клинического и иммунологического эффекта адамантилбромфениламина; интенсивность продукции ИЛ 1 β может рассматриваться в качестве критерия прогноза эффективности лечения адамантилбромфениламином пациентов с непсихотическими психическими расстройствами.

Ключевые слова: непсихотические психические расстройства, астения, система иммунитета, адамантилбромфениламин.

(Для цитирования: Ветлугина Т.П., Никитина В.Б., Сергеева С.А., Аксенов М.М., Лобачева О.А., Савочкина Д.Н., Епанчинцева Е.М., Бохан Н.А. Влияние адамантилбромфениламина на параметры иммунитета и симптомы астении у пациентов с непсихотическими психическими расстройствами. Вестник РАМН. 2015; 70 (4): 468–474. Doi: 10.15690/vramn.v70.i4.1414)

468

T.P. Vetlugina, V.B. Nikitina, S.A. Sergeeva, M.M. Axenov, O.A. Lobacheva,
D.N. Savochkina, E.M. Epanchintseva, N.A. Bokhan

Mental Health Research Institute, Tomsk, Russian Federation

Influence of Adamantylbromphenylamine on Parameters of Immunity and Symptoms of Asthenia in Patients with Non-Psychotic Mental Disorders

Objective: Our aim was to assess effect of antiasthenic drug adamantylbromphenylamine on the immune system and symptoms of asthenia in patients with non-psychotic mental disorders and to reveal possible criteria for prediction of treatment efficiency. **Methods:** Uncontrolled study with interrupted time series was carried out. According to efficiency of treatment patients were divided into two groups (group 1 ($n=21$) — very much improved and much improved; group 2 ($n=9$) — minimally improved). Adamantylbromphenylamine was administered to patients as a monotherapy 100 mg a day for 28 days. Examination was conducted before and after therapy. Severity of asthenic symptoms according to MFI-20 scale was identified; cellular and humoral immunity parameters, mitogen-induced production of interleukins (IL) 1 β and IL 4 by immunocompetent cells of patients were assessed. **Results:** 30 patients with non-psychotic mental disorders with predominance of asthenic symptomatology in clinical picture of the disease were examined. Before therapy every proband had over 60 points across 5 items of MFI-20 scale. As compared with control decrease of number of lymphocytes of CD3 $^{+}$ -, HLA-DR $^{+}$, CD16 $^{+}$ -phenotypes; increase in the ratio of CD4 $^{+}$ /CD8 $^{+}$; concentration of serum IgM; phagocytic activity of neutrophils were revealed. In the end of therapy in group 1, sum total of points of asthenia decreased up to 26 (23–37) ($p < 0.001$); in group 2 — up to 57 (47–61). Only in group 1 positive dynamic of immune parameters was revealed. It was shown that baseline level of proinflammatory cytokine IL 1 β in group with apparent therapeutic effect of the drug was reliably lower, than in group with minimal improvement ($p = 0.005$). These differences remained also after course of therapy ($p = 0.042$). **Conclusion:** Interrelationship of clinical-immunological effect of adamantylbromphenylamine has been revealed; intensity of production of IL 1 β may be considered as a criterion of prognosis of efficiency of treatment with adamantylbromphenylamine in patients with non-psychotic mental disorders.

Key words: non-psychotic mental disorders, asthenia, immune system, adamantylbromphenylamine.

(For citation: Vetlugina T.P., Nikitina V.B., Sergeeva S.A., Axenov M.M., Lobacheva O.A., Savochkina D.N., Epanchintseva E.M., Bokhan N.A. Influence of Adamantylbromphenylamine on Parameters of Immunity and Symptoms of Asthenia in Patients with Non-Psychotic Mental Disorders. Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2015; 70 (4): 468–474. Doi: 10.15690/vramn.v70.i4.1414)

Обоснование

Астенические состояния характеризуются повышенной истощаемостью психических и физических функций и наиболее часто встречаются как при соматических, так и при психических заболеваниях. При пограничных (непсихотических) психических расстройствах астения может быть ведущим симптомокомплексом, определяющим клиническую картину заболевания, создающим предпосылки для формирования более сложных психопатологических нарушений, осложняющим лечение пациентов и их социальную адаптацию [1–3]. Несмотря на широкий арсенал фармакологических средств, выбор терапевтической тактики лечения астенических состояний остается важной проблемой медицины. В связи с этим обосновано применение при пограничных психических расстройствах препарата адамантилбромфениламина, воздействующего на основные симптомы астении, сочетающего психостимулирующий и анксиолитический эффект и не имеющего выраженных нежелательных явлений [4]. При этом актуальна задача разработки подходов к персонализированной терапии, поиска критериев прогноза эффективности лечения и, в частности, иммунологических критериев, поскольку нарушение нейроиммунного взаимодействия является важнейшим фактором формирования и течения непсихотических психических расстройств [5–7].

Целью исследования было оценить влияние антиастенического препарата адамантилбромфениламина на систему иммунитета и симптомы астении у пациентов с непсихотическими психическими расстройствами и определить возможные критерии прогноза эффективности лечения.

Методы

Дизайн исследования

Проведено неконтролируемое исследование с прерванным временным рядом. В двух группах пациентов, разделенных по эффективности лечения, изучали несколько параметров до и после терапии.

Критерии соответствия

В исследование включали пациентов, поступивших в стационар и не принимавших психотропные средства в течение 30 сут до поступления.

Критерии включения:

- непсихотические психические расстройства, диагностированные в рамках МКБ-10 — расстройства адаптации (F43.2), невращения (F48.0), органическое эмоционально-лабильное (астеническое) расстройство (F06.6);
- возраст 18–55 лет;
- общая сумма баллов астенической симптоматики по шкале MFI-20 (the Multidimensional Fatigue Inventory) [8] — 60 и более;
- согласие на участие в исследовании.

Критерии исключения:

- наличие алкогольной и наркотической зависимости;
- неврологические и соматические заболевания в острой стадии;
- отказ пациента от участия в исследовании.

Условия проведения

Исследование проведено на базе отделения пограничных состояний клиники НИИ психического здоровья г. Томска.

Продолжительность исследования

Исследование выполнялось с марта по июнь 2009 г. Продолжительность периода наблюдения составила 34 сут: скрининг — 3 сут, лекарственная терапия пациентов — 28 сут, контрольный скрининг по окончании лечения — 3 сут. Клинико-иммунологический анализ полученных данных проведен в 2014 г.

Описание медицинского вмешательства

Пациентам назначали адамантилбромфениламин в виде монотерапии, *per os* по 100 мг/сут, утром после еды, в течение 28 сут.

Исходы исследования

Основным исходом исследования являлась эффективность лечения, оцениваемая по динамике общего клинического состояния пациентов; динамика выраженности астенической симптоматики и иммунологических показателей в процессе терапии.

Анализ в подгруппах

В соответствии с целью исследования и принимая во внимание отсутствие отклика на препарат у некоторых пациентов, отмеченное и другими авторами [9, 10], на основании оценки степени тяжести и динамики клинического состояния (Clinical Global Impression — Improvement Scale, CGI-I) [11], по эффективности лечения пациенты были разделены на 2 группы: с очень выраженным и выраженным улучшением состояния и с незначительным улучшением. Проведен сравнительный анализ этих групп по показателям выраженности астенической симптоматики и иммунологическим параметрам в 2 точках: до начала лечения и по его окончании. Контролем при иммунологических исследованиях служили референсные значения показателей иммунного статуса практически здоровых людей.

Методы регистрации исходов

Психическое состояние пациентов диагностировано в рамках МКБ-10. Оценку степени тяжести и динамики клинического состояния осуществляли с использованием шкалы общего клинического впечатления CGI-I. Для оценки выраженности астенической симптоматики использована шкала субъективной оценки астении MFI-20.

При оценке иммунного статуса наблюдаемых применяли комплекс лабораторных тестов: определяли фенотипы иммунокомпетентных клеток (кластеры дифференцировки, CD) с использованием моноклональных антител (ООО «Сорбент», Россия), концентрацию сывороточных иммуноглобулинов M, G, A с использованием наборов моноспецифичных сывороток к IgG, IgA, IgM и стандартные сыворотки производства НПО «Микроген» (Россия); содержание циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) в сыворотке крови с использованием ПЭГ-6000; фагоцитарную активность полиморфноядерных нейтрофилов (фагоцитарный индекс, ФИ), и фагоцитарное число, ФЧ) в тест-системе с меламиноформальдегидным латексом. Митогениндуцированную продукцию интерлейкинов (ИЛ) 1 β и 4 иммунокомпетентными клетками пациентов исследовали в культуре цельной крови (ЛПС-индуцированная и ФГА-индуцированная культура, соответственно); концентрацию интерлейкинов в супернатантах культуры определяли методом иммуноферментного анализа с использованием стандартных наборов (ООО «Протеиновый контур», Россия). Контролем при иммунологических исследованиях служили разработанные в лаборатории клинической психонейроиммуно-

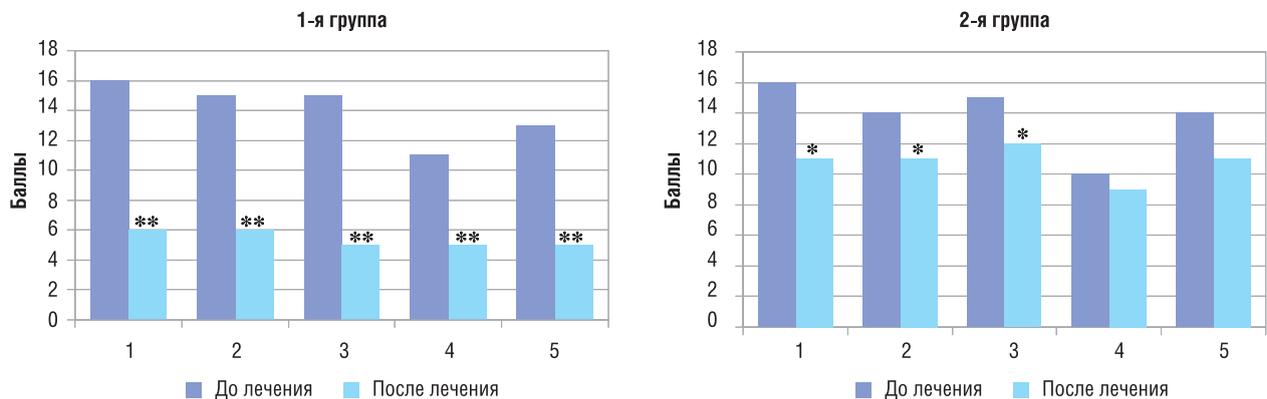


Рис. 1. Динамика симптомов астении у пациентов по шкале MFI-20 на фоне монотерапии адамантилбромфениламином.
Примечание. По оси X — подшкалы MFI-20: 1 — общая астения; 2 — физическая астения; 3 — снижение активности; 4 — снижение мотивации; 5 — психическая астения. * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$.

гии НИИ психического здоровья референсные значения показателей иммунного статуса 190 практически здоровых людей (региональные иммунологические нормы).

Этическая экспертиза

При проведении исследования были соблюдены принципы информированного согласия Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации. Исследование одобрено Локальным этическим комитетом при НИИ психического здоровья (Томск), протокол № 22 от 10.03.2009 г.

Статистический анализ

Размер выборки предварительно не рассчитывался. Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета STATISTICA v. 7.0 (StatSoft Inc, США) [12]. Распределение количественных показателей проверяли на нормальность по критериям Шапиро–Уилка и визуального метода гистограмм. Поскольку большинство показателей не подчинялись нормальному закону распределения, использовали непараметрические статистические критерии, их описательная статистика представлена медианой (Me) и межквартильным интервалом (25–75%, или LQ–UQ) [13]. Анализ количественных данных проводили путем сравнения независимых выборок с помощью U-критерия Манна–Уитни. Для определения различий между парными параметрами до и после лечения внутри каждой группы применяли W-критерий Вилкоксона. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимался равным 0,05.

Результаты

Участники исследования

По критериям включения для исследования были отобраны 52 пациента. Из них 14 человек не дали согласие на участие в исследовании, 8 пациентов были исключены в связи с обострением сопутствующих соматических заболеваний. Полностью завершили курсовое лечение по программе 30 пациентов — 7 (23,3%) мужчин и 23 (76,7%) женщины — в возрасте от 22 до 53 лет (средний возраст $35,33 \pm 8,79$ года).

Основные результаты исследования

У всех пациентов ($n = 30$) до начала лечения имела место клинически выраженная астения, и по 5 пунктам шкалы MFI-20 каждый обследованный в сумме имел более 60 баллов. Симптоматика астении выражалась в виде

эмоциональной лабильности, некоторых соматовегетативных симптомов, нарушений сна, повышенной утомляемости, снижения уровня профессиональной активности и продуктивности в повседневных делах. Ведущими клиническими синдромами были астенический — у 14 (46,7%), астенодистимический — у 9 (30,0%) и астеноцефалгический — у 7 (23,3%) пациентов.

Оценка эффективности терапии по шкале CGI-I показала, что у 21 (70%) пациента клиническое состояние по завершении лечения соответствовало критерию «очень выраженное и выраженное улучшение» (1-я группа), у 9 (30,0%) человек — критерию «незначительное улучшение» (2-я группа). Самооценка динамики состояния по шкале астении MFI-20 демонстрировала существенные различия между этими группами. При равных исходных данных степени выраженности астении в обеих группах [69 (63–75) в 1-й и 69 (64–71) баллов во 2-й группе] на заключительном этапе лечения антиастеническим препаратом в 1-й группе общая сумма баллов по шкале снизилась до 26 (23–37) ($p = 0,00002$), во 2-й — до 57 (47–61). Наибольшие отличия касались подшкал «общая астения», «физическая астения», «понижение активности», «психическая астения» (рис. 1).

При иммунологическом обследовании до начала лечения (табл.) в группах пациентов выявлены отклонения ряда параметров иммунной системы от значений региональной иммунологической нормы (контроль). Так, у многих зарегистрировано уменьшение числа Т лимфоцитов CD3+–фенотипа и лимфоцитов с рецепторами поздней активации HLA-DR+–фенотипа; увеличение числа лимфоцитов CD16+–фенотипа, обладающих естественной киллерной активностью. Зафиксировано повышение соотношения CD4+ / CD8+ за счет увеличения числа Т хелперов / индукторов (CD4+) и снижения содержания цитотоксических Т лимфоцитов (CD8+).

Гуморальное звено иммунитета пациентов характеризовалось достоверным повышением концентрации сывороточного IgM и тенденцией к повышению концентрации IgG и IgA. Также была повышена фагоцитарная активность полиморфноядерных нейтрофилов: в 1-й группе — как ФИ, так и ФЧ, во 2-й — ФЧ. Сравнительный анализ исходных данных иммунологического обследования (точка 1) не показал значимых различий между группами пациентов.

По окончании лечения в 1-й группе пациентов с очень выраженным и выраженным улучшением клинического состояния установлена позитивная динамика ряда иммунологических показателей (рис. 2). Так, по сравнению с точкой 1 обследования в точке 2 от-

Таблица. Параметры системы иммунитета больных с непсихотическими психическими расстройствами до начала лечения адмантил-бромфениламином, Ме (LQ–UQ)

Показатели	Группы обследуемых			p ₂
	Контроль (n =190)	Пациенты		
		1-я группа (n =21)	2-я группа (n =9)	
Лейкоциты, 10 ⁹ /л	5,60 (4,80–6,40)	5,90 (4,70–6,90) p ₁ =0,289	5,10 (4,40–5,80) p ₁ =0,343	0,230
Лимфоциты, %	33,00 (27,00–39,00)	33,00 (30,00–39,00) p ₁ =0,391	36,00 (34,00–43,00) p ₁ =0,213	0,821
Лимфоциты, абс.	1,86 (1,51–2,12)	2,15 (1,66–2,57) p ₁ =0,074	1,85 (1,75–2,38) p ₁ =0,457	0,684
CD2+, %	73,18 (72,00–73,18)	74,00 (68,00–78,00) p ₁ =0,594	72,00 (68,00–76,00) p ₁ =0,628	0,785
CD3+, %	66,84 (62,00–71,00)	62,00 (56,00–70,00) p ₁ =0,044	60,00 (56,00–72,00) p ₁ =0,131	0,734
CD4+, %	36,50 (36,00–36,50)	40,00 (36,00–48,00) p ₁ =0,082	40,00 (40,00–48,00) p ₁ =0,009	0,750
CD8+, %	25,32 (25,00–25,32)	22,00 (20,00–26,00) p ₁ =0,00446	22,00 (20,00–30,00) p ₁ =0,581	0,524
CD4 / CD8	1,45 (1,43–1,45)	1,89 (1,44–2,18) p ₁ <0,001	1,60 (1,47–1,82) p ₁ =0,010	0,526
HLADR+, %	18,41 (15,00–21,00)	14,00 (12,00–16,00) p ₁ <0,001	12,00 (10,00–20,00) p ₁ =0,118	0,715
CD20+, %	9,30 (7,00–10,00)	8,00 (8,00–16,00) p ₁ =0,265	8,00 (6,00–10,00) p ₁ =0,507	0,155
CD16+, %	9,24 (7,00–11,00)	12,00 (10,00–20,00) p ₁ <0,001	16,00 (14,00–22,00) p ₁ <0,001	0,351
CD95+, %	11,65 (11,65–12,00)	10,00 (8,00–16,00) p ₁ =0,658	8,00 (6,00–14,00) p ₁ =0,407	0,616
IgM, г/л	1,24 (1,00–1,50)	1,62 (0,98–2,56) p ₁ =0,011	2,34 (1,72–2,68) p ₁ <0,001	0,103
IgG, г/л	15,94 (13,20–19,24)	18,56 (15,64–19,60) p ₁ =0,163	17,76 (14,24–20,52) p ₁ =0,292	0,803
IgA, г/л	2,07 (1,44–2,66)	2,36 (1,90–2,94) p ₁ =0,032	2,36 (0,90–3,54) p ₁ =0,758	0,511
ЦИК, усл. ед.	89,00 (67,00–110,00)	85,00 (66,00–116,00) p ₁ =0,988	92,00 (57,00–115,00) p ₁ =0,948	1,000
ФИ, %	71,44 (71,44–74,00)	82,00 (68,00–88,00) p ₁ <0,001	72,00 (62,00–87,00) p ₁ =0,587	0,181
ФЧ	6,64 (5,97–6,70)	8,90 (8,45–9,70) p ₁ <0,001	9,80 (9,09–10,10) p ₁ <0,001	0,154

471

Примечание. ЦИК — циркулирующие иммунные комплексы, ФИ — фагоцитарный индекс, ФЧ — фагоцитарное число. p₁ — значимость различий по отношению к контролю; p₂ — значимость различий между группами пациентов.

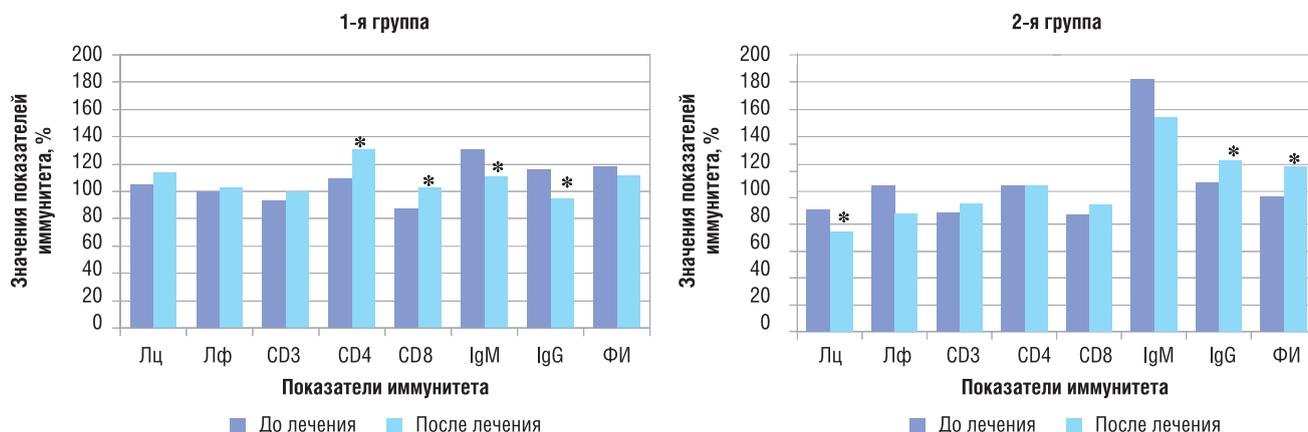


Рис. 2. Динамика показателей иммунитета на фоне монотерапии адмантилбромфениламином.

Примечание. Контроль принят за 100%. * — p < 0,05 — значимость различий между параметрами иммунитета до и после лечения. Лц — лейкоциты, Лф — лимфоциты, ФИ — фагоцитарный индекс.

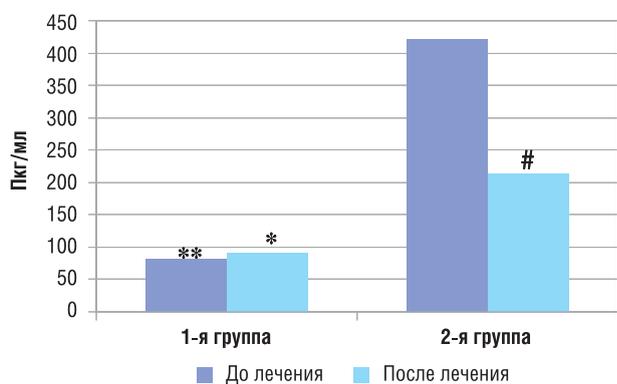


Рис. 3. Динамика концентрации ИЛ 1β у пациентов на фоне монотерапии адамантилбромфениламином.

Примечание. * и ** — значимость различий между группами; # — значимость различий внутри группы (*, # — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$).

мечено снижение высокой исходной концентрации IgM ($p = 0,018$) и IgG ($p = 0,043$), а также ФИ ($p = 0,052$). Содержание хелперов / индукторов CD4+-фенотипа Т лимфоцитов CD8+-фенотипа повышалось до значений нормы ($p = 0,035$). У пациентов 2-й группы значимой позитивной динамики параметров иммунитета после лечения не наблюдали: напротив, установлено уменьшение числа лейкоцитов ($p = 0,049$) и еще большее повышение исходной концентрации IgG ($p = 0,046$), показателя фагоцитарной активности полиморфноядерных нейтрофилов ($p = 0,008$).

При изучении митогениндуцированной продукции ИЛ мононуклеарами обследованных лиц установили, что концентрация ИЛ 4 в супернатантах культуры цельной крови в точке 1 составила в 1-й группе 45,82 (12,84–78,10), во 2-й — 48,63 (46,52–104,76) пкг/мл. В динамике терапии значимых различий продукции ИЛ 4 не установлено.

Сравнительная характеристика уровня продукции ИЛ 1β в группах пациентов с разной эффективностью терапии адамантилбромфениламином представлена на рис. 3.

При рассмотрении групп с различной эффективностью терапии оказалось, что группу с выраженным терапевтическим эффектом составили пациенты, у которых продукция ИЛ 1β была невысокой как до лечения, так и по его завершении. Во 2-й группе с незначительным улучшением общего клинического состояния концентрация ИЛ 1β в супернатантах культуры крови до терапии значимо превышала данный показатель в 1-й группе ($p = 0,005$), снижаясь к концу периода лечения, но оставаясь значимо выше соответствующего показателя в 1-й группе ($p = 0,042$).

Нежелательные явления

У 4 человек, принимавших адамантилбромфениламин, в 1-е сут лечения наблюдались нежелательные явления легкой степени выраженности (головная боль, раздражительность, трудность засыпания), которые исчезли к концу курса лечения.

Обсуждение

В ходе исследования установлен психонейроиммунотенулирующий эффект адамантилбромфениламина, который выражался в позитивном влиянии на симптомы астении и показатели иммунной реактивности и

их сопряженность с динамикой общего клинического состояния, оцениваемой по шкале CGI-I. Обнаружена зависимость терапевтического эффекта препарата от провоспалительного цитокина ИЛ 1β: низкий исходный и в динамике лечения уровень продукции ИЛ 1β был характерен для группы пациентов с выраженным улучшением клинического состояния, высокий уровень — для больных с незначительным улучшением.

Адамантилбромфениламин является производным адамантана [химическое название N-(2-адамантил)-N-(парабромфенил)-амин], разработан в НИИ фармакологии им. В.В. Закусова (Москва). Спектр фармакологической активности препарата включает психостимулирующие, анксиолитические, нейропротективные, иммуномодулирующие [14–16] и актопротекторные [17–19] эффекты. В многоцентровых клинических исследованиях продемонстрирована высокая эффективность и безопасность препарата при лечении широкого спектра астенических расстройств, включая неврастению и соматическую астению [9, 20]. Успех лечения во многом определяется индивидуальными особенностями пациентов и выбором препарата [21]. Так, доля респондеров при лечении астенических расстройств адамантилбромфениламином по шкале CGI-I составила от 80 до 92% случаев [9, 10]. В нашем исследовании эта доля была равна 70%. Отсутствие отклика на препараты у ряда пациентов ставит задачей поиск критериев, способствующих назначению адекватной дифференцированной терапии.

Важнейшая роль в поддержании гомеостаза в норме и при патологии принадлежит нервной и иммунной системе [5], и нарушение нейроиммунной регуляции приводит как к психической дезадаптации, так и к иммунной недостаточности, формированию на этом фоне сопутствующей соматической патологии и затяжному течению психических расстройств [22]. Установленный нами клинико-иммунологический эффект адамантилбромфениламина может быть реализован по различным механизмам взаиморегуляции нервной и иммунной системы. Проведенные ранее исследования показали влияние препарата на процессы повышения интенсивности биосинтеза, высвобождения и метаболизма дофамина в нейромедиаторных системах мозга экспериментальных животных [23, 24]. Известно, что активация дофамина оказывает стимулирующее действие на иммунную реактивность [25], которая вносит существенный вклад в формирование и течение психических расстройств [6]. С учетом этих данных психостимулирующее и иммуномодулирующее действие адамантилбромфениламина может быть обусловлено оптимизацией нейроиммунного взаимодействия через центральные механизмы регуляции.

Кроме того, основную роль в сложных механизмах интеграции нервной и иммунной системы играют цитокины (через цитокиноопосредованные сигнальные пути психонейроиммунотенуляции). В экспериментальных исследованиях показано влияние адамантилбромфениламина на содержание цитокиновых маркеров воспаления [26]. В нашем исследовании установлена сопряженность продукции ИЛ 1β иммунокомпетентными клетками пациентов с различным клиническим эффектом препарата, причем при высоком уровне продукции данного цитокина отмечена инертность параметров иммунитета и клинической симптоматики в динамике лечения. ИЛ 1β относится к провоспалительным цитокинам, повышение содержания которых не способствует восстановлению факторов иммунной защиты и коррелирует со степенью тяжести различных патологических процессов [27, 28].

Заключение

В настоящем исследовании при монотерапии адмантилбромфениламином пациентов с непсихотическими психическими расстройствами с преобладанием в структуре заболевания астенического симптомокомплекса установлен позитивный клинический и иммуномодулирующий эффект препарата. Показана зависимость клинко-иммунологического действия препарата от содержания провоспалительного цитокина ИЛ 1 β , продемонстрировано, что низкий исходный и уровень в динамике лечения ИЛ 1 β был характерен для группы пациентов с выраженным терапевтическим эффектом.

Полученные данные позволяют рассматривать ИЛ 1 β в качестве биомаркера прогноза эффективности терапии и персонализированного назначения адмантилбромфениламина пациентам с непсихотическими психическими расстройствами, в клинической картине которых преобладает астеническая симптоматика.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки / конфликта интересов, о которых необходимо сообщить.

ЛИТЕРАТУРА

1. Александровский Ю.А. Лечение больных с астеническими расстройствами препаратом танакан. *Российский психиатрический журнал*. 1999; 1: 24–27.
2. Семке В.Я. Превентивная психиатрия. *Томск: Изд-во ТГУ*. 1999. 402 с.
3. Смулевич А.Б., Дубницкая Э.Б. Астения и коморбидные психические расстройства. *Психиатрия и психофармакотерапия*. 2009; 11 (4): 4–7.
4. Незнамов Г.Г., Сюняков С.А., Телешова Е.С., Чумаков Д.В., Реутова М.А., Сюняков Т.С., Маметова Л.Э., Дорофеева О.А., Гришин С.А. Новый препарат со стимулирующими и анксиолитическими свойствами ладастен при лечении неврастении (результаты сравнительного клинического исследования с плацебо). *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2009; 109 (5): 20–26.
5. Актуальные проблемы нейроиммунопатологии. Руководство. Под ред. Г.Н. Крыжановского, С.В. Магаевой, С.Г. Морозова. *М.: Гениус Медиа*. 2012. 423 с.
6. Ветлугина Т.П., Невидимова Т.И. Никитина В.Б., Лобачева О.А., Бохан Н.А., Семке В.Я. Патогенетическое обоснование технологии иммунокоррекции при психических расстройствах и болезнях зависимости. *Сибирский вестник психиатрии и наркологии*. 2013; 1: 7–12.
7. Jones K.A., Thomsen C. The role of the innate immune system in psychiatric disorders. *Mol. Cell Neurosci*. 2013; 53: 52–62.
8. Smets E.M.A., Garssen B., Bonke B., De Haes J.C.J.M. The Multidimensional Fatigue Inventory (MFI) psychometric qualities of an instrument to assess fatigue. *J. Psychosom. Res*. 1995; 39 (3): 315–325.
9. Смулевич А.Б., Андрющенко А.В., Бескова Д.А. Новый подход к терапии неврастении и соматогенной астении (результаты многоцентрового исследования эффективности и безопасности ладастена). *Психиатрия и психофармакотерапия*. 2009; 11 (1): 18–26.
10. Вознесенская Т.Г., Фокина Н.М., Яхно Н.Н. Лечение астенических расстройств у пациентов с психовегетативным синдромом (результаты многоцентрового исследования эффективности и переносимости ладастена). *Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова*. 2010; 110 (5): 17–26.
11. Guy W. Early Clinical Drug Evaluation Unit (ECDEU) assessment manual for psychopharmacology. Revised. NIMH publication DHEW pub(IND) 76–338. *Bethesda MD: National Institute of Mental Health*. 1976. P. 217–222.
12. Вуколов Э.А. Основы статистического анализа. Практикум по статистическим методам и исследованию операций с использованием пакетов Statistica и Excel. *М.: ФОРУМ*. 2008. 464 с.
13. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. *М.: МедиаСфера*. 2002. 312 с.
14. Сюняков С.А., Гришин С.А., Телешова Е.С., Незнамов Г.Г., Середенин С.Б. Результаты пилотного клинического исследования Ладастена. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2006; 69 (4): 10–15.
15. Mirzoyan R.S., Gan’Shina T.S., Maslennikov D.V., Kovalev G.I., Zimin I.A., Pyatin V.M., Avdyunina N.I., Kukhtarova A.M., Khostikyan N.G., Meliksetyan V.S., Alikhanyan C.B., Mirzoyan N.R. Cerebrovascular and neuroprotective effects of adamantane derivative. *Biomed. Res. Int*. 2014; 2014: 586501.
16. Tallero A.V., Kovalenko L.P., Kuznetsova O.S., Durnev A.D., Seredenin S.B. Correcting effect of ladasten on variations in the subpopulation composition of t lymphocytes in c57bl/6 mice on the experimental model of an anxious depressive state. *Bull. Exp. Biol. Med*. 2014; 156 (3): 335–337.
17. Oliynyk S., Oh S. The pharmacology of actoprotectors: practical application for improvement of mental and physical performance. *Biomol. Ther. (Seoul)*. 2012; 20(5): 446–456.
18. Кундашев У.К., Зурдинов А.З., Морозов И.С., Барчуков В.Г. Фармакологическая коррекция адаптивных реакций сердечно-сосудистой и центральной нервной систем у рабочих высокогорного рудника при вахтовом методе организации труда. *Медико-биологические и социально-психологические проблемы безопасности в чрезвычайных ситуациях*. 2013; 4: 76–81.
19. Кундашев У.К., Зурдинов А.З., Барчуков В.Г. Возможности фармакологической коррекции адаптивных реакций организма человека при краткосрочных перемещениях из среднегорья в высокогорье. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2014; 77 (9): 32–37.
20. Андрющенко А.В., Смулевич А., Сыркин А.Л., Бескова Д.А., Копылов Ф.Ю., Арипов М.А., Романов Д.В. Терапия астенических расстройств у больных с сердечно-сосудистой патологией препаратом ладастен (итоги многоцентрового исследования «Эталон»). Результаты пилотного клинического исследования ладастена. *Психические расстройства в общей медицине*. 2011; 1: 4–13.
21. Канаева Л.С., Аведисова А.С. Прогностическая роль клинко-социальных факторов в оценке эффективности фармакотерапии у больных с непсихотическими депрессиями. *Фарматека*. 2014; 10-3: 45–52.
22. Никитина В.Б. Роль иммунных механизмов в клинической динамике посттравматических стрессовых расстройств. *Сибирский вестник психиатрии и наркологии*. 2009; 3: 14–16.
23. Morozov I.S., Pukhova G.S., Avdulov N.A., Sergeeva S.A., Spasov A.A., Iezhitsa I.N. The mechanisms of the neurotropic action of bromantan. *Eksp. Klin. Farmakol*. 1999; 62 (1): 11–14.
24. Зимин И.А., Абаимов Д.А., Будыгин Е.А., Золотарёв Ю.А., Ковалёв Г.И. Участие дофамин- и серотонинергических систем мозга в реализации психофармакологических эффектов ладастена и сиднокарба. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2010; 73 (2): 2–5.

25. Idova G.V., Alperina E.L., Cheido M.A. Contribution of brain dopamine, serotonin and opioid receptors in the mechanisms of neuroimmunomodulation: evidence from pharmacological analysis. *Int. Immunopharmacol.* 2012; 12 (4): 618–625.
26. Таллерова А.В., Коваленко Л.П., Дурнев А.Д., Середенин С.Б. Влияние ладастена на уровень цитокиновых маркеров воспаления и поведение мышей при моделировании депрессивно-подобного синдрома. *Бюллетень экспериментальной биологической медицины.* 2011; 152 (7): 65–67.
27. Китаев М.И., Саманчина Б.Т., Майназарова Э.С., Алымкулова А.Д., Алымбаева М.Д. Провоспалительные и оппозиторные цитокины при хроническом обструктивном заболевании легких. *Вестник КРСУ.* 2012; 12 (1): 110–113.
28. Reale M., de Angelis F., di Nicola M., Capello E., di Ioia M., Luca G., Lugaresi A., Tata A.M. Relation between Pro-inflammatory Cytokines and Acetylcholine Levels in Relapsing Remitting Multiple Sclerosis Patients. *Int. J. Mol. Sci.* 2012; 13 (10): 12656–12664.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Ветлугина Тамара Парфёновна, доктор биологических наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, руководитель отдела биологической психиатрии и наркологии НИИ психического здоровья

Адрес: 634014, Томск, ул. Алеутская, д. 4, тел.: +7 (3822) 72-44-15, e-mail: vetlug@mail.tomsknet.ru

Никитина Валентина Борисовна, доктор медицинских наук, заведующая лабораторией клинической психонейроиммунологии и нейробиологии НИИ психического здоровья

Адрес: 634014, Томск, ул. Алеутская, д. 4, тел.: +7 (3822) 72-44-15, e-mail: valentina08@sibmail.com

Сергеева Светлана Александровна, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории фармакологии открытого АО «Всероссийский научный центр по безопасности биологически активных веществ»

Адрес: Московская обл., Ногинский р-н, Старая Купавна, ул. Кирова, д. 23, тел.: +7 (496) 512-59-15,

e-mail: sa-sergeeva@inbox.ru

Аксенов Михаил Михайлович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделением пограничных состояний НИИ психического здоровья

Адрес: 634014, Томск, ул. Алеутская, д. 4, тел.: +7 (3822) 72-32-63, e-mail: max1957@sibmail.com

Лобачева Ольга Анатольевна, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории клинической психонейроиммунологии и нейробиологии НИИ психического здоровья

Адрес: 634014, Томск, ул. Алеутская, д. 4, тел.: +7 (3822) 72-44-15, e-mail: oalobacheva@sibmail.com

Савочкина Дарья Николаевна, кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории клинической психонейроиммунологии и нейробиологии НИИ психического здоровья

Адрес: 634014, Томск, ул. Алеутская, д. 4, тел.: +7 (3822) 72-44-15, e-mail: kokodasha@yandex.ru

Епанчинцева Елена Макаровна, кандидат медицинских наук, врач высшей квалификационной категории, заведующая первым психиатрическим отделением НИИ психического здоровья

Адрес: 634014, Томск, ул. Алеутская, д. 4, тел.: +7 (3822) 72-32-63, e-mail: klinika.stat@sibmail.com

Бохан Николай Александрович, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, заслуженный деятель науки РФ, директор НИИ психического здоровья

Адрес: 634014, Томск, ул. Алеутская, д. 4, тел.: +7 (3822) 72-43-79, e-mail: bna909@gmail.com

DOI: 10.15690/vramn.v70.i4.1415

А.В. Исаева^{1,2}, А.П. Зима^{1,6}, И.П. Шабалова³, Н.В. Рязанцева^{4,5}, О.А. Васильева¹, К.Т. Касоян³,
Т.В. Саприна¹, В.Н. Латыпова¹, И.С. Берёзкина¹, В.В. Новицкий¹

¹ Сибирский государственный медицинский университет, Томск, Российская Федерация

² Томский НИИ онкологии, Томск, Российская Федерация

³ Российская медицинская академия последиplomного образования, Москва, Российская Федерация

⁴ Сибирский федеральный университет, Красноярск, Российская Федерация

⁵ Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого,
Красноярск, Российская Федерация

⁶ Балтийский федеральный университет им. И. Канта, Калининград, Российская Федерация

β-Катенин: структура, функции и роль в опухолевой трансформации эпителиальных клеток

В обзоре представлены сведения о структуре и механизмах функционирования β-катенина, его роли в опухолевой трансформации при различных вариантах неоплазий. Первичная структура β-катенина позволяет ему взаимодействовать со многими факторами и лигандами, в т.ч. с факторами транскрипции, α-катенином, белком клеточной адгезии кадгерином, Axin, малыми ГТФазами семейства Rho, Bcl9 и др. Все это объясняет его внутриклеточную многофункциональность. Также приведены данные об участии β-катенина в механизмах адгезии, регуляции метаболизма РНК, формировании контактов с цитоскелетом, его роли как кофактора в каноническом Wnt-сигнальном пути; приведены примеры про- и противовоспалительных эффектов β-катенина. Участие β-катенина в опухолевой трансформации и прогрессии некоторых злокачественных опухолей в настоящее время не вызывает сомнений. Освещены современные представления об изменении экспрессии β-катенина при таких эпителиальных злокачественных опухолях, как рак толстой кишки, рак предстательной железы, различные варианты рака щитовидной железы, гепатоцеллюлярный рак, а также перспективах его использования как маркера и предиктора злокачественных опухолей. Продолжение исследований в данном направлении позволит не только использовать β-катенин как потенциальный предиктор злокачественных опухолей, но и разработать подходы к их таргетной терапии.

475

Ключевые слова: β-катенин, Wnt/β-катениновый сигнальный путь, опухолевая трансформация эпителиальных клеток.

(Для цитирования: Исаева А.В., Зима А.П., Шабалова И.П., Рязанцева Н.В., Васильева О.А., Касоян К.Т., Саприна Т.В., Латыпова В.Н., Берёзкина И.С., Новицкий В.В. β-Катенин: структура, функции и роль в опухолевой трансформации эпителиальных клеток. *Вестник РАМН*. 2015; 70 (4): 475–483. Doi: 10.15690/vramn.v70.i4.1415)

A.V. Isaeva^{1,2}, A.P. Zima^{1,6}, I.P. Shabalova³, N.V. Ryazantseva^{4,5}, O.A. Vasil'eva¹, K.T. Kasoayn³,
T.V. Saprina¹, V.N. Latypova¹, I.S. Berezkina¹, V.V. Novitskii¹

¹ Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

² Tomsk Cancer Research Institute, Tomsk, Russian Federation

³ Russian Medical Academy of Postgraduate Education Studies, Moscow, Russian Federation

⁴ Siberian Federal University, Krasnoyarsk, Russian Federation

⁵ Krasnoyarsk State Medical University, Krasnoyarsk, Russian Federation

⁶ Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russian Federation

β-Catenin: Structure, Function and Role in Malignant Transformation of Epithelial Cells

The article presents the data on the structure and mechanisms of β-catenin functioning. The basic aspects of the role of β-catenin in malignant transformation have been studied at various tumors. Primary structure of β-catenin allows it to interact with many factors and ligands, including transcription factors, α-catenin, cadherin, Axin, Rho family GTPases, Bcl9 et al. This interaction is the base for β-catenin's intracellular multi-functioning. The review presents data on the participation of β-catenin in the mechanisms of adhesion, regulation of RNA metabolism, formation contacts with the cytoskeleton and its role in the canonical Wnt signaling pathway, marked examples pro-inflammatory and anti-inflammatory effects of β-catenin. The β-catenin involvement in malignant transformation and progression of certain tumors is not in doubt. The data on the changes in β-catenin expression in the given examples of colon cancer, prostate cancer, different forms of thyroid cancer and hepatocellular carcinoma are presented with the prospects of its use as a marker and a predictor of malignant transformation. Continued research in this area will not only make use of β-catenin as a potential predictor of malignant tumors, but also to develop approaches to targeted therapy.

Key words: β-catenin, Wnt/β-catenin signaling, malignant transformation epithelial cells.

(For citation: Isaeva A.V., Zima A.P., Shabalova I.P., Ryazantseva N.V., Vasil'eva O.A., Kasoayn K.T., Saprina T.V., Latypova V.N., Berezkina I.S., Novitskii V.V. β-Catenin: Structure, Function and Role in Malignant Transformation of Epithelial Cells. *Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2015; 70 (4): 475–483. Doi: 10.15690/vramn.v70.i4.1415)

Введение

β -катенин относится к семейству молекул-катенинов. Впервые это семейство белков было обнаружено и выделено при изучении общих механизмов адгезии E-кадгерина (увоморулина) в 1989 г. [1], когда группа ученых под руководством R. Kemler определила 3 независимых белка, ассоциированных с цитоплазматическим доменом E-кадгерина. Относительно функции этих молекул была высказана гипотеза о том, что они обеспечивают связь E-кадгерина с цитоскелетом. Отсюда и их название — катенины (от лат. *catena* — цепь). В соответствии с молекулярной массой белков — 102, 88 и 80 кДа — им были даны обозначения α , β и γ -катенин (плакоглобин) [1].

Все катенины, за исключением структурно неродственного α -катенина, содержат центральную область, состоящую из Armadillo (Arm)-повторов (от 9 до 12), представляющих собой относительно консервативную последовательность аминокислот [2–4].

На основании гомологии первичной последовательности катенины позвоночных, содержащие Arm-домены, делят на 3 подсемейства: β -катенины (β -катенин, γ -катенин / плакоглобин), p120 (p120; Armadillo-Repeat gene deleted in Velo-Cardio-Facial syndrome, ARVCF; δ -катенин; p0071) и плакофилины 1 и 3. Такое подразделение катенинов позвоночных отражает их функциональные особенности [4, 5].

Следует отметить, что не все белки, содержащие Arm-повторы, способны связывать кадгерин. По определению они не относятся к катенинам; одним из примеров может служить белок α -импортин, который участвует в переносе сигнальных белков в ядро [4].

Все разнообразие катенинов образует сложную функциональную сеть [4]. Дисбаланс в работе катенинов является звеном патогенеза ряда заболеваний, включая врожденные пороки развития, онкологические заболевания, метаболические нарушения, когнитивные расстройства, остеопороз [6–8].

Структура β -катенина

β -катенин (781 аминокислотный остаток у человека) — один из членов белков суперсемейства Arm [2]. Его первичная структура состоит из NH_2 -терминального домена (NTD), центрального региона, представленного 12 Arm-повторами (R1–12), и COOH -терминального конца (CTD) (рис. 1) [9, 10].

Каждый Arm-повтор включает приблизительно 42 аминокислотных остатка, образующих 3 спирали. Все вместе Arm-повторы образуют суперспираль, формирующую длинную положительно заряженную канавку. В конце центрального региона (R12) расположена специфическая консервативная петля (спираль C), упакованная в CTD и домен Arm-повторов с формированием ядра суперспирали [11]. Вместе CTD и спираль C известны как домен трансактиваии, который связывается с множеством регуляторов транскрипции и регуляторами хроматина [9].

NTD и CTD могут быть структурно гибкими, в то время как центральная область образует относительно жесткий скаффолд (каркас), который служит платформой для связывания многих факторов, в т.ч. факторов транскрипции Tcf (T cell factor) и LEF (Lymphoid Enhancer Factor), α -катенина, белка клеточной адгезии кадгерина, APC (Adenomatous Polyposis Coli), Axin, BCL9

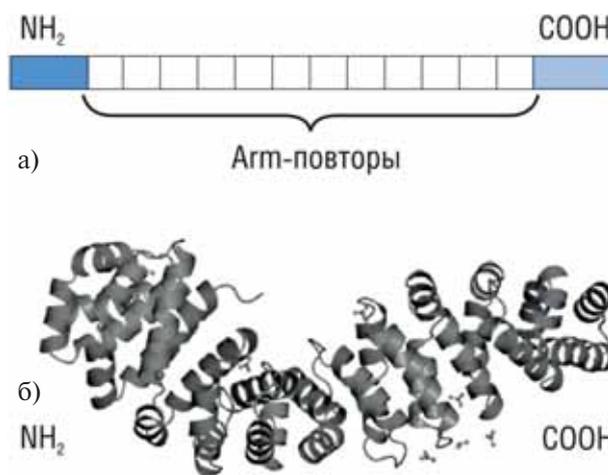


Рис. 1. Структура β -катенина.

Примечание. а — первичная структура β -катенина: центральный домен, состоящий из 12 Arm-повторов; б — ленточная структура β -катенина [<http://www.rcsb.org/pdb/explore.do?structureId=1qz7>].

и ICAT (Inhibitor of β -Catenin and Tcf4), малых ГТФаз семейства Rho и других [10, 11]. β -катенин взаимодействует со многими белками, участвующими в метаболизме РНК, такими как регуляторы сплайсинга РНК и некоторыми РНК-связывающими белками (RBP) в ядре. Это говорит о том, что β -катенин может регулировать метаболизм РНК, либо напрямую связываясь с РНК, либо косвенно через другие RBP [12]. На данный момент зарегистрировано более 38 молекул, взаимодействующих с β -катенином [13].

На основании структурных и термодинамических данных было высказано предположение, что NTD и CTD могут препятствовать неспецифическим белок-белковым взаимодействиям в области Arm-повторов, т.к. в этих трех регионах имеются различия в распределении заряда, и, кроме того, NTD и CTD являются кислыми, а центральный домен — основным. Таким образом, 2 концевых домена могут оградить Arm-повторы и выступить в качестве «внутримолекулярных шаперонов» центральной области [14].

Методами биохимического и спектрометрического анализа было показано, что сайты связывания для вышеречисленных агентов с β -катенином расположены в центральной области (R3–R9). Следовательно, данные молекулы не могут связываться с β -катенином одновременно [15]. Пространственное разделение различных β -катенин-связывающих факторов в клетке может быть важным для правильного функционирования этих белков.

Кроме того, конкуренция между партнерами β -катенина имеет важное значение для регулирования работы Wnt/ β -катенинового сигнального пути [16].

Функционирование β -катенина жестко регулируется путем различных посттрансляционных модификаций, включая фосфорилирование Ser/Thr и Tug, убиквитилирование и ацетилирование [11].

β -катенин выполняет многочисленные функции в клетке, в т.ч. участвует в механизмах межклеточной адгезии, клеточной подвижности и сигнальной трансдукции. Как кофактор сигнального пути Wnt, β -катенин задействован в процессах дифференцировки, апоптоза и пролиферации, а также сохранения пула стволовых клеток. Исследования его функционального потенциала активно продолжаются.

Функции β-катенина

Участие β-катенина в механизмах адгезии. Связь β-катенина с цитоскелетом

В ранних исследованиях приведены убедительные доказательства существования комплекса E-кадгерин / β-катенин / α-катенин [1]. Кадгерины обеспечивают Ca²⁺-зависимые гомофильные взаимодействия через их внеклеточные регионы. Классические кадгерины получили свое название от ткани, в которой они преимущественно экспрессируются. Так, E-кадгерин выполняет функцию первичного медиатора межклеточной адгезии в эпителиальных клетках и представляет собой трансмембранный гликопротеин (молекулярная масса 120 кДа) [17].

Молекула кадгерина имеет внеклеточную, трансмембранную и внутриклеточную область. Эктодомен (ЕС), состоящий из 5 повторяющихся Ca²⁺-связывающих субдоменов ЕС1–ЕС5, формирует взаимодействия между соседними клетками, при этом связывание с Ca²⁺ необходимо для правильной конформационной организации этого домена [18].

Внутриклеточный регион E-кадгерина связывает белки, которые регулируют эндоцитоз и деградацию E-кадгерина, внутриклеточную передачу сигнала и транскрипцию генов. Несмотря на сходство последовательностей, катенин p120 и β-катенин связываются с разными сайтами цитоплазматического домена E-кадгерина. p120-Катенин взаимодействует с проксимальной частью домена, участвуя в регуляции боковой кластеризации и стабилизации кадгеринов на мембране [19]. β-катенин, в отличие от этого, взаимодействует с дистальной частью цитоплазматического хвоста E-кадгерина и с α-катенином, который непосредственно связывается с нитчатым актином (F-актин) цитоскелета, а также с некоторыми актинсвязывающими белками. Структурное и функциональное взаимодействие кадгерина с β-катенином регулируется фосфорилированием Ser/Tre β-катенина [18, 20, 21].

В рамках комплекса E-кадгерин / β-катенин / α-катенин цитоплазматический домен связывается с центральной Arm-областью β-катенина, в то время как связь β- и α-катенина образуется между их N-терминальными доменами [18, 22, 23]. α-Катенин, имея эволюционно консервативную роль в организации цитоскелета, подавляет полимеризацию актина на комплексе Arp2/3, тем самым стабилизируя и связывая нити актина [18, 20]. E-кадгерин способен выполнять нормальную адгезивную функцию только в связанном с катенинами состоянии.

Кроме того, β-катенин косвенно, через его контакт с APC, формирует контакты с цитоскелетом. APC содержит Arm-повторы, которые взаимодействуют с различными регуляторами и эффекторами малых ГТФаз [3]. Малые ГТФазы Rho-семейства активно регулируют межклеточную адгезию путем перестройки актиновых структур в клетке [24]. Первые взаимосвязь эффектов β-катенина с деятельностью ГТФаз была продемонстрирована на клеточных линиях. Так, в линии клеток рака толстой кишки, в которой канонический путь Wnt конститутивно активирован, показано, что в случае доминантно-негативной мутации в гене *Rac* β-катенин / TCF транскрипция ингибируется, и напротив, при активации *Rac* транскрипция генов-мишеней β-катенина усиливается. Авторы предположили, что *Rac* усиливает накопление ядерного β-катенина [25]. Позже был предложен возможный механизм такого действия. X. Wu и соавт. [26] в экспериментах показали, что *Rac*-опосредованная активация

JNK (с-Jun N-концевые киназы) приводит к фосфорилированию β-катенина по Ser191 и Ser605 с последующим его ядерным накоплением.

Регуляцию работы актинового цитоскелета через малые ГТФазы также осуществляет катенин p120. Он ингибирует активность RhoA, активирует Rac и Cdc42. При этом связывание p120 с кадгерином и RhoA является взаимоисключающим, т.к. оба взаимодействия происходят в Arm-повторах p120. Активация Rac препятствует формированию связи p120 с микротрубочками цитоскелета [19].

Таким образом, нарушения кадгерин-катенинового комплекса и механизмов взаимодействия β-катенина с цитоскелетом являются факторами, способствующими инвазивному росту и метастазированию опухолей [27, 28].

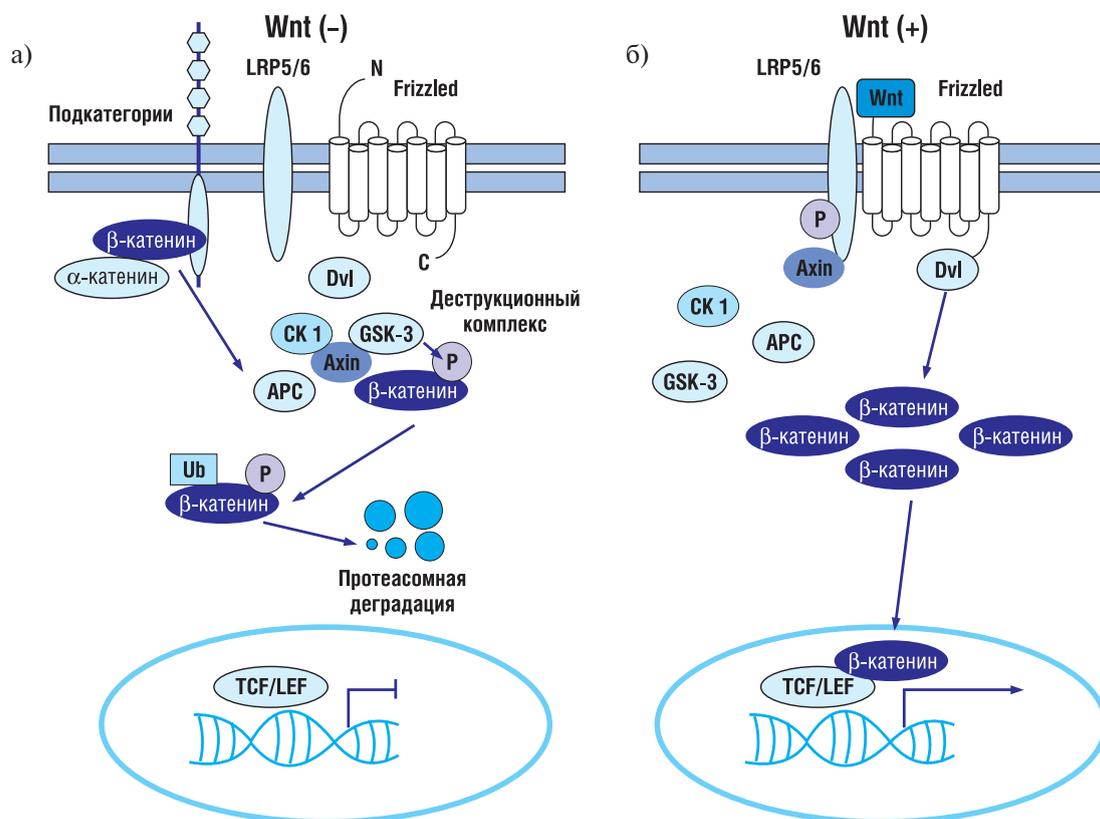
β-Катенин и его участие в сигнальной передаче

Гипотеза о сигнальном потенциале β-катенина была сформулирована при изучении его ортолога *Armadillo* у *Drosophila*. Мутация в гене *Armadillo* приводит к изменению сегментации эмбриона *Drosophila*. Последующий эпистатический анализ позволил установить, что функция сегментации белка *Armadillo* регулируется фактором Wingless (Wg) [29]. В 1982 г. R. Nusse и H.E. Varmus идентифицировали у млекопитающих протоонкоген *integration-1* (Int-1). Оказалось, что он гомологичен гену полярности сегментов Wg у дрозофилы бескрылой [30]. Это открытие стало ключевым шагом в характеристике Wnt/β-катенинового сигнального каскада у млекопитающих (или Wingless / *Armadillo* у *Drosophila*). Обозначение «Wnt» — слияние терминов «Wg» и «Int». В 1990-х гг. были обнаружены основные компоненты сигнализации Wnt, а дальнейшие эксперименты обозначили их функцию в сигнальном пути (рис. 2).

Wnt/β-катениновый сигнальный путь физиологически активируется молекулами Wnt, которые связываются с Frizzled (Fzd)-рецепторами на поверхности клетки [6].

Без активирующего влияния белков Wnt в клетке формируется цитозольный белковый комплекс (комплекс «деструкции», β-катениндеструкционный комплекс), включающий белок Axin, APC, CK1 (casein kinase 1) и GSK3b (glycogen synthase kinase-3 β) [6, 31, 32]. Центральным регулирующим шагом канонического Wnt-сигнального пути является фосфорилирование β-катенина компонентами комплекса деструкции: CK1 фосфорилирует Ser45, что запускает работу GSK-3b, а именно фосфорилирование Ser 33, Ser 37 и Tre 41 [32]. Этот процесс координирует белок Axin, имеющий отдельные домены для взаимодействия с GSK3β, CK1a и β-катенином [33]. Фосфорилированный β-катенин распознается β-TrCP-содержащей убиквитинлигазой, которая добавляет к Lys19 и Lys49 убиквитины и таким образом запускает деструкцию β-катенина в протеасомах [34, 35]. Благодаря этому в отсутствие Wnt-стимуляции цитоплазматическая концентрация β-катенина поддерживается на низком уровне.

В случае Wnt-стимуляции на клеточной поверхности образуется рецепторный комплекс между Fzd-рецепторами и LRP6 (Low density lipoprotein Receptor-related Protein-6). Сложный комплекс Fzd–LRP6 и связанный с ними протеин Dishevelled (Dvl), т.н. LRP6-сигнальный комплекс (сигналосома), восстанавливает белок Axin и тем самым ингибирует фосфорилирование β-катенина, вызывая его стабилизацию [32, 35, 36]. Механизм, посредством которого активация LRP6 приводит к стабилизации β-катенина, остается неясным [6]. Накопленный β-катенин мигрирует в ядро и вступает во взаимодействие с ДНК-связывающими белками се-



478

Рис. 2. Wnt/β-катениновый сигнальный путь.

Примечание. а — сигнальный путь без стимуляции белками Wnt; б — сигнальный путь после стимуляции белками Wnt (пояснение в тексте). LRP5/6 — рецептор липопротеина низкой плотности 5/6 (Low density lipoprotein receptor-related protein 5/6); Dvl — Dishevelled; CK1 — киназа 1 (casein kinase 1); GSK3β — киназа-3β гликогенсинтазы (glycogen synthase kinase-3β); APC — аденоматозный полипоз толстой кишки (Adenomatous Polyposis Coli); TCF — Т-клеточный фактор (T cell factor); LEF — белок, связывающийся с лимфоидным энхансером (Lymphoid Enhancer Factor); P — участки фосфорилирования; Ub — участки убиквитинирования.

мейства Tcf/LEF. Вместе они включают транскрипцию «канонических» (т.е. β-катенинзависимых) генов Wnt-ответа: *c-myc*, *CCND1*, *E2f1*, *Axin-2*, *vimentin*, *Snail* др. [11, 37]. Комплекс β-катенин / LEF / TCF взаимодействует с различными ядерными факторами, контролирующими специфические транскрипционные мишени. Примерами таких белков являются p300, CBP, Nrpt2, FOXO, Vcl9-2, reptin, Pontin, Grouchos, Prmt2, CtBP и др. Одним из результатов этого взаимодействия является реорганизация хроматина рядом с сайтом инициации транскрипции генов-мишеней [38].

Данные, опубликованные в последние годы, предполагают более сложную организацию комплексов β-катенин / TCF и β-катенин / APC / Axin, чем описанная линейная модель [39, 40].

Сигнальная передача, реализуемая белками семейства Wnt, поддерживает внутриклеточный гомеостаз, стабильный уровень β-катенина. Нарушение данной передачи является важным патогенетическим фактором при ряде заболеваний, в т.ч. онкологических [6, 36].

Про- и противовоспалительный эффект β-катенина как участника Wnt-сигнального пути

Провоспалительный эффект работы Wnt/β-катенинового сигнального пути был продемонстрирован на клеточной линии преадипоцитов мыши 3T3-L1. Под влиянием провоспалительных цитокинов интерлейкина (ИЛ) 6 и фактора некроза опухоли (ФНО) α происходит активация пути с повышением интенсивности экспрессии β-катенина, Dvl, LRP6 и снижением уровня экспрессии Axin [41].

Однако ряд исследователей указывают на противовоспалительные эффекты β-катенина [42]. Так, J. Sun и соавт. в своей работе показали, что β-катенин является антагонистом транскрипционного фактора NF-κB (nuclear factor κB). Данный фактор состоит из двух субъединиц (p50 и p65), в покоящихся клетках существует как комплекс с белком IκBα (inhibitory subunit from NF-κB). Как правило, NF-κB активируется такими воспалительными медиаторами, как ФНО α и ИЛ 1b посредством инактивации IκBα. Авторами было установлено, что в эпителиальных клетках толстой кишки бактериальный агент *Salmonella typhimurium* индуцирует экспрессию ИЛ 8, ФНО α и Wnt через активацию транскрипционного фактора NF-κB [43]. Помимо стимуляции NF-κB бактериальная инфекция в энтероцитах вызывает GSK3-зависимое фосфорилирование β-катенина с его последующей деградацией. Интересно, что β-катенин и ингибитор NF-κB, IκBα, имеют схожие особенности регуляции их активности, а именно фосфорилирование N-концевых остатков Ser с последующим убиквитинированием E3-лигазным комплексом и протеосомной деградацией [44]. Все эти данные свидетельствуют о том, что индукция NF-κB-провоспалительного пути сальмонеллами зависит от деградации β-катенина, предполагая, что β-катенин оказывает негативную регуляторную роль в воспалительной реакции [44].

С другой стороны, бактериальный белок *Salmonella* AvgA подавляет воспаление путем стабилизации β-катенина и IκBα. Стабилизированный β-катенин взаимодействует с субъединицей p50 NF-κB, уменьшая его транскрипционную активность [45]. Если активность

NF-κB имеет провоспалительный характер, то его ингибирование активным β-катенином представляет собой механизм, подавляющий воспаление [46].

Таким образом, β-катенин в контексте Wnt-сигнального пути участвует в контроле воспалительной реакции на бактериальную инфекцию. Противоречивость его эффектов может быть объяснена особенностями стимула, на который формируется воспалительный ответ, перекрестным взаимодействием с другими сигнальными путями, типом инфицированных клеток.

Роль β-катенина в опухолевой трансформации

Согласно современным данным, мутации, приводящие к аномальному взаимодействию β-катенина с комплексом деструкции, играют ключевую роль в развитии различных опухолей [47]. Ряд исследований показали, что β-катенин является ключевым модулятором пролиферации и выживания опухолевых клеток [15, 48]. Также было обнаружено, что данный белок способен поддерживать рост опухоли путем стимуляции ангиогенеза за счет участия в регуляции экспрессии эндотелиального фактора роста сосудов (VEGF) [49, 50]. β-Катенин участвует в механизмах метастазирования опухолей, усиливая способность клеток к миграции и инвазии. В частности, он регулирует экспрессию генов матриксных металлопротеиназ (*MMP2*, *MMP7*, *MMP9*, *MMP26*), продукты которых играют роль в ремоделировании тканей, ангиогенезе, пролиферации, миграции и дифференцировке клеток, апоптозе [51]. Кроме того, изменяя экспрессию генов-мишеней в фибробластах, макрофагах, мезенхимальных стволовых клетках, эндотелиальных клетках, β-катенин влияет на опухолевое микроокружение, что имеет прямое значение для роста и прогрессии злокачественной опухоли [52, 53].

Нарушения сигнальной и адгезивной функции β-катенина выявлены при колоректальном раке, гепатоцеллюлярном раке, раке предстательной железы, раке щитовидной железы и некоторых других вариантах неоплазий [32, 47, 48].

Рак толстой кишки

В многочисленных исследованиях показано, что нормальное функционирование Wnt/β-катенининовой сигнализации имеет большое значение для поддержания равновесия между стволовыми, делящимися и дифференцирующимися клетками кишечного эпителия [54–56]. Нарушение этого баланса в быстро и постоянно регенерирующей ткани может лежать в основе развития злокачественной опухоли [57, 58].

Первоначально при семейном аденоматозе и раке толстой кишки была выявлена мутация в гене *APC*. Это был первый компонент Wnt-пути, причастность которого к развитию рака у человека была доказана [59].

Как было отмечено ранее, активность β-катенина контролируется опухолевым супрессором *APC*. Выявленная сверхэкспрессия β-катенина первоначально объяснялась нарушением регуляции его фосфорилирования в результате инактивирующей мутации в гене *APC*. Действительно, повторное введение дикого типа *APC* в клеточную культуру с повышенной экспрессией β-катенина приводило к снижению аномально высокой активности последнего [60]. Эта активность была опосредована через транскрипционный фактор TCF.

Однако в редких клеточных линиях рака толстой кишки также определялась повышенная активность

комплекса β-катенин / TCF без мутации *APC* [48, 60]. Секвенирование гена β-катенина *CTNNB1* в двух APC-положительных TCF / β-катенин активированных клеточных линиях рака толстой кишки позволило установить следующие мутации в GSK3b-связывающем сайте β-катенина: делеция Ser45 в линии HCT116 и замена Ser33 на Thr в линии SW48. Оба изменения происходят в мишенях фосфорилирования GSK3b, которые имеют значение для стабильности β-катенина. Таким образом, мутации в гене нарушают дальнейшее убиквитинирование белка и его деградацию в протеасомах и приводят к накоплению β-катенина в цитоплазме, а также в ядре клетки [47].

При раке толстой кишки наблюдается накопление цитоплазматического пула β-катенина в результате не только инактивирующей мутации в *APC*, но и собственно мутаций в гене β-катенина. Кроме того, в исследованиях последних лет установили, что активация Wnt/β-катенинового сигнального пути связана также с инактивацией малых ГТФаз RhoA-семейства, что соотносится с прогрессией колоректального рака [61].

Современные данные указывают на повышение интенсивности экспрессии β-катенина не только в опухолевых клетках толстой кишки, но и в инфильтрирующей ткань T-регуляторных клетках. При этом активация β-катенина нарушает их нормальное развитие и функцию [62]. Последующие результаты, полученные в экспериментах на мышах, свидетельствуют о том, что активации β-катенина только в T-регуляторных клетках достаточно для запуска воспаления и опухолевой трансформации клеток эпителия толстой кишки [63].

Таким образом, экспериментальные работы еще раз указывают на разностороннюю роль β-катенина в механизмах опухолевой трансформации. Исследования в этом направлении продолжаются.

Рак предстательной железы

В норме β-катенин принимает участие в эмбриональном и постнатальном этапе развития предстательной железы, в т.ч. в пролиферации эпителиальных предшественников ткани железы. В рамках канонического Wnt-сигнального пути β-катенин контролирует самообновление клеток-предшественниц эпителия предстательной железы взрослого человека, а также в клеточных линиях [57, 64]. В экспериментах показано, что избыточная экспрессия β-катенина приводит к дифференцировке клеток эпителия даже в условиях отсутствия андрогенов [65].

Мутации в гене β-катенина *CTNNB1* при раке предстательной железы встречаются редко (в 5% случаев) [66, 67]. Они затрагивают сайты фосфорилирования β-катенина (аналогично мутациям, наблюдаемым при раке толстой кишки). Особенности установлены в группе пациентов с метастазами в костную ткань кастратрезистентного рака предстательной железы. У данной группы больных в 37% случаев определяется преимущественно ядерная локализация β-катенина в метастатических очагах [68].

Данные современных исследований указывают на участие β-катенина в регулировании процесса аутофагии при раке предстательной железы [69]. Аутофагия — это процесс клеточного рециклинга, в результате которого происходит деградация поврежденных или лишних внутриклеточных компонентов. Тем самым обеспечивается альтернативный источник энергии в периоды метаболического стресса клетки. Аутофагия играет двойную роль в онкогенезе: с одной стороны, может предотвратить инициацию опухоли, подавляя хроническое повреждение тканей, воспаление и нестабильность генома с помощью функции контроля качества, с другой — способна под-

держивать метаболизм опухоли, рост и выживание через рециркуляцию питательных веществ [70].

R. Lin и соавт., используя клеточные линии рака предстательной железы человека DU145 и PC3, установили, что аутофагия, вызванная рапамицином, блокируется ингибитором аутофагии оксидом азота (NO) и сопровождается ядерным накоплением β -катенина. Таким образом, β -катенин участвует в реализации эффекта ингибитора аутофагии NO в клетках рака предстательной железы [69]. Однако молекулярные механизмы такого эффекта пока неясны.

В дополнение к своей роли в Wnt-сигнальном пути β -катенин выступает в качестве кофактора рецепторов андрогенов. При взаимодействии между рецепторами андрогенов и β -катенином происходит стимуляция опосредованной андрогенами транскрипции генов-мишеней [66]. В клеточных линиях рака предстательной железы β -катенин усиливает андрогенстимулированную активацию транскрипции рецепторов андрогенов, повышает их чувствительность к низкому уровню андрогенов [71]. Возможно, определение соотношения β -катенин / рецепторы андрогенов поможет в дальнейшем идентифицировать пациентов с раком предстательной железы с неблагоприятным прогнозом, требующих индивидуального терапевтического подхода.

480

Рак щитовидной железы

Рак щитовидной железы, развивающийся из фолликулярного эпителия (около 95% всех опухолей щитовидной железы), классифицируют на высокодифференцированный, включающий папиллярный (80%), и фолликулярный (10–15%) типы, а также на низко (плохо) дифференцированный и анапластический (1–2%) [72]. Отдельную группу составляет медуллярный рак, представленный парафолликулярными клетками или C-клетками щитовидной железы, продуцирующими кальцитонин.

Накопленные данные указывают на то, что опухолевые клетки щитовидной железы проходят многоступенчатый процесс прогрессии: от хорошо поддающегося лечению высокодифференцированного до часто фатального недифференцированного или анапластического рака [73].

β -Катенин как ключевой компонент Wnt-сигнального пути принимает участие в пролиферации нормальных и опухолевых тиреоцитов [74].

Точечные мутации в экзоне 3 β -катенина были зарегистрированы в 25% случаев плохо дифференцированного рака и 66% — анапластического, но не были обнаружены при высокодифференцированном раке щитовидной железы [75]. В целом, для злокачественных опухолей щитовидной железы характерно снижение интенсивности экспрессии β -катенина на мембране клетки. Кроме того, ряд исследователей указывает на прямую корреляцию между снижением мембранного содержания β -катенина и стадией опухолевого процесса, включая наличие отдаленных метастазов [75, 76].

Анапластический рак щитовидной железы имеет самую высокую частоту мутаций в кодирующей области гена β -катенина. При этом часто обнаруживают сочетания мутаций в различных регионах этого гена, что, возможно, отражает генетическую нестабильность в этом варианте рака щитовидной железы [77].

Результаты анализа экспрессии β -катенина в ткани высокодифференцированных форм рака щитовидной железы длительное время были неоднозначными. В проведенном нами исследовании [неопубликованные данные] методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени в жидкостных образцах пунктатов ткани

щитовидной железы были установлены статистически значимые различия экспрессии гена β -катенина *CTNNB1* в зависимости от нозологической формы узловой патологии щитовидной железы. Снижение уровня экспрессии β -катенина в жидкостных образцах ткани щитовидной железы обнаруживали у пациентов с коллоидным зобом по отношению к аналогичному показателю у пациентов с иной патологией (фолликулярная аденома, папиллярный рак, аутоиммунный тиреоидит). Уровень экспрессии мРНК *CTNNB1* статистически не различался у пациентов с фолликулярной аденомой, папиллярным раком. Наиболее выраженная экспрессия β -катенина определялась у пациентов с аутоиммунной патологией щитовидной железы.

Таким образом, в случаях папиллярного рака, фолликулярной аденомы щитовидной железы экспрессия мРНК *CTNNB1* уменьшается по сравнению с образцами, полученными из участка коллоидного зоба и аутоиммунного тиреоидита.

Проведение сравнительного анализа преимущественной локализации маркера в клетке методом иммуноцитохимии позволит охарактеризовать дальнейшую функциональную судьбу β -катенина в клетке при различных нозологиях. Так, статистически незначимые различия экспрессии гена *CTNNB1* у пациентов с фолликулярной аденомой и папиллярным раком позволяют выдвинуть предположение о различных путях функциональной активности β -катенина в клетке, что зависит от состояния компонентов деструкционного комплекса Wnt/ β -катенинового сигнального пути.

Таким образом, ядерная локализация и мутации в гене β -катенина *CTNNB1* могут служить фактором неблагоприятного прогноза и быстрой опухолевой прогрессии. Однако молекулярные механизмы, которые приводят к цитоплазматической стабилизации β -катенина, пока не установлены.

Гепатоцеллюлярный рак

Развитие и прогрессирование гепатоцеллюлярного рака сопровождается такими молекулярными изменениями, как потеря опухолевых супрессоров (*p53*, *Rb*, *p16^{INK4A}*, *p14^{ARF}*), активация онкобелков (*c-myc*, *c-Met*), активация и секреция трансформирующего фактора роста β [78].

Белок β -катенин имеет большое значение для нормального развития печени, начиная с его ключевой роли в механизмах гастрюляции, ранних этапах дифференцировки клеток, контроле спецификации энтодермы передней кишки, печеночной спецификации клеток передней кишки, регуляции пролиферации гепатобластов и их дифференцировки, до контроля экспрессии генов метаболизма в постнатальном периоде, активации факультативных стволовых клеток и поддержания гомеостаза [79].

В 33–67% случаев гепатоцеллюлярного рака определяется ядерное накопление β -катенина [80]. В среднем у 1/3 пациентов обнаружены мутации в гене *CTNNB1*, который кодирует белок β -катенин. Мутации расположены главным образом в экзоне 3, в остатках Ser/Thr [81]. Существуют и другие механизмы, приводящие к ядерному накоплению β -катенина и активации транскрипции его генов-мишеней. Так, секреция Frizzled 7 способствует активации канонического Wnt-сигнального пути и, как следствие, накоплению главного кофактора пути β -катенина [80]. Исследование, выполненное на коллекции образцов гепатоцеллюлярного рака человека, позволило установить связь между ядерным накоплением β -катенина с дедифференцировкой гепатоцитов, повышенной их способностью к инвазии и более ранних рецидивов после ор-

тотопической трансплантации печени. Анализ экспрессии β-катенина в циркулирующих стволовых опухолевых клетках гепатоцеллюлярного рака, которые впоследствии могут стать субстратом рецидива после трансплантации печени, указывает также на его ядерное накопление [82].

Аберрантная ядерная экспрессия β-катенина коррелирует со степенью распространенности опухоли и неблагоприятным прогнозом развития гепатоцеллюлярного рака у пациентов.

Заключение

С момента открытия β-катенина учеными была проделана масштабная работа по описанию структуры и раскрытию механизмов функционирования данного белка. В настоящее время участие β-катенина в опухолевой трансформации и прогрессии некоторых злокачественных опухолей не вызывает сомнений, однако остается открытым

вопрос о механизмах последствий нарушения адгезивной и сигнальной функции β-катенина. Продолжение исследований в данном направлении позволит не только использовать β-катенин как потенциальный предиктор злокачественных опухолей, но и разработать подходы к их таргетной терапии.

Источник финансирования

Финансовая поддержка исследования обеспечена Советом по грантам при Президенте РФ (договор № 14.120.14.4184-НШ).

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ЛИТЕРАТУРА

- Ozawa M., Baribault H., Kemler R. The cytoplasmic domain of the cell adhesion molecule uvomorulin associates with three independent proteins structurally related in different species. *EMBO J.* 1989; 8: 1711–1717.
- Maiden S.L., Hardin J. The secret life of β-catenin: Moonlighting in morphogenesis. *J. Cell Biol.* 2010; 195 (4): 543–552.
- Tewari R., Bailes E., Bunting K.A., Coates J.C. Armadillo-repeat protein functions: questions for little creatures. *Trends Cell Biol.* 2010; 20: 470–481.
- McCrea P.D., Gu D. The catenin family at a glance. *J. Cell Sci.* 2010; 123: 637–642.
- Hatzfeld M. Multifunctional proteins or just regulators of desmosomal adhesion? *Biochim. Biophys. Acta.* 2007; 1773: 69–77.
- Clevers H., Nusse R. Wnt/b-Catenin Signaling and Disease. *Cell.* 2012; 149: 1192–1205.
- Kubota T., Michigami T., Ozono K. Wnt signaling in bone metabolism. *J Bone Miner Metab.* 2009; 27: 265–271.
- Tucci V., Kleefstra T., Hardy A., Heise I., Maggi S., Willemsen M.H., Hilton H., Esapa C., Simon M., Buenavista M-T., McGuffin L.J., Vizer L., Doderio L., Tsaftaris S., Romero R., Nillesen W.N., Vissers L.E.L.M., Kempers M.J., Vulto-van Silfhout A.T., Iqbal Z., Orlando M., Maccione A., Lassi G., Farisello P., Contestabile A., Tinarelli F., Nieuw T., Raimondi A., Greco B., Cantatore D., Gasparini L., Berdondini L., Bifone A., Gozzi A., Wells S., Nolan P.M. Dominant β-catenin mutations cause intellectual disability with recognizable syndromic features. *J Clin Invest.* 2014; 124(4): 1468–1482.
- Huber A.H., Nelson W.J., Weis W.I. Three-dimensional structure of the armadillo repeat region of beta-catenin. *Cell.* 1997; 90: 871–882.
- Huber A.H., Weis W.I. The structure of the b-catenin/E-cadherin complex and the molecular basis of diverse ligand recognition by b-catenin. *Cell.* 2001; 105: 391–402.
- Xu W., Kimelman D. Mechanistic insights from structural studies of β-catenin and its binding partners. *J. Cell Sci.* 2007; 120: 3337–3344.
- Hur J., Jeong S. Multitasking β-catenin: from adhesion and transcription to RNA regulation. *Animal Cells Syst.* 2013; 17 (5): 299–305.
- URL: http://www.stanford.edu/group/nusselab/cgi-bin/wnt/protein_interactions (Available: 20.03.2015).
- Xing Y., Takemaru K.I., Liu J., Berndt J.D., Zheng J., Moon R.T., Xu W. Crystal Structure of a Full-Length β-Catenin. *Structure.* 2008; 16: 478–487.
- Valenta T., Hausmann G., Basler K. The many faces and functions of b-catenin. *EMBO J.* 2012; 31: 2714–2736.
- Choi H.J., Huber A.H., Weis W.I. Thermodynamics of β-catenin-ligand interactions: the roles of the N- and C-terminal tails in modulating binding affinity. *J. Biol. Chem.* 2006; 281: 1027–1038.
- Shapiro L., Weis W.I. Structure and biochemistry of cadherins and catenins. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2009; 1: 003053.
- Hartsock A., Nelson W.J. Adherens and tight junctions: Structure, function and connections to the actin cytoskeleton. *Biochim. Biophys. Acta.* 2008; 1778: 660–669.
- Franz C.M., Ridley A.J. p120 catenin associates with microtubules: inverse relationship between microtubule binding and Rho GTPase regulation. *J. Biol. Chem.* 2004; 279: 6588–6594.
- Perez-Moreno M., Fuchs E. Catenins: Keeping Cells from Getting Their Signals Crossed. *Dev. Cell.* 2006; 11: 601–612.
- Nelson W.J., Nusse R. Convergence of Wnt, β-Catenin, and Cadherin Pathways. *Science.* 2004; 305: 1483–1487.
- Berx G., van Roy F. The cell-cell adhesion molecule E-cadherin. *Cell. Mol. Life Sci.* 2008; 65: 3756–3788.
- Gates J., Peifer M. Can 1000 reviews be wrong? Actin, alpha-Catenin, and adherens junctions. *Cell.* 2005; 123: 769–772.
- Citi S., Guerrero D., Spadaro D., Shah J. Epithelial junctions and Rho family GTPases: the zonular signalosome. *Small GTPases.* 2014; 5 (4): 1–15.
- Esfali S., Bapat B. Cross-talk between Rac1 GTPase and dysregulated Wnt signaling pathway leads to cellular redistribution of bold italic beta-catenin and TCF/LEF-mediated transcriptional activation. *Oncogene.* 2004; 23: 8260–8271.
- Wu X., Tu X., Joeng K.S., Hilton M.J., Williams D.A., Long F. Rac1 activation controls nuclear localization of beta-catenin during canonical Wnt signaling. *Cell.* 2008; 133: 340–353.
- Ramis-Conde I., Drasdo D., Anderson A.R., Chaplain M.A. Modeling the influence of the E-cadherin-beta-catenin pathway in cancer cell invasion: a multiscale approach. *Biophys. J.* 2008; 95 (1): 155–165.
- Order T.T., Gupta P.B., Mani S.A., Yang J., Lander E.S., Weinberg R.A. Loss of E-cadherin Promotes metastasis via Multiple Downstream Transcriptional pathways. *Cancer Res.* 2008; 68 (10): 3645–3653.
- Riggleman B., Sched P., Wieschaus E. Spatial expression of the Drosophila segment polarity gene armadillo is posttranscriptionally regulated by wingless. *Cell.* 1990; 63: 549–560.

30. Nusse R., Varmus H.E. Many tumors induced by the mouse mammary tumors virus contain a provirus integrated in the same region of the host genome. *Cell*. 1982; 31: 99–109.
31. Zeller E., Hammer K., Kirschnick M., Braeuning A. Mechanisms of RAS/ β -catenin interactions. *Arch Toxicol*. 2013; 87: 611–632.
32. Kimelman D., Xu W. β -Catenin destruction complex: insights and questions from a structural perspective. *Oncogene*. 2006; 25: 7482–7491.
33. Amit S., Hatzubai A., Birman Y., Andersen J.S., Ben-Shushan E., Mann M., Ben-Neriah Y., Alkalay I. Axin-mediated CKI phosphorylation of β -catenin at Ser 45: a molecular switch for the Wnt pathway. *Genes Dev*. 2002; 16 (9): 1066–1076.
34. Kikuchi A., Kishida S., Yamamoto H. Regulation of Wnt signaling by protein-protein interaction and posttranslational modifications. *Exp. Mol. Med*. 2006; 38: 1–10.
35. Liu C., Li Y., Semenov M., Han C., Baeg G.H., Tan Y., Zhang Z., Lin X., He X. Control of β -catenin phosphorylation/degradation by a dual-kinase mechanism. *Cell*. 2002; 108: 837–847.
36. Hur J., Jeong S. Multitasking β -catenin: from adhesion and transcription to RNA regulation. *Animal Cells and Systems. Animal Cells Syst*. 2013; 17 (5): 299–305.
37. Graham T.A., Weaver C., Mao F., Kimelman D., Xu W. Crystal structure of a β -catenin/Tcf complex. *Cell*. 2000; 103: 885–896.
38. Mosimann C., Hausmann G., Basler K. β -catenin hits chromatin: regulation of Wnt target gene activation. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol*. 2009; 10: 276–286.
39. Gerlach J.P., Emmink B.L., Nojima H., Kranenburg O., Maurice M.M. Wnt signalling induces accumulation of phosphorylated β -catenin in two distinct cytosolic complexes. *Open Biol*. 2014; 4: 140120.
40. Hagemann A.I.H., Kurz J., Kauffeld S., Chen Q., Reeves P.M., Weber S., Schindler S., Davidson G., Kirchhausen T., Scholpp S. In vivo analysis of formation and endocytosis of the Wnt/ β -Catenin signaling complex in zebrafish embryos. *J. Cell Sci*. 2014; 127: 3970–3982.
41. Gustafson B., Smith U. Cytokines Promote Wnt Signaling and Inflammation and Impair the Normal Differentiation and Lipid Accumulation in 3T3-L1 Preadipocytes. *J Biol. Chem*. 2006; 281 (14): 9507–9516.
42. Liu X., Lu R., Wu S., Sun J. Salmonella regulation of intestinal stem cells through the Wnt/ β -catenin pathway. *FEBS Lett*. 2010; 584 (5): 911–916.
43. Sun J., Hobert M.E., Duan Y., Rao A.S., He T.C., Chang E.B., Madara J.L. Crosstalk between NF- κ B and β -catenin pathways in bacterial-colonized intestinal epithelial cells. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol*. 2005; 289 (1): 129–137.
44. Duan Y., Liao A.P., Kuppreddi S., Ye Z., Ciancio M. J., Sun J. β -catenin activity negatively regulates bacteria-induced inflammation. *Lab. Invest*. 2007; 87 (6): 613–624.
45. Liu X., Lu R., Wu S., Zhang Y.G., Xia Y., Sartor R.B., Sun J. Wnt2 inhibits enteric bacterial-induced inflammation in intestinal epithelial cells. *Inflamm. Bowel Dis*. 2012; 18 (3): 418–429.
46. Silva-García O., Valdez-Alarcón J.J., Baizabal-Aguirre V.M. The Wnt/ β -catenin signaling pathway controls the inflammatory response in infections caused by pathogenic bacteria. *Mediators Inflamm*. 2014; ID 310183. Doi:10.1155/2014/310183.
47. Polakis P. Wnt signaling and cancer. *Genes Dev*. 2000; 14: 1837–1851.
48. Morin P.J. β -catenin signaling and cancer. *BioEssays*. 1999; 21: 1021–1030.
49. Easwaran V., Lee S.H., Inge L., Guo L., Goldbeck C., Garrett E., Wiesmann M., García P.D., Fuller J.H., Chan V., Randazzo F., Gundel R., Warren R.S., Escobedo J., Aukerman S.L., Taylor R.N., Fantl W.J. β -Catenin regulates vascular endothelial growth factor expression in colon cancer. *Cancer Res*. 2003; 63 (12): 3145–3153.
50. Shivanna S., Harrold I., Shashar M., Meyer R., Kiang C., Francis J., Zhao Q., Feng H., Edelman E.R., Rahimi N., Chitalia V.C. The c-Cbl ubiquitin ligase regulates nuclear β -catenin and angiogenesis by its tyrosine phosphorylation mediated through the Wnt signaling pathway. *J Biol Chem*. 2015. Doi: 10.1074/jbc.M114.616623.
51. Said A.H., Raufman J-P., Xie G. The role of matrix metalloproteinases in colorectal cancer. *Cancers*. 2014; 6 (1): 366–375.
52. Friedl P., Alexander S. Cancer invasion and the microenvironment: plasticity and reciprocity. *Cell*. 2011; 147 (5): 992–1009.
53. Vermeulen L., De Sousa E., Melo F., van der Heijden M., Cameron K., de Jong J.H., Borovski T., Tuynman J.B., Todaro M., Merz C., Rodermond H., Sprick M.R., Kemper K., Richel D.J., Stassi G., Medema J.P. Wnt activity defines colon cancer stem cells and is regulated by the microenvironment. *Nat Cell Biol*. 2010; 12 (5): 468–476.
54. Roy S., Majumdar A.P.N. Signaling in colon cancer stem cells. *J. Molecular Signaling*. 2012; 7: 11.
55. Scoville D.H., Sato T., He X.C., Li L. Current view: intestinal stem cells and signaling. *Gastroenterology*. 2008; 134: 849–864.
56. Vermeulen L., De Sousa E Melo F., van der Heijden M., Cameron K., de Jong J.H., Borovski T., Tuynman J.B., Todaro M., Merz C., Rodermond H., Sprick M.R., Kemper K., Richel D.J., Stassi G., Medema J.P. Wnt activity defines colon cancer stem cells and is regulated by the microenvironment. *Nat Cell Biol*. 2010; 12 (5): 468–476.
57. Valkenburg K.C., Graveel C.R., Zylstra-Diegel C.R., Zhong Z., Williams B.O. Wnt/ β -catenin Signaling in Normal and Cancer Stem Cells. *Cancers*. 2011; 3: 2050–2079.
58. Lien W-H., Fuchs E. Wnt some lose some: transcriptional governance of stem cells by Wnt/ β -catenin signaling. *Genes & Dev*. 2014; 28: 1517–1532.
59. Nishisho I., Nakamura Y., Miyoshi Y., Miki Y., Ando H., Horii A., Koyama K., Utsunomiya J., Baba S., Hedge P., Markham A., Krush A.J., Petersen G., Hamilton S.R., Nilbert M.C., Levy D.B., Bryan T.M., Preisinger A.C., Smith K.J., Su L-K., Kinzler K.W., Vogelstein B. Mutations of chromosome 5q21 gene in FAP and colorectal cancer patients. *Science*. 1991; 253: 665–669.
60. Morin P.J., Sparks A.B., Korinek V., Barker N., Clevers H., Vogelstein B., Kinzler K.W. Activation of β -catenin-Tcf signaling in colon cancer by mutations in β -catenin or APC. *Science*. 1997; 275: 1787–1790.
61. Rodrigues P., Macaya I., Bazzocco S., Mazzolini R., Andretta E., Dopeso H., Mateo-Lozano S., Bilić J., Cartón-García F., Nieto R., Suárez-López L., Afonso E., Landolfi S., Hernandez-Losa J., Kobayashi K., Ramón y Cajal S., Tabernero J., Tebbutt N.C., Mariadason J.C., Schwartz S., Arango D. RHOA inactivation enhances Wnt signalling and promotes colorectal cancer. *Nat. Commun*. 2014; 5: 5458.
62. van Loosdregt J., Fleskens V., Tiemessen M.M., Mokry M., van Boxtel R., Meeding J., Pals C.E., Kurek D., Baert M.R., Delemarre E.M., Gröne A., Koerkamp M.J., Sijts A.J., Nieuwenhuis E.E., Maurice M.M., van Es J.H., Ten Berge D., Holstege F.C., Staal F.J., Zaiss D.M., Prakken B.J., Coffey P.J. Canonical Wnt signaling negatively modulates regulatory T cell function. *Immunity*. 2013; 39: 298–310.
63. Keerthivasan S., Aghajani K., Dose M., Molinero L., Khan M.W., Venkateswaran V., Weber C., Emmanuel A.O., Sun T., Bentrem D.J., Mulcahy M., Keshavarzian A., Ramos E.M., Blatner N., Khazaie K., Gounari F. β -Catenin promotes colitis and colon cancer through imprinting of proinflammatory properties in T cells. *Sci. Transl. Med*. 2014; 26: 225–228.
64. Bisson I., Prowse D.M. WNT signaling regulates self-renewal and differentiation of prostate cancer cells with stem cell characteristics. *Cell Res*. 2009; 19: 683–697.

65. Francis J.C., Thomsen M.K., Taketo M.M., Swain A. β -catenin is required for prostate development and cooperates with Pten loss to drive invasive carcinoma. *PLoS. Genet.* 2013; 9 (1): 1003180.
66. Voeller H.J., Truica C.I., Gelmann E.P. Beta-catenin mutations in human prostate cancer. *Cancer Res.* 1998; 58: 2520–2523.
67. Chesire D.R., Isaacs W.B. β -Catenin signaling in prostate cancer: an early perspective. *Endocr. Relat. Cancer.* 2003; 10: 537–560.
68. Wan X., Liu J., Lu J.-F., Tzelepi V., Yang J., Starbuck M.W., Diao L., Wang J., Efstathiou E., Vazquez E.S., Troncoso P., Maity S.N., Navone N.M. Activation of β -Catenin Signaling in Androgen Receptor-Negative Prostate Cancer Cells. *Clin. Cancer Res.* 2012; 18: 726–736.
69. Lin R., Feng J., Dong S., Pan R., Zhuang H., Ding Z. Regulation of autophagy of prostate cancer cells by β -catenin signaling. *Cell Physiol Biochem.* 2015; 35 (3): 926–932.
70. Guo J.Y., Xia B., White E. Autophagy-mediated tumor promotion. *Cell.* 2013; 155 (6): 1216–1219.
71. Lee E., Madar A., David G., Garabedian M.J., Dasgupta R., Logan S.K. Inhibition of androgen receptor and β -catenin activity in prostate cancer. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2013; 110 (39): 15710–15715.
72. Welker M.J.O., Orlov D.M.S. Thyroid Nodules. *Am Fam Physician.* 2003; 67 (3): 559–566.
73. Kepal N., Patel M.D., Singh B. Genetic Considerations in Thyroid Cancer. *Cancer Control.* 2006; 13 (2): 111–118.
74. Rao A.S., Kremenevskaja N., Resch J., Brabant G. Lithium stimulates proliferation in cultured thyrocytes by activating Wnt/ β -catenin signalling. *Eur. J. Endocrinol.* 2005; 153: 929–938.
75. Garcia-Rostan G., Camp R.L., Herrero A., Carcangiu M.L., Rimm D.L., Tallini G. Beta-catenin dysregulation in thyroid neoplasms: down-regulation, aberrant nuclear expression, and CTNNB1 exon 3 mutations are markers for aggressive tumor phenotypes and poor prognosis. *Am. J. Pathol.* 2001; 158: 987–996.
76. Ishigaki K., Namba H., Nakashima M., Nakayama T., Mitsutake N., Hayashi T., Maeda S., Ichinose M., Kanematsu T., Yamashita S. Aberrant localization of beta-catenin correlates with overexpression of its target gene in human papillary thyroid cancer. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2002; 87 (7): 3433–3440.
77. Sastre-Perona A., Santisteban P. Role of the Wnt pathway in thyroid cancer. *Front. Endocrinol.* 2012; 3: 31.
78. Liu M., Jiang L., Guan X.Y. The genetic and epigenetic alterations in human hepatocellular carcinoma: a recent update. *J. Protein Cell.* 2014; 5 (9): 673–691.
79. Lade A.G., Monga S.P.S. Beta-catenin signaling in hepatic development and progenitors: which way does the WNT blow? *Dev. Dyn.* 2011; 240 (3): 486–500.
80. Lee H.C., Kim M., Wands J.R. Wnt/Frizzled signaling in hepatocellular carcinoma. *Front. Biosci.* 2006; 11: 1901–1915.
81. Ma L., Wei W., Chua M.-S., So S. Tankyrase inhibitors attenuate WNT/ β -catenin signaling and inhibit growth of hepatocellular carcinoma cells. *Gastrointest. Cancer.* 2014; 4: 49–63.
82. Zulehner G., Mikula M., Schneller D., van Zijl F., Huber H., Sieghart W., Grasl-Kraupp B., Waldhör T., Peck-Radosavljevic M., Beug H., Mikulits W. Nuclear beta-catenin induces an early liver progenitor phenotype in hepatocellular carcinoma and promotes tumor recurrence. *Am. J. Pathol.* 2010; 176: 472–481.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Исаева Анна Владимировна, аспирант кафедры патофизиологии СибГМУ, младший научный сотрудник отделения патологической анатомии и цитологии Томского НИИ онкологии

Адрес: 634028, Томск, ул. Учебная, д. 5-17, e-mail: seneann@mail.ru

Зима Анастасия Павловна, доктор медицинских наук, профессор кафедры патофизиологии СибГМУ, старший научный сотрудник лаборатории иммунологии и клеточных биотехнологий БФУ им. И. Канта

Адрес: 634028, Томск, ул. Учебная, д. 39, тел.: +7 (3822) 90-11-01, e-mail: zima2302@gmail.com

Шабалова Ирина Петровна, доктор медицинских наук, профессор кафедры клинической лабораторной диагностики РМАПО

Адрес: 125284, Москва, 2-й Боткинский пр-д, д. 5, тел.: +7 (495) 945-82-22, e-mail: irenshab@inbox.ru

Рязанцева Наталья Владимировна, доктор медицинских наук, профессор кафедры биологической химии с курсами медицинской, фармацевтической и токсикологической химии КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, профессор кафедры биофизики Института фундаментальной биологии и биотехнологии Сибирского федерального университета

Адрес: 660041, Красноярск, пр-т Свободный, д. 79, тел.: +7 (391) 244-86-25, e-mail: nv_gyazan@mail.ru

Васильева Ольга Александровна, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры биохимии с молекулярной биологией и курсом клинической лабораторной диагностики СибГМУ

Адрес: 634050, Томск, Московский тракт, д. 2, тел.: +7 (3822) 41-85-94, e-mail: vasiljeva-24@yandex.ru

Касоян Карина Тимуровна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры клинической лабораторной диагностики РМАПО

Адрес: 125284, Москва, 2-й Боткинский пр-д, д. 5, тел.: +7 (495) 945-82-22, e-mail: karishe@list.ru

Саприна Татьяна Владимировна, доктор медицинских наук, доцент кафедры эндокринологии и диабетологии СибГМУ

Адрес: 634050, Томск, Московский тракт, д. 2, тел.: +7 (3822) 53-15-87, e-mail: tvsaprina@sibmail.com

Латыпова Венера Насхатовна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры эндокринологии и диабетологии СибГМУ

Адрес: 634050, Томск, Московский тракт, д. 2, тел.: +7 (3822) 53-15-87, e-mail: veneralatypova@mail.ru

Берёзкина Ирина Сергеевна, аспирант кафедры эндокринологии и диабетологии СибГМУ

Адрес: 634050, Томск, Московский тракт, д. 2, тел.: +7 (3822) 53-15-87, e-mail: berezkina.is@mail.ru

Новицкий Вячеслав Викторович, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, заведующий кафедрой патофизиологии СибГМУ

Адрес: 634028, Томск, ул. Учебная, д. 39, тел.: +7 (3822) 55-36-13, e-mail: kaf.pat.fiziolog@ssmu.ru

DOI: 10.15690/vramn.v70.i4.1416

Н.В. Низяева, Н.Е. Кан, В.Л. Тютюнник, Н.А. Ломова, М.Н. Наговицына,
К.Н. Прозоровская, А.И. Щёголев

Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова,
Москва, Российская Федерация

МикроРНК как важные диагностические предвестники развития акушерской патологии

МикроРНК (мкРНК) — класс коротких нуклеотидных последовательностей (21–27 нуклеотидов) РНК, не участвующих в синтезе белка. мкРНК рассматривают как эффективные посттранскрипционные негативные регуляторы экспрессии генов, связывающиеся со специфическими участками матричных РНК (мРНК) в цитоплазме, обеспечивающие репрессию трансляции или деградацию транскриптов мишеней мРНК. Показана роль мкРНК в развитии нормальной беременности и ее осложнений, уделено внимание профилям мкРНК на разных сроках физиологической беременности, особенно при иммунологической толерантности организма матери к тканям плода во время беременности. Также отмечены мкРНК, ассоциированные с иммуносупрессией, представлен профиль мкРНК, связанных с преэклампсией. Определение плацентарных мкРНК в материнском кровотоке рекомендовано использовать в качестве прогностического биомаркера значимой акушерской патологии до наступления клинической манифестации заболевания.

Ключевые слова: ангиогенез, апоптоз, беременность, микроРНК, плацента, преэклампсия, трофобласт.

(Для цитирования: Низяева Н.В., Кан Н.Е., Тютюнник В.Л., Ломова Н.А., Наговицына М.Н., Прозоровская К.Н., Щёголев А.И. МикроРНК как важные диагностические предвестники развития акушерской патологии. *Вестник РАМН*. 2015; 70 (4): 484–492. Doi: 10.15690/vramn.v70.i4.1416)

484

Введение

МикроРНК (мкРНК) — это класс коротких нуклеотидных последовательностей (21–27 нуклеотидов) РНК, не принимающих участия в синтезе белка, но участвующих в транскрипционной и посттранскрипционной регуляции экспрессии генов. Впервые микроРНК были открыты R.C. Lee, R.L. Feinbaum и V. Ambros в 1993 г. [1, 2]. Авторы обнаружили, что количество белка LIN-14, задействованного в развитии нематоды *Caenorhabditis elegans*, регулировалось коротким РНК-продуктом гена *lin-4* [2].

В настоящее время мкРНК рассматривают как посттранскрипционные негативные регуляторы экспрессии генов, связывающиеся со специфическими участками таргетными матричными РНК (мРНК) в цитоплазме,

обеспечивая тем самым репрессию трансляции или деградацию транскриптов мишеней мРНК [3]. Регуляция экспрессии генов посредством мкРНК является высокоспецифичным процессом для морфогенеза клеток и тканей, в т.ч. в эмбриональном периоде и в условиях патологии.

Известно, что около 3% генов кодируют мкРНК, и более 30–50% генов могут регулироваться с помощью мкРНК [4]. Установлено, что в клетках человека экспрессируется более 1600 мкРНК, участвующих в регуляции эмбрионального развития, клеточной и тканевой дифференцировки, пролиферации и апоптоза, метаболизма, а также в иммуносупрессии и канцерогенезе [5]. Большинство мРНК содержат множественные потенциальные сайты для связывания мкРНК на специфических участках [6].

N.V. Nizyaeva, N.E. Kan, V.L. Tyutyunnik, N.A. Lomova, M.N. Nagovitsyna,
K.N. Prozorovskaya, A.I. Shchyogolev

Research Centre for Obstetrics, Gynaecology and Neonatology, Moscow, Russian Federation

MicroRNAs As An Important Precursors of Diagnostic Obstetric Pathology

MicroRNAs (miRs) are the class of short nucleotide sequences (21–27 nucleotides) RNA, non-coding protein synthesis. miRs are known as effective posttranscriptional negative regulators of gene expression with specific binding sites of targeted messenger RNA (mRNA) in the cytoplasm, providing translational repression or degradation of the target miR transcript. In this review we studied the role of miRNAs in the development of a physiological pregnancy and obstetric complications. The placenta is a unique organ which provides modulation of the immune system of the maternal organism during pregnancy including miRs which determine immunological tolerance of the body to the tissues of the fetus. Thus the «placental» miRs in maternal circulation may be the potential biomarker revealed at various obstetric pathology on the early stages before clinical manifestation of the diseases.

Key words: angiogenesis, apoptosis, pregnancy, microRNA, placenta, pre-eclampsia, trophoblast.

(For citation: Nizyaeva N.V., Kan N.E., Tyutyunnik V.L., Lomova N.A., Nagovitsyna M.N., Prozorovskaya K.N., Shchyogolev A.I. MicroRNAs As An Important Precursors of Diagnostic Obstetric Pathology. *Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2015; 70 (4): 484–492. Doi: 10.15690/vramn.v70.i4.1416)

Поскольку мкРНК часто соединяется лишь частично со своими мРНК-мишенями, то она может репрессировать сотни генов [7]. Тем не менее, контролируя экспрессию различных генов, мкРНК, безусловно, сами находятся под генетическим контролем. Так, ген *Мус*, с одной стороны, регулируется с помощью мкРНК, а, с другой, контролирует ряд мкРНК, включая 141, 200, 249, важных для программ самообновления стволовых клеток [8].

Специфические мкРНК плаценты

Еще в 2007 г. с помощью методов *microarray* и *PCR* (от англ. *polymerase chain reaction* — полимеразная цепная реакция, ПЦР) в режиме реального времени был выявлен ряд мкРНК, специфичных для плаценты человека. Число специфичных мкРНК в зрелой плаценте человека колеблется, по данным разных авторов, от 300 до 600 [9, 10]. При этом каждая из них имеет характерную интенсивность экспрессии. Ряд плацентарных мкРНК с высоким уровнем экспрессии кодируется кластерными генами мкРНК, расположенными на хромосоме 19 (*C19MC*), что было показано при исследовании профилей мкРНК трофобласта плаценты человека доношенной беременности [11].

В то же время следует отметить, что мкРНК могут продуцироваться и опухолевыми клетками, а затем попадать в системный кровоток и инкапсулироваться в экзосомах [12]. По данным литературы [13], аналогичные экзосомы могут синтезироваться и клетками трофобласта. Однако до настоящего времени функциональное значение плацентарных мкРНК, освобождающихся в материнский

кровоток, не установлено. Можно предположить, что такие циркулирующие мкРНК вовлечены в обеспечение материнскоплодных взаимодействий, иммунологической толерантности и адаптации организма женщины во время беременности.

Некоторые специфические мкРНК (мкРНК516-5p, 517*, 518b, 520a*, 520h, 525 и 526a) рассматривают как мкРНК, специфичные для беременности. Так, мкРНК21 и мкРНК141 активно экспрессируются в ткани плаценты и определяются в материнском кровотоке [14]. Концентрация некоторых других мкРНК значимо выше в плазме у беременных по сравнению с небеременными [15]. Более того, концентрация ряда мкРНК (например, мкРНК141) повышается с увеличением срока гестации [12].

Наиболее высокая интенсивность экспрессии в плаценте характерна для мкРНК517a, 517b, 516b, 525-5p, 512-3p, 515-3p [16]. Отмечено также, что мкРНК517a-3p, 519a-3p, 520c-3p определяются в мезенхимальных стромальных клетках плаценты [17], являясь индикатором того, что специфические функции плаценты не ограничены только трофобластом. При этом интенсивность экспрессии мкРНК125b5p в трофобласте значительно выше в III триместре по сравнению с I. Различная экспрессия паттернов мкРНК в ворсинчатом дереве плаценты в I и III триместре беременности подчеркивает индивидуальный профайлинг мкРНК и обеспечивает нормальное развитие плаценты.

В связи с этим уровень экспрессии мкРНК может являться индикатором изменений плаценты во время беременности в зависимости от срока гестации и развития ворсинчатого дерева (табл. 1, 2). Так, в I триместре беременности установлены высокие уровни мкРНК, относя-

Таблица 1. Профиль мкРНК, имеющих более высокую интенсивность экспрессии в I триместре беременности по сравнению с III

Степень повышения содержания мкРНК (кратность) в I триместре беременности по сравнению с III					
<2,5	2,5–3	3–5	5–10	10–20	>20
мкРНК378с	мкРНК93	мкРНК518е	мкРНК372	мкРНК92а-1*	мкРНК708
мкРНК665	мкРНК3178	мкРНК523	мкРНК373	мкРНК371	
мкРНК760	мкРНК518d	мкРНК934	мкРНК25		
мкРНК4270	мкРНК1307	мкРНК522	мкРНК296		
мкРНК134	мкРНК1207	мкРНК1275	мкРНК518b		
мкРНК19b-1	мкРНК526а	мкРНК1270	мкРНК1254		
мкРНК2277	мкРНК615	мкРНК182	мкРНК1226		
мкРНК1180	мкРНК3141	мкРНК3180-3p	мкРНК18а		
мкРНК520а	мкРНК345	мкРНК20а	мкРНК519с		
мкРНК671	мкРНК629	мкРНК520f	мкРНК886		
мкРНК1285	мкРНК92а	мкРНК520с	мкРНК519b		
мкРНК455	мкРНК3185	мкРНК378	мкРНК519а*		
мкРНК520h	мкРНК1292	мкРНК675			
мкРНК127	мкРНК17	мкРНК323			
мкРНК3162	мкРНК106а	мкРНК520 g			
мкРНК30b	мкРНК370	мкРНК4298			
мкРНК663	мкРНК378	мкРНК1231			
миРНК19а	мкРНК654	мкРНК466			
миРНК4304	мкРНК365*	мкРНК518f			
мкРНК498	мкРНК758	мкРНК518с			
мкРНК412	мкРНК193а	мкРНК18b			
мкРНК431	мкРНК422а	мкРНК3197			
мкРНК484	мкРНК205				
мкРНК20b	мкРНК105				
мкРНК31	мкРНК421				
мкРНК520d	мкРНК409				
мкРНК92b					
мкРНК525					
мкРНК1247					
мкРНК1910					
мкРНК194*					
мкРНК520а					
мкРНК210					
мкРНК769					

щихся к кластерам мкРНК1792, С14МС, С19МС, а также к кластеру мкРНК371. Вместе с тем мкРНК семейства let-7, мкРНК34, кластера мкРНК29, мкРНК195, а также мкРНК181 имеют более высокие значения в III триместре [18]. Некоторые из этих плацентарных специфических мкРНК, содержание которых было повышено во время беременности, значительно снижаются в концентрации после родов. Подобные закономерности установлены для мкРНК515-3p, 516-5p, 517a, 517c, 518b, 520a, 520h, 525, 526a и 526b [15]. В то же время мкРНК517b и мкРНК519a высоко экспрессируются на клетках трофобласта. Наряду с этим содержание мкРНК517b повышено также в структурах терминальных ворсин, а повышение интенсивности экспрессии мкРНК519a отмечено в стволовых ворсинах. Учитывая эти данные, можно предположить различную роль мкРНК в регуляции пролиферации трофобласта [9].

Более того, в I триместре беременности мкРНК371-5p значимо экспрессируется как в цито, так и в синцитиотрофобласте, а также в стромальных клетках ворсин и эндотелии фетальных сосудов [17]. При этом мкРНК155 ингибирует пролиферацию и миграцию инвазивного трофобласта, стимулирует образование синцитиотрофобласта [19]. Экспрессия мкРНК в т.ч. может быть связана с ремоделированием сосудов в соответствии со сроками гестации [20]. Так, экспрессия в плаценте мкРНК517b и мкРНК519a в I триместре беременности обратно пропорциональна весу плаценту, сроку беременности [21].

Таким образом, ряд мкРНК, определяемых в плазме крови матери, могут оказаться специфическими для беременности определенного гестационного срока и рассматриваться в качестве потенциальных неинвазивных маркеров состояния здоровья матери и плода. «Плацентарные» мкРНК, выявляемые в плазме крови беременных, принимают участие в огромном числе необходимых функций,

включая обеспечение иммунологической толерантности и ангиогенеза [22].

Важно отметить, что ряд мкРНК, связанных с аутоиммунными реакциями, иммуносупрессией, а также выявляемых у онкологических пациентов, обнаружены также в плазме крови женщин и ткани плаценты при нормальном течении беременности [23]. Так, семейство мкРНК Let-7 наиболее подробно изучено в опухолевых клетках и опухолевой ткани. Они были описаны как ключевые мкРНК, участвующие в онкогенезе и регулирующие эмбриональное развитие [24]. Как было показано в исследованиях культур клеток, повышение интенсивности экспрессии Let-7 ингибирует клеточную пролиферацию, обеспечивая переход от фазы G₁ к фазе S клеточного цикла посредством регуляции ключевых протоонкогенов, включая RAS, CDC25a, CDK6, а также циклин D [18]. Последнее вызывает остановку митотического деления на этапе G₂-M фазы клеточного цикла [24]. Следует отметить, что 7 членов семейства мкРНК let-7, включая let-7a, let-7b, let-7c, let-7d, let-7e, let-7f, let-7g и let-7i, имеют более высокие уровни в III триместре беременности по сравнению с I. Основными функциями семейства мкРНК let-7 считают ограничение клеточной пролиферации и стимуляцию клеточной дифференцировки. Кроме того, они участвуют в обеспечении опухолевой супрессии. В связи с этим представляет интерес исследование профиля мкРНК в I и III триместре беременности (см. табл. 1, 2) [18].

Интересно, что низкая интенсивность экспрессии мкРНК семейства let-7 характерна для некоторых злокачественных новообразований, включая рак молочной железы [23], легких, яичников [25], предстательной железы [26]. Ряд мкРНК, принадлежащих к этому семейству, экспрессируются также в плаценте при доношенной беременности и обладают функцией регуляции генов-супрессоров. Это относится к мкРНК125b, 181c, 195, а также к

486

Таблица 2. Профиль мкРНК, имеющих более высокую интенсивность экспрессии в III триместре беременности по сравнению с I

Степень повышения содержания мкРНК (кратность) в III триместре беременности по сравнению с I					
<2,5	<2,5	<2,5	<2,5	<2,5	<2,5
мкРНК660	мкРНК1294	мкРНК504	мкРНК181c	мкРНК100	мкРНК139
мкРНК133b	мкРНК146a	мкРНК29c	let-7f	мкРНК34c	мкРНК29b
мкРНК505	мкРНК376b	мкРНК451	мкРНК29b-1*		
мкРНК140	мкРНК148b	мкРНК526b	мкРНК125b		
мкРНК22	мкРНК32	мкРНК195	мкРНК184		
мкРНК720	мкРНК3156	мкРНК363	мкРНК4324 let-7g		
мкРНК103-as	мкРНК4306	мкРНК3176	мкРНК21		
мкРНК335	мкРНК3148	мкРНК24-2*	мкРНК497		
мкРНК454	мкРНК10a	мкРНК424 let-7d	мкРНК34b let-7a		
мкРНК548u	мкРНК125b-1*	мкРНК30a	мкРНК29a		
мкРНК34a	мкРНК1291	мкРНК551b	мкРНК221		
мкРНК1306	мкРНК98	мкРНК143	мкРНК150 let-7i		
мкРНК155 let-7b	мкРНК489	мкРНК4329	мкРНК1244		
мкРНК181d	мкРНК4253	мкРНК99a let-7c	мкРНК664		
мкРНК509-3		мкРНК768-3p	мкРНК10b		
мкРНК126		мкРНК328			
мкРНК572		мкРНК377			
мкРНК1256		мкРНК101			
мкРНК362		мкРНК133a			
мкРНК1246 let-7e		мкРНК202			
мкРНК21		мкРНК488			
мкРНК188		мкРНК125b-2*			
мкРНК196b		мкРНК223			
мкРНК193a		мкРНК140			
		мкРНК299			
		мкРНК26b			
		мкРНК542			
		мкРНК486			
		мкРНК874			
		мкРНК4315			

мкРНК, принадлежащих к семейству мкРНК34 (34а, 34b, 34с), и мкРНК, относящихся к кластеру мкРНК29 (29а, 29b, 29b-1-*5p) [27, 28].

Установлено, что мкРНК29b обуславливает индукцию апоптоза трофобласта благодаря снижению экспрессии MCL1, входящего в семейство Bcl2 [29]. В свою очередь, мкРНК182 обладает антиапоптозным эффектом на клетки трофобласта; потенциальной мишенью действия для мкРНК182 является транскрипционный фактор FoxO3a [29].

мкРНК регулируют временные переходы в экспрессии генов, ассоциированные с клеточной прогрессией, в ответствии с дифференцировкой клеток, в т.ч. в течение периода эмбриогенеза. Ряд мкРНК имеют онкогенные и иммунологически супрессивные характеристики. Так, например мкРНК в пределах кластеров 1792, мкРНК371, C14MC и C19MC характеризуются высокими уровнями экспрессии в I триместре беременности. В противоположность этому, мкРНК, обеспечивающие опухолевую супрессию, и мкРНК, влияющие на дифференцировку клеток, достаточно четко экспрессируются в структурах плаценты в III триместре и при доношенной беременности. В полной мере это относится к семейству мкРНК let-7 и мкРНК в пределах кластеров мкРНК29 и мкРНК34. Наряду с этим экспрессия мкРНК21 и мкРНК221 — ингибиторов опухолевого роста — также повышена в III триместре в ткани плаценты при доношенной беременности [24].

Таким образом, выявляемые в зрелой плаценте мкРНК, обеспечивающие регуляцию генов-онкосупрессоров, по-видимому, осуществляют развитие и формирование ворсинчатого дерева плаценты, а также играют значительную роль в ограничении инвазии и ангиогенеза. Следует подчеркнуть, что плацента обеспечивает перестройку иммунной системы материнского организма во время беременности. Важная роль в этих процессах принадлежит мкРНК, регулирующим иммунологическую толерантность организма матери к тканям плода.

МикроРНК и гены-мишени, связанные с акушерской патологией

Развитие беременности нередко осложняется разнообразными патологическими процессами и заболеваниями как со стороны матери, так и со стороны плода. Среди наиболее грозных выделяют преэклампсию, гестационный сахарный диабет, преждевременные роды. Преэклампсия (ПЭ) является одной из ведущих причин материнской и перинатальной заболеваемости и смертности, в т.ч. приводит к задержке роста плода. Данное осложнение встречается примерно в 5–8% всех беременностей и характеризуется повышением артериального давления выше 140/100 мм рт.ст. и концентрации белка в моче выше 0,3 г/сут [30, 31]. Наиболее признанной теорией развития преэклампсии считается недостаточное ремоделирование спиральных артерий, а также трансформация их эндотелиальных и гладкомышечных клеток [32]. Неполная эндovasкулярная трансформация спиральных маточных артерий приводит к снижению маточно-плацентарного кровотока [33] и нарушению баланса между про- и противоангиогенными факторами роста [34, 35]. Повышенная циркуляция медиаторов и цитокинов способствует развитию системного воспалительного ответа и эндотелиальной дисфункции во многих органах и системах [8] и в организме матери, и в плаценте [36]. В свою очередь, ишемия и гипоксия плаценты приводят

к повреждению трофобласта ворсин, что обеспечивает клеточную фрагментацию трофобласта, попадание клеточного детрита в системный кровоток матери, тем самым являясь триггером системного иммунного ответа и оксидативного стресса плаценты [37, 38].

Плацентарная дисрегуляция при ПЭ включает большое число процессов, таких как эндотелиальная дисфункция, оксидативный стресс, неполноценный ангиогенез ворсин плаценты, что представляет значительные трудности в выделении единственного патогенетического звена развития заболевания. [39].

Следует отметить, что в исследованиях, посвященных роли мкРНК в развитии ПЭ, в качестве одного из важных предикторов ее развития называют маркер гипоксии мкРНК210 [40]. При этом необходимо учитывать, что повышение интенсивности экспрессии мкРНК210 отражает и физиологическую гипоксию в I триместре беременности [41], которая является необходимым условием для раннего развития плаценты. Однако в условиях выраженной гипоксии прежде всего страдает трофобласт. Действительно, ряд мкРНК, включая мкРНК93, 205, 224, 335, 424, 451, а также мкРНК491, ассоциированы с повреждением трофобласта [42, 43]. Гипоксия вызывает повышение содержания мкРНК210 не только в ткани плаценты *in vivo*, но и *in vitro* в культуре клеток трофобласта и эндотелия [44]. По данным С. Camps и соавт. [45], содержание мкРНК повышается в ответ на низкое давление кислорода в различных типах клеток и увеличивается при заболеваниях, ассоциированных с гипоксией.

Основной фактор, связанный с гипоксией, — это HIF1 α (от англ. hypoxia inducible factor 1 α — гипоксия-индуцирующий фактор α). HIF1 α служит основной мишенью для мкРНК210 [21, 44]. В результате прямого связывания в участке промоторного гена мкРНК210 HIF1 α осуществляет индукцию экспрессии мкРНК210 [42, 43]. Ген, кодирующий мкРНК210, локализован в пределах интрона гипоксияиндуцибельного гена AK123483 [45]. Наряду с этим содержание HIF1 α зависит от семейства пролилгидроксилаз, которые при нормальном оксигенировании приводят к деградации HIF1 α . Снижение концентрации кислорода обуславливает снижение гидроксилирования, в результате чего не происходит деградации HIF1 α [46, 47].

Установлено, что мкРНК210 обеспечивает снижение содержания GPD1L (от англ. glycerol-3-phosphate dehydrogenase 1-like) [43, 48], что в свою очередь приводит к повышению интенсивности экспрессии гена мишени HIF1 α , а повышение содержания GPD1L обуславливает снижение стабильности HIF1 α [48]. Более того, HIF1 α , p50, NF κ B (от англ. nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells) также способствуют повышению интенсивности экспрессии мкРНК210 в трофобласте [46, 49].

При изучении культуры первичного трофобласта установлено, что гипоксия индуцирует экспрессию ряда мкРНК, включая мкРНК210 и мкРНК205 [50]. Усиление интенсивности экспрессии мкРНК205 подавляет экспрессию фактора MED1 (от англ. mediator of RNA polymerase II transcription subunit 1 — медиатор РНК полимеразы II типа субъединицы 1), регулирующего развитие плаценты, поэтому мкРНК205 может участвовать в адаптации плаценты к гипоксии [40, 51].

В то же время у женщин с ПЭ повышение содержания свободных радикалов и активных форм кислорода, обеспечивающее перекисное окисление липидов и лежащее в основе оксидативного стресса, считается причиной низкой массы плаценты и слабой инвазии трофобласта. Это нашло отражение в изменении экспрессии некото-

рых мкРНК, включая мкРНК210 и мкРНК377. Кроме того, SOD1 и SOD2 (от англ. superoxide dismutase — супероксиддисмутаза I и II типа) регулируются посредством влияния мкРНК377 [52]. Оксидативный стресс меняет экспрессию STC1 и STC2 (stanniocalcin 1, 2 — станниокальцин 1-го и 2-го типа), защищающих клетки от апоптоза. Экспрессия STC1 и STC2 тесно связана с имплантацией и децидуализацией [50].

Функциональная регуляция таргетных генов, включающих HIF1, STC и MMPs, посредством мкРНК, возможно, играет ключевую роль в регуляции функциональной активности клеток плаценты как в норме, так и при развитии осложнений. мкРНК296-3р, 181, 431 и 512-3р являются предполагаемыми регуляторами для многих мишеней, включая семейство металлопротеиназ, повышение активности которых установлено в образцах плаценты беременных, страдающих ПЭ [10].

Повышенная интенсивность экспрессии мкРНК195 обеспечивает инвазию путем воздействия на гены-мишени *ACVR2A* (от англ. Activin receptor type-2A — рецептор 2-го типа для активина А) и *Nodal* [51]. Кроме этого, мкРНК-376с также участвует в регуляции сигнального пути Nodal-TGFβ [52]. Повышенная экспрессия мкРНК376с индуцирует клеточную пролиферацию, миграцию и инвазию, обеспечивает рост плаценты через воздействие на ALK5 (активинподобный рецептор киназы 5-го типа), а также

ALK7 (активинподобный рецептор киназы 7-го типа), рецептор серинтреонин киназы I типа [53].

Одним из предполагаемых генов, являющихся мишенью для мкРНК181, считается ген, кодирующий CRH (от англ. corticotropin-releasing hormone — кортикотропный релизинг-гормон). Данный ген экспрессируется в органах женской репродуктивной системы (матке, яичниках) и плаценте. CRH обеспечивает нормальное развитие беременности, участвуя в децидуализации тканей и имплантации эмбриона, а его нарушения описаны при патологии беременности и родов [54]. Mayorg-Lynn и соавт. [10] установили связь между мкРНК181а и мкРНК200с и экспрессией гена *CRH*, кодирующего кортикотропный релизинг-гормон, а также гена, кодирующего CRHBP (от англ. binding protein — белок, связывающий CRH) [55].

Представляют интерес исследования Pineles и соавт. [56], которые впервые методом ПЦР определили экспрессию 157 зрелых человеческих мкРНК в образцах плаценты, взятых у женщин с ПЭ. Группой контроля явились образцы плаценты, взятые от женщин с преждевременными родами, соответствующего гестационного срока. В результате исследования было обнаружено, что при ранней ПЭ содержание 7 мкРНК (210, 155, 181b, 182*, 200b, 154* и 183) было достоверно выше по сравнению с группой контроля. Наиболее высокая экспрессия (в 2 и 3 раза) была зафиксирована для мкРНК182 и 210

488

Таблица 3. Профиль мкРНК при преэклампсии

Регуляция определения	Образец	мкРНК	Метод
Повышение	Плацента	мкРНК20b, мкРНК16, мкРНК29b, мкРНК195, мкРНК26b, мкРНК181a, мкРНК335 мкРНК222 мкРНК210, мкРНК152 мкРНК518b	Микрочипы и qRT-PCR
		мкРНК516a-5р, мкРНК512-3р, мкРНК2277 мкРНК524-3р	Микрочипы
		мкРНК182, мкРНК210 мкРНК17, мкРНК20a мкРНК155	qRT-PCR
		мкРНК210, мкРНК193b, мкРНК144*, мкРНК193*, мкРНК18a, мкРНК185, мкРНК19a, мкРНК590-5р, мкРНК142-3р, мкРНК451, мкРНК22*, мкРНК526b*, мкРНК520a-3р, мкРНК10b, мкРНК20a, мкРНК518f*, мкРНК146b-5р, мкРНК517с, мкРНК518с, мкРНК5258-5р, мкРНК519e* мкРНК126*	Высокопроизводительное секвенирование генов и qRT-PCR, основанная на чиповом анализе
Повышение	Плазма крови	мкРНК210	qRT-PCR
Снижение	Плацента	мкРНК18a, мкРНК411, мкРНК377, мкРНК363, мкРНК542-3р	Микрочипы и qRT-PCR
		мкРНК101, мкРНК10b, мкРНК218, мкРНК590, мкРНК204, мкРНК32, мкРНК126*, мкРНК19a, мкРНК154*, мкРНК625, мкРНК144, мкРНК195, мкРНК150, мкРНК1, мкРНК18b мкРНК450, мкРНК151-3р, мкРНК146a, мкРНК192, мкРНК34с-5р	Микрочипы
		мкРНК376с мкРНК378a-5р мкРНК195 мкРНК675	qRT-PCR
Снижение	Плазма крови	мкРНК376с	qRT-PCR

Таблица 4. Роль мкРНК при акушерской патологии

Осложнение беременности	Образец	Регуляция	мкРНК	Метод определения
Малый гестационный возраст	Плацента	Повышение	мкРНК210	qRT-PCR
		Снижение	мкРНК16 мкРНК21	qRT-PCR
Ранняя преэклампсия	Плацента	Повышение	мкРНК210	qRT-PCR
Преждевременные роды	Плодные оболочки	Повышение	мкРНК25, мкРНК338, мкРНК101, мкРНК449, мкРНК154, мкРНК135a, мкРНК142-3p, мкРНК202* мкРНК136	Микрочипы
			мкРНК338, мкРНК449, мкРНК136 мкРНК199a*	qRT-PCR
Гестационный сахарный диабет	Сыворотка крови	Снижение	мкРНК132, мкРНК29a мкРНК222	qRT-PCR
Задержка развития плода	Плацента	Снижение	мкРНК518b, мкРНК1323, мкРНК516b, мкРНК515-5p, мкРНК520h, мкРНК519d мкРНК526b	qRT-PCR

[56]. Наряду с этим Zu и соавт. [57] на основании анализа мкРНК образцов плацент, взятых от здоровых родильниц и пациенток с умеренной ПЭ, обнаружили увеличение содержания 11 мкРНК при ПЭ (мкРНК181a, 584, 30a-3p, 210, 152, 517, 518b, 519a, 638, 296, 362) и, наоборот, снижение концентрации 23 мкРНК (мкРНК101, 10b, 218, 590, 204, 32, 126, 18a, 19a, 411, 377, 154, 625, 144, 195, 150, 1, 18b, 363, 342-3p, 450, 223, 374). По другим данным, полученным посредством метода микрочипа (microarray) [58], установлено снижение концентрации мкРНК при ПЭ (мкРНК1, 34c-5p, 139-5p, 328, 500, 584, 1247).

В исследовании Uga и соавт. подчеркнута роль мкРНК1233 как наиболее часто экспрессируемой при ПЭ (при оценке методом qRT-PCR) [59]. В то же время данная мкРНК была описана в наблюдениях почечно-клеточного рака [60]. Некоторые другие мкРНК, обнаруженные в сыворотке беременных, у которых позднее развилась ПЭ, также ассоциированы с канцерогенезом. Так, например, мкРНК650, выявленная в гепатоцеллюлярной карциноме [61], мкРНК32 и мкРНК193a-3p при раке прямой кишки [62], мкРНК379, повышенная в клетках карциномы молочной железы [63], снижают интенсивность экспрессии генов, вовлеченных в TGF-β-сигнальный путь. мкРНК152 обнаружена при раке эндометрия [64], мкРНК215 и мкРНК204 — при метастазировании рака почки [65]. Более того, мкРНК296-5p и мкРНК25 найдены в ткани плаценты при ПЭ [66]. В то же время некоторые сниженные концентрации мкРНК у женщин, у которых впоследствии развилась поздняя ПЭ (после 34-й нед гестации), часто встречаются в связи с опухолями различной локализации в плазме беременных. Так, содержание мкРНК144 снижается в ткани опухоли при карциноме мочевого пузыря [67], а также при колоректальном раке [68]. Наряду с этим мкРНК126 [69], мкРНК335 [70], мкРНК668 [71], мкРНК15b [72], мкРНК204 [73] являются онкосупрессорами. Таким образом, спектр циркулирующих мкРНК в крови беременных, у которых впоследствии развивается ПЭ, представляют собой иммуносупрессию, имеющую сходство с опухолевым процессом [74, 75].

Одним из осложнений ПЭ является задержка роста плода, которая характеризуется недостаточным его ростом в соответствии со сроками гестации [76]. Уровень специфичных для плаценты мкРНК (мкРНК518b, 1323, 516b, 515-5p, 520h, 519d, и 526b) значительно снижен в плаценте при задержке роста плода по сравнению с физиологическим течением беременности (табл. 3) [76–78].

Гестационный сахарный диабет, осложняющий течение беременности в 3–8% наблюдений, в свою очередь способствует повышению риска осложнений для матери и плода [79]. Ряд мкРНК обнаружен в сыворотке крови у беременных на сроке 16–19 нед гестации, у которых позже, на сроке 25–28 нед клинически манифестировал гестационный сахарный диабет [50]. В исследовании было показано, что 3 мкРНК — мкРНК132, 29a и 222 — значительно снижены при гестационном сахарном диабете по сравнению с контрольной группой аналогичного гестационного возраста (табл. 4) [50].

Заключение

Известно, что основным механизмом образования мкРНК во время беременности является синтез их синцитиотрофобластом в виде микроскопических внеклеточных везикул — экзосом — с последующим поступлением в материнский кровоток и развитием системных эффектов. В настоящее время у человека известно более 1600 мкРНК. В то же время биологическое значение только нескольких из них достаточно четко расшифровано. Так, установлена роль отдельных мкРНК в нормальном развитии беременности, в частности процессах имплантации, инвазии трофобласта, формирования ворсинчатого дерева плаценты, развития плода, а также указано на значение мкРНК в осуществлении иммунологической толерантности организма матери к тканям плода во время беременности, и отмечены мкРНК, ассоциированные с иммуносупрессией. Установлены изменения профиля мкРНК, ассоциированные с развитием преэклампсии, гестационного сахарного диабета,

задержкой роста плода, преждевременными родами. Более того, профиль мкРНК может использоваться и в качестве прогностических показателей ведущих осложнений беременности и родов уже на ранних сроках, до их клинической манифестации.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки исследования / конфликта интересов, о которых необходимо сообщить.

ЛИТЕРАТУРА

- Johnson C.D., Esquela-Kerscher A., Stefani G., Byrom M., Kelnar K., Ovcharenko D., Wilson M., Wang X., Shelton J., Shingara J., Chin L., Brown D., Slack F.J. The let 7 microRNA represses cell proliferation pathways in human cells. *Cancer Res.* 2007; 67 (16): 7713–7722.
- Liu C., Kelnar K., Vlassov A.V., Brown D., Wang J., Tang D.G. Distinct microRNA expression profiles in prostate cancer stem/progenitor cells and tumor-suppressive functions of let 7. *Cancer Res.* 2012; 72 (12): 3393–3404.
- Grosshans H., Filipowicz W. Molecular biology: the expanding world of small RNAs. *Nature.* 2008; 451 (7177): 414–416.
- Baek D., Villen J., Shin C., Camargo F.D., Gygi S.P., Bartel D.P. The impact of microRNAs on protein output. *Nature.* 2008; 455 (7209): 64–71.
- Hudson T.J., Anderson W., Aretz A., Barker A.D., Bell C., Bernabe R.R. et al. International Network of Cancer Genome projects. *Nature.* 2010; 464 (7291): 993–998.
- Selbach M., Schwanhäusser B., Thierfelder N., Fang Z., Khanin R., Rajewsky N. Wide spread changes in protein synthesis induced by microRNAs. *Nature.* 2008; 455 (7209): 58–63.
- Friedman R.C., Farh K.K., Burge C.B., Bartel D.P. Most mammalian mRNAs are conserved targets of miRNAs. *Genome Res.* 2009; 19: 92–105.
- Marson A., Levine S.S., Cole M.F., Frampton G.M., Brambrink T., Johnstone S. Connecting microRNA genes to the core transcriptional regulatory circuitry of embryonic stem cells. *Cell.* 2008; 134 (3): 521–533.
- Enquobahrie D.A., Abetew D.F., Sorensen T.K., Willoughby D., Chidambaram K., Williams M.A. Placental microRNA expression in pregnancies complicated by preeclampsia. *Am. J. Obstet Gynecol.* 2011; 204 (2): 12–21.
- Mayor-Lynn K., Toloubeydokhti T., Cruz A.C., Chegini N. Expression profile of microRNAs and mRNAs in human placentas from pregnancies complicated by preeclampsia and preterm labor. *Reprod Sci.* 2011; 18 (1): 46–56.
- Luo S.S., Ishibashi O., Ishikawa G., Ishikawa T., Katayama A., Mishima T., Takizawa T., Shigihara T., Goto T., Izumi A., Ohkuchi A., Matsubara S., Takeshita T. villous trophoblasts express and secrete placenta specific microRNAs into maternal circulation via exosomes. *Biol. Reprod.* 2009; 81 (4): 717–729.
- Taylor D.D., Gercel-Taylor C. MicroRNA signatures of tumor derived exosomes as diagnostic biomarkers of ovarian cancer. *Gynecol. Oncol.* 2008; 110 (1): 13–21.
- Taylor E.L., Gant T.W. Emerging fundamental roles for non-coding RNA species in toxicology. *Toxicology.* 2008; 246 (1): 34–39.
- Chim S.S., Shing T.K., Hung E.C., Leung T.Y., Lau T.K., Chiu R.W., Lo Y.M. Detection and characterization of placental microRNAs in maternal plasma. *Clin. Chem.* 2008; 54 (3): 482–490.
- Miura K., Miura S., Yamasaki K., Higashijima A., Kinoshita A., Yoshiura K., Masuzaki H. Identification of pregnancy associated microRNAs in maternal plasma. *Clin. Chem.* 2010; 56 (11): 1767–1771.
- Donker R.B., Mouillet J.F., Chu T., Hubel C.A., Stolz D.B., Morelli A.E., Sadovsky Y. The expression profile of C19MC microRNAs in primary human trophoblast cells and exosomes. *Mol. Hum. Reprod.* 2012; 18 (8): 417–424.
- Flor I., Neumann A., Freter C., Helmke B.M., Langenbuch M., Rippe V., Bullerdiek J. Abundant expression and hemimethylation of C19MC in cell cultures from placenta derived stromal cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2012; 422: 411–416.
- Gu Y., Sun J., Groome L.J., Wang Y. Differential miRNA expression profiles between the first and third trimester human placentas. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2013; 304 (8): 836–843.
- Dai Y., Qiu Z., Diao Z., Shen L., Xue P., Sun H., Hu Y. MicroRNA-155 inhibits proliferation and migration of human extravillous trophoblast derived HTR-8/SVneo cells via down regulating cyclin D1. *Placenta.* 2012; 33 (10): 824–829.
- Kotlabova K., Doucha J, Hromadnikova I. Placental specific microRNA in maternal circulation identification of appropriate pregnancy associated microRNAs with diagnostic potential. *J. Reprod. Immunol.* 2011; 89 (2): 185–191.
- Lee D.C., Romero R., Kim J.S., Tarca A.L., Montenegro D., Pineles B.L., Kim E., Lee J., Kim S.Y., Draghici S., Mittal P., Kusanovic J.P., Chaiworapongsa T., Hassan S.S., Kim C.J. MiR-210 targets iron sulfur cluster scaffold homologue in human trophoblast cell lines: siderosis of interstitial trophoblasts as a novel pathology of preterm preeclampsia and small for gestational age pregnancies. *Am. J. Pathol.* 2011; 179 (2): 590–602.
- Gilad S., Meiri E., Yogev Y., Benjamin S., Lebanony D., Yerushalmi N., Benjamin H., Kushnir M., Cholakh H., Melamed N. Serum microRNAs are promising novel biomarkers. *PLoS One.* 2008; 3 (9): 31–48.
- Zhao Y., Deng C., Wang J., Xiao J., Gatalica Z., Recker R.R., Xiao G.G. Let 7 family miRNAs regulate estrogen receptor alpha signaling in estrogen receptor positive breast cancer. *Breast Cancer Res. Treat.* 2011; 127 (1): 69–80.
- Sakurai M., Miki Y., Masuda M., Hata S., Shibahara Y., Hirakawa H., Suzuki T., Sasano H. LIN28: a regulator of tumor suppressing activity of let 7 microRNA in human breast cancer. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 2012; 131 (3–5): 101–106.
- Helland Å., Anglesio M.S., George J., Cowin P.A., Johnstone C.N., House C.M. Deregulation of MYCN, LIN28B and Let 7 in a molecular subtype of aggressive high grade serous ovarian. *PLoS One.* 2011; 6 (4): 18064.
- Nadiminty N., Tummala R., Lou W., Zhu Y., Shi X.B., Zou J.X. MicroRNA let 7c is downregulated in prostate cancer and suppresses prostate cancer growth. *PLoS One.* 2012; 7 (3): 32832.
- Li P., Guo W., Du L., Zhao J., Wang, Y., Liu, L., Hu Y., Hou Y. MicroRNA-29b contributes to pre-eclampsia through its effects on apoptosis, invasion and angiogenesis of trophoblast cells. *Clin. Sci.* 2013; 124 (1): 27–40.
- Kanasaki K., Kalluri R. The biology of preeclampsia. *Kidney Int.* 2009; 76: 831–837.
- Segura M.F., Hanniford D., Menendez S., Reavie L., Zou X., Alvarez-Diaz S., Zakrzewski J., Blochin E., Rose A., Bogunovic D., Polsky D., Wei J., Lee P., Belitskaya-Levy I., Bhardwaj N., Osman I., Hernando E. Aberrant miR-182 expression promotes melanoma metastasis by repressing FOXO3 and microphthalmia associated transcription factor. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2009; 106 (6): 1814–1819.
- Burton G.J., Woods A.W., Jauniaux E., Kingdom J.C. Rheological and physiological consequences of conversion of the maternal spiral arteries for uteroplacental blood flow during human pregnancy. *Placenta.* 2009; 30 (6): 473–482.
- Magee L.A., Pels A., Helewa M., Rey E., von Dadelszen P. Diagnosis, evaluation and management of the hypertensive disorders of

- pregnancy: executive summary. *J. Obstet. Gynaecol. Can.* 2014; 36 (5): 416–441.
32. Steegers E.A., von Dadelszen P., Duvekot J.J., Pijnenborg R. Preeclampsia. *Lancet.* 2010; 376: 631–644.
 33. Павлов К.А., Дубова Е.А., Щёголев А.И. Фетоплацентарный ангиогенез при нормальной беременности: роль плацентарного фактора роста и ангиопоэтинов. *Акушерство и гинекология.* 2010; 6: 10–15.
 34. Hershkovitz R., de Swiet M., Kingdom J. Midtrimester placentation assessment in high risk pregnancies using maternal serum screening and uterine artery Doppler. *Hypertens Pregnancy.* 2005; 24 (3): 273–280.
 35. Wang Y., Lewis D.F., Gu Y., Zhang Y., Alexander J.S., Granger D.N. Knight Placental trophoblast derived factors diminish endothelial barrier function. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2004; 89 (5): 2421–2428.
 36. Duley L., Henderson-Smart D.J., King J.F. Antiplatelet agents for preventing and treating pre-eclampsia. *Cochrane Database Syst. Rev.* 2000; 2: CD000492.
 37. Santillan M.K., Santillan D.A., Sigmund C.D., Hunter S.K. From molecules to medicine: a future cure for preeclampsia? *Drug News Perspect.* 2009; 22 (9): 531–541.
 38. Crosby M.E., Kulshreshtha R., Ivan M., Glazer P.M. MicroRNA regulation of DNA repair gene expression in hypoxic stress. *Cancer Res.* 2009; 69 (3): 1221–1229.
 39. Lee H., Chen C.Y., Au L.C. Single point mutation of microRNA may cause butterfly effect on alteration of global gene expression. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2011; 404 (4): 1065–1069.
 40. Mouillet J.F., Chu T., Nelson D.M., Mishima T., Sadosky Y. MiR-205 silences MED1 in hypoxic primary human trophoblasts. *FASEB J.* 2010; 24 (6): 2030–2039.
 41. Huang X., Ding L., Bennewith K.L., Tong R.T., Welford S.M., Ang K.K. et al. Hypoxia inducible mir-210 regulates normoxic gene expression involved in tumor initiation. *Mol. Cell.* 2009; 35 (6): 856–867.
 42. Chan S.Y., Loscalzo J. MicroRNA-210: A unique and pleiotropic hypoxamir. *Cell Cycle.* 2010; 9 (2): 1072–1083.
 43. Kelly T.J., Souza A.L., Clish C.B., Puigserver P. A hypoxia induced positive feedback loop promotes hypoxia inducible factor 1alpha stability through miR-210 suppression of glycerol-3 phosphate dehydrogenase 1 like. *Mol. Cell Biol.* 2011; 31 (13): 2696–2706.
 44. Kulshreshtha R., Ferracin M., Wojcik S.E., Garzon R., Alder H., Agosto-Perez F.J., Davuluri R., Liu C.G., Croce C.M., Negrini M., Calin G.A., Ivan M. A microRNA signature of hypoxia. *Mol. Cell Biol.* 2007; 27 (5): 1859–1867.
 45. Camps C., Buffa F.M., Colella S., Moore J., Sotiriou C., Sheldon H., Sheldon H., Harris A.L., Gleadle J.M., Ragoussis J. Hsa-miR-210 Is induced by hypoxia and is an independent prognostic factor in breast cancer. *Clin. Cancer Res.* 2008; 14 (5): 1340–1348.
 46. Zhang Y., Fei M., Xue G., Zhou Q., Jia Y., Li L., Xin H., Sun S. Elevated levels of hypoxia-inducible microRNA-210 in pre-eclampsia: new insights into molecular mechanisms for the disease. *J. Cell Mol. Med.* 2012; 16 (2): 249–259.
 47. Muralimanoharan S., Maloyan A., Mele J., Guo C., Myatt L.G., Myatt L. MIR210 modulates mitochondrial respiration in placenta with preeclampsia. *Placenta.* 2012; 33 (10): 816–823.
 48. Anton L., Olarerin-George A.O., Schwartz N., Srinivas S., Bastek J., Hogenesch J.B., Elovitz M.A. MiR-210 inhibits trophoblast invasion and is a serum biomarker for preeclampsia. *Am. J. Pathol.* 2013; 183 (5): 1437–1445.
 49. Wang Q., Wang Y., Minto A.W., Wang J., Shi Q., Li X., Quigg R.J. MicroRNA-377 is upregulated and can lead to increased fibronectin production in diabetic nephropathy. *FASEB J.* 2008; 22 (12): 4126–4135.
 50. Law A.Y., Lai K.P., Lui W.C., Wan H.T., Wong C.K. Histone deacetylase inhibitor-induced cellular apoptosis involves stanniocalcin-1 activation. *Exp. Cell Res.* 2008; 314 (16): 2975–2984.
 51. Bai Y., Yang W., Yang H.X., Liao Q., Ye G., Fu G., Ji L., Xu P., Wang H., Li Y. Downregulated miR-195 detected in preeclamptic placenta affects trophoblast cell invasion via modulating ActRIIA expression. *PLoS One.* 2012; 7 (6): 38875.
 52. Luo L., Ye G., Nadeem L., Fu G., Yang B.B., Honarpour E., Honarpour E., Dunk C., Lye S., Peng C. MicroRNA-378a-5p promotes trophoblast cell survival, migration and invasion by targeting Nodal. *J. Cell Sci.* 2012; 125 (Pt. 13): 3124–3132.
 53. Fu G., Ye G., Nadeem L., Ji L., Manchanda T., Wang Y., Lye S., Yang B.B., Peng C. MicroRNA-376c impairs transforming growth factor-beta and nodal signaling to promote trophoblast cell proliferation and invasion. *Hypertension.* 2013; 61 (4): 864–872.
 54. Raffetto J.D., Khalil R.A. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in vascular remodeling and vascular disease. *Biochem. Pharmacol.* 2008; 75 (2): 346–359.
 55. Grammatopoulos D.K. Placental corticotrophin releasing hormone and its receptors in human pregnancy and labour: still a scientific enigma. *J. Neuroendocrinol.* 2008; 20 (4): 432–438.
 56. Pineles B.L., Romero R., Montenegro D., Tarca A.L., Han Y.M., Kim Y.M., Draghici S., Espinoza J., Kusanovic J.P., Mittal P., Hassan S., Kim C.J. Distinct subsets of microRNAs are expressed differentially in the human placentas of patients with preeclampsia. *Am. J. Obstet Gynecol.* 2007; 196 (3): 261.e1–e6.
 57. Zhu X.M., Han T., Sargent I.L., Yin G.W., Yao Y.Q. Differential expression profile of microRNAs in human placentas from preeclamptic pregnancies vs normal pregnancies. *Am. J. Obstet Gynecol.* 2009; 200 (6): 661. e1–e7.
 58. Chen D.B., Wang W. Human Placental MicroRNAs and Preeclampsia. *Biol. Reprod.* 2013; 88 (5): 130.
 59. Ura B., Feriotto G., Monasta L., Bilel S., Zweyer M., Celeghini C. Potential role of circulating microRNAs as early markers of Preeclampsia. *Taiwanese J. Obstet. Gynecol.* 2014; 53 (2): 232–234.
 60. Wulfken L.M., Moritz R., Ohlmann C., Holdenrieder S., Jung V., Becker F., Herrmann E., Walgenbach-Brunagel G., von Ruecker A., Müller S.C., Ellinger J. MicroRNAs in renal cell carcinoma: diagnostic implications of serum miR-1233 levels. *PLoS One.* 2011; 6 (9): 25787.
 61. Zeng Z.L., Li F.J., Gao F., Sun D.S., Yao L. Upregulation of miR-650 is correlated with down regulation of ING4 and progression of hepatocellular carcinoma. *J. Surg. Oncol.* 2013; 107 (2): 105–110.
 62. Wu W., Yang J., Feng X., Wang H., Ye S., Yang P., Tan W., Wei G., Zhou Y. MicroRNA-32 (miR-32) regulates phosphatase and tensin homologue (PTEN) expression and promotes growth, migration, and invasion in colorectal carcinoma cells. *Mol. Cancer.* 2013; 12: 30.
 63. Pollari S., Leivonen S. K., Perala M., Fey V., Kakonen S. M., Kallioniemi O. Identification of microRNAs inhibiting TGF- induced IL-11 production in bone metastatic breast cancer cells. *PLoS One.* 2012; 7 (5): 37361.
 64. Tsuruta T., Kozaki K., Uesugi A., Furuta M., Hirasawa A., Imoto I., Susumu N., Aoki D., Inazawa J. MiR-152 is a tumor suppressor microRNA that is silenced by DNA hypermethylation in endometrial cancer. *Cancer Res.* 2011; 71 (20): 6450–6462.
 65. White N.M., Khella H.W., Grigull J., Adzovic S., Youssef Y.M., Honey R.J., Stewart R., Pace K.T., Bjarnason G.A., Jewett M.A., Evans A.J. MiRNA profiling in metastatic renal cell carcinoma reveals a tumour suppressor effect for miR-215. *Brit. J. Cancer.* 2011; 105 (11): 1741–1749.
 66. Choi S.Y., Yun J., Lee O.J., Han H.S., Yeo M.K., Lee M.A. MicroRNA expression profiles in placenta with severe preeclampsia using a PNA based microarray. *Placenta.* 2013; 34 (9): 799–804.
 67. Guo Y., Ying L., Tian Y., Yang P., Zhu Y., Wang Z. MiR-144 downregulation increases bladder cancer cell proliferation by targeting EZH2 and regulating Wnt signaling. *FEBS J.* 2013; 280 (18): 4531–4538.
 68. Iwaya T., Yokobori T., Nishida N., Kogo R., Sudo T., Tanaka F., Shibata K., Sawada G., Takahashi Y., Ishibashi M., Wakabayashi G., Mori M., Mimori K. Downregulation of miR-144

- is associated with colorectal cancer progression via activation of mTOR signaling pathway. *Carcinogenesis*. 2012; 33 (12): 2391–2397.
69. Zhang Y., Wang X., Xu B., Wang B., Wang Z., Liang Y., Zhou J. Epigenetic silencing of miR-126 contributes to tumor invasion and angiogenesis in colorectal cancer. *Oncol. Rep.* 2013; 30 (4): 1976–1984.
 70. Gong M., Ma J., Guillemette R., Zhou M., Yang Y., Hock J.M., Ma J. MiR-335 inhibits small cell lung cancer bone metastases via IGF-1R and RANKL pathways. *Mol. Cancer Res.* 2014; 12 (1): 101–110.
 71. Shin K.H., Pucar A., Kim R.H., Bae S.D., Chen W., Kang M.K., Park N.P. Identification of senescence-inducing microRNAs in normal human keratinocytes. *Int. J. Oncol.* 2011; 39 (5): 1205–1211.
 72. Zhong G., Cheng X., Long H., He L., Qi W., Xiang T., Zhao Z., Zhu B. Dynamically expressed microRNA-15b modulates the activities of CD8+ T lymphocytes in mice with Lewis lung carcinoma. *J. Transl. Med.* 2013; 11: 71.
 73. Imam J.S., Plyler J.R., Bansal H., Prajapati S., Bansal S., Rebeles J., Chen H.I., Chang Y.F. Genomic loss of tumor suppressor miRNA-204 promotes cancer cell migration and invasion by activating AKT/mTOR/Rac1 signaling and actin reorganization. *PLoS One*. 2012; 7 (12): 52397.
 74. Mouillet J.F., Chu T., Hubel C.A., Nelson D.M., Parks W.T., Sadovsky Y. The levels of hypoxia regulated microRNAs in plasma of pregnant women with fetal growth restriction. *Placenta*. 2010; 31 (9): 781–784.
 75. Higashijima A., Miura K., Mishima H., Kinoshita A., Jo O., Abe S., Hasegawa Y., Miura S., Masuzaki H. Characterization of placenta-specific microRNAs in fetal growth restriction pregnancy. *Prenat. Diagn.* 2013; 33 (3): 214–222.
 76. Павлов К.А., Дубова Е.А., Щёголев А.И. Фетоплацентарный ангиогенез при нормальной беременности: роль сосудистого эндотелиального фактора роста. *Акушерство и гинекология*. 2011; 3: 11–16.
 77. Щёголев А.И., Дубова Е.А., Павлов К.А. Морфология плаценты. *М*. 2010. 46 с.
 78. Li X., Li C., Dong X., Gou W. MicroRNA-155 inhibits migration of trophoblast cells and contributes to the pathogenesis of severe preeclampsia by regulating endothelial nitric oxide synthase. *Mol. Med. Rep.* 2014; 10 (1): 550–554.
 79. Dabelea D., Snell-Bergeon J.K., Hartsfield C.L., Bischoff K.J., Hamman R.F., McDuffie R.S. Increasing Prevalence of Gestational Diabetes Mellitus (GDM) Over Time and by Birth Cohort. *Diabetes Care*. 2005; 28 (3): 579–584.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

492

Низяева Наталья Викторовна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник 2-го патологоанатомического отделения Научного центра акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова
Адрес: 117997, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4, **тел.:** +7 (495) 438-28-92, **e-mail:** Niziaeva@gmail.com

Кан Наталья Екзюновна, доктор медицинских наук, заведующая акушерским наблюдательным отделением Научного центра акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова
Адрес: 117997, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4, **тел.:** + 7 (495) 438-85-08, **N_kan@oparina4.ru**

Тютюнник Виктор Леонидович, доктор медицинских наук, заведующий акушерским физиологическим отделением Научного центра акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова
Адрес: 117997, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4, **e-mail:** V_tioutiunnik@oparina4.ru

Ломова Наталья Анатольевна, кандидат медицинских наук, научный сотрудник акушерского наблюдательного отделения Научного центра акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова
Адрес: 117997, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4, **e-mail:** Natasha-lomova@yandex.ru

Наговицына Марина Николаевна, младший научный сотрудник 2-го патологоанатомического отделения Научного центра акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова
Адрес: 117997, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4, **тел.:** +7 (495) 438-28-92, **e-mail:** moremore84@mail.ru

Прозоровская Ксения Николаевна, врач акушерского наблюдательного отделения Научного центра акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова
Адрес: 117997, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4, **e-mail:** ksenyap@inbox.ru

Щёголев Александр Иванович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий 2-м патологоанатомическим отделением Научного центра акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова
Адрес: 117997, Москва, ул. Академика Опарина, д. 4, **тел.:** +7 (495) 438-28-92, **e-mail:** Ashegolev@oparina4.ru

DOI: 10.15690/vramn.v70.i4.1417

В.Н. Сахаров, П.Ф. Литвицкий

Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Москва, Российская Федерация

Алгоритм оценки процесса активации макрофагов с целью определения прогноза течения и эффективности лечения заболеваний человека

Несмотря на сложность процессов активации и дифференцировки макрофагов различных фенотипов, выявление ключевых особенностей динамики этих процессов служит основой как оценки актуального состояния макрофагов, так и определения прогноза заболевания. С этой целью могут быть использованы показатели соотношения, с одной стороны, различных фенотипов макрофагов, с другой — факторов, определяющих направление их дифференцировки.

Ключевые слова: макрофаг, активация, перепрограммирование, воспаление.

(Для цитирования: Сахаров В.Н., Литвицкий П.Ф. Алгоритм оценки процесса активации макрофагов с целью определения прогноза течения и эффективности лечения заболеваний человека. *Вестник РАМН.* 2015; 70 (4): 493–498. Doi: 10.15690/vramn.v70.i4.1417)

Введение

Процессы активации и перепрограммирования макрофагов весьма сложны. В современной научно-практической литературе накапливаются сведения об этих процессах, их молекулярных механизмах и последствиях. Существует большое число молекул, активирующих дифференцировку макрофагов в M_1 - или в M_2 -фенотипы [1]. Отмечается также сложность прямого определения количества активированных макрофагов в биологических жидкостях и тканях. В последнем случае, как правило, требуется проведение биопсии. Фактически единственным исключением служит изучение числа макрофагов в лаважной жидкости при заболеваниях легких и/или воздухоносных путей [2].

Возможно (но достаточно сложно) разработать и косвенные показатели активации, перепрограммирования и дифференцировки макрофагов. Так, например, остается дискуссионной роль моноцитов крови как «источника» макрофагов. Если одни авторы считают, что резидентные макрофаги восполняют свою популяцию в основном за счет моноцитов крови [3, 4], то в последнее время в литературе все чаще появляются сообщения о значимой роли пролиферации именно резидентных макрофагов [3] и даже о фактической независимости этих двух популяций [5]. В связи с этим важным является ответ на вопрос о

том, можно ли расценивать сохранение на относительно постоянном уровне числа циркулирующих в крови моноцитов или даже некоторое его снижение при воспалительном процессе (в случаях, когда можно ожидать их увеличение) как показатель миграции этих клеток в ткани с дальнейшим превращением их там в макрофаги и, следовательно, как достоверный показатель нарастания числа активированных резидентных макрофагов?

Очевидно, что в очаге воспаления соотношение поляризуемых цито- и хемокинов во многом определяет процесс активации и перепрограммирования макрофагов (с преобладанием того или иного фенотипа). Вместе с тем соотношение цито- и хемокинов в крови является интегральным показателем для организма в целом. Оно отражает масштаб перепрограммирования макрофагов не в очаге воспаления, а в организме в целом, т.е. макрофагов, находящихся в различных регионах организма на разных этапах развития патологического процесса. Следовательно, при косвенной оценке активации макрофагов, например, на основе изучения соотношения цитокинов в крови, необходимо учитывать возможное влияние сопутствующих и фоновых заболеваний.

Спектр функций различных фенотипов макрофагов постоянно пополняется. Авторы публикаций все больше склоняются к заключению, что макрофаг является универсальным «менеджером» иммуногенных процессов.

493

V.N. Sakharov, P.F. Litvitskiy

Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation

Algorithm of Macrophage Activation Assessment for Forecasting and Evaluation of Treatment Effectiveness of Human Diseases

Despite the high complexity of macrophage activation and subsequent polarization, determination of the key dynamic features of these processes provides the basis for both assessment of macrophage activation current state and for disease prognosis. To sum it up either macrophage phenotype ratio or polarizing stimulus ratio may be the most important indicators.

Key words: macrophage, activation, reprogramming, inflammation.

(For citation: Sakharov V.N., Litvitskiy P.F. Algorithm of Macrophage Activation Assessment for Forecasting and Evaluation of Treatment Effectiveness of Human Diseases. *Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2015; 70 (4): 493–498. Doi: 10.15690/vramn.v70.i4.1417)

Упрощенно основные эффекты различных фенотипов макрофагов, описанные в современной литературе [6, 7], можно свести к двум: 1) обнаружение и уничтожение микроорганизмов и опухолевых клеток (для макрофагов M_1 -фенотипа); 2) участие в процессах репарации тканей после их повреждения, повышение резистентности организма к паразитарным агентам, регуляция обмена веществ и нежелательное «содействие» опухолевому росту при их активации в регионе опухолевого роста (для макрофагов M_2 -фенотипа). Безусловно, деление макрофагов на M_1 - и M_2 -фенотипы не отражает всего спектра функций различных фенотипов макрофагов, однако оно дает представление об основных эффектах их субпопуляций при различных формах патологии. С учетом этого допускается, что, например, в процессе инфекционного заболевания на ранних его стадиях ключевым является преобладание M_1 -фенотипа макрофагов, а на более поздних (после элиминации возбудителя) — M_2 -фенотипа (и, следовательно, потенцирование репарации тканей).

Сравнение накапливающейся в литературе современной информации с известным подходом к описанию воспаления как интегрального процесса, состоящего из последовательных и частично перекрывающихся этапов альтерации, экссудации, фагоцитоза и пролиферации, позволяет провести определенные параллели. В первом приближении при воспалении на его стадии альтерации повреждающие факторы сами по себе (или образующиеся под их действием вещества) вызывают активацию макрофагов (как правило, с преобладанием M_1 -фенотипа). На стадии экссудации макрофаги M_1 -фенотипа реализуют свои основные функции, в первую очередь обеспечивая эффективную резистентность организма к инфекционным агентам. На стадии пролиферации воспалительного процесса доминируют эффекты M_2 -макрофагов, что обеспечивает эффективную репарацию тканей.

Механизмы реализации функций разных фенотипов макрофагов весьма сложны. Тем не менее для оценки их роли в развитии болезни (с целью определения прогноза и/или оценки эффективности лечения) необходимо использовать максимально значимые, информативные, репрезентативные и в то же время достаточно простые и воспроизводимые показатели. При этом в алгоритме их оценки должно быть учтено то, что избыточное преобладание как M_1 -, так и M_2 -макрофагов приводит к неблагоприятным последствиям для организма (в первом случае в связи с угрозой развития чрезмерно выраженной воспалительной реакции, во втором — ввиду возможной несостоятельности иммунного ответа).

В настоящей работе, во-первых, проанализированы и обобщены результаты исследований динамики содержания различных групп цитокинов в крови, а также состояния активации и изменения фенотипа макрофагов под их влиянием для оценки прогноза отдельных заболеваний человека; во-вторых, базируясь на ключевых закономерностях изменения числа M_1 - и M_2 -фенотипов макрофагов, представлен алгоритм оценки динамики процесса их активации; в третьих, введено и охарактеризовано понятие «индекс преобладающего фенотипа».

Изменения фенотипа макрофагов под влиянием цитокинов в оценке прогноза отдельных заболеваний человека

Паразитарные болезни

Исследование Day и соавт. [8] продемонстрировало, что при тяжелом течении малярии, вызванной *Plasmodium*

falciparum, геометрические средние показатели концентрации интерлейкинов (ИЛ) 6, 10, их отношение и среднее значение концентрации фактора некроза опухоли (ФНО) α оказались значимо выше у пациентов с заболеванием, завершившимся летальным исходом, по сравнению с группой переживших тяжелое течение малярии ($p = 0,0001$; $p = 0,002$; $p = 0,005$; $p = 0,01$, соответственно). Таким образом, при фатальном течении малярии статистически значимо выше ($p = 0,002$) было содержание ИЛ 10, однако концентрация ИЛ 6 повысилась еще больше, что характеризовалось повышенным соотношением ИЛ 6 / ИЛ 10. При оценке частоты развития осложненной малярии установлено, что содержание ИЛ 6, 10, интерферона (ИФН) γ , а также соотношение ИЛ 6 / ИЛ 10 были статистически значимо выше ($p < 0,001$ и $p < 0,05$, соответственно) в группах пациентов, у которых развились гиперпаразитемия и желтуха. В отличие от этого при развитии комы характерными оказались относительно более низкие уровни цитокинов [8].

Обращают на себя внимание особенности динамики выработки цитокинов на протяжении заболевания (по результатам сравнения серии исследований содержания цитокинов у пациентов с заболеванием, завершившимся летальным исходом, в сравнении с группой выживших после тяжелого течения малярии): в фатальных случаях уровень ИЛ 6 значительно нарастал, чего не наблюдали для ИЛ 10, т.е. формировался его относительный недостаток. Day и соавт. сделали вывод о факте существенного нарушения баланса про- и противовоспалительных цитокинов, когда эффекты противовоспалительных не перекрывают таковые провоспалительных цитокинов [8].

Бактериальные инфекции. Сепсис

В исследовании Gogos и соавт. сообщается, что уже при поступлении в клинику пациентов с тяжелым течением сепсиса (завершившимся летальным исходом) были обнаружены статистически значимо более высокие концентрации а также соотношения ИЛ 10 и ФНО α в сыворотке крови ($p = 0,01$) по сравнению с аналогичными данными у выживших пациентов ($p = 0,005$). Значимо более высокое ($p = 0,01$) содержание ИЛ 10 и соотношения ИЛ 10 / ФНО α наблюдали и спустя 48 ч после поступления пациентов. Gogos и соавт. считают, что именно избыточная активность противовоспалительного ответа приводит к летальному исходу заболевания. Примечательно и то, что у пациентов, у которых в пределах 2 сут развивался септический шок, содержание ФНО α , ИЛ 6 и молекул, связываемых преимущественно с противовоспалительным ответом — антагониста рецептора ИЛ 1 (IL-1ra), растворимых рецепторов ФНО α sTNFR-I и -II (но не ИЛ 10), были выше [9].

При описании процесса активации макрофагов на фоне бактериальных инфекций Ka и соавт. указали что преобладание эффектов M_1 -макрофагов имело место не всегда, а многие бактерии, напротив, выработали способность изменять поляризацию макрофагов по типу M_2 -фенотипа. Авторы также обратили внимание на чрезвычайную значимость учета при оценке течения инфекционных заболеваний их стадии и динамики [2].

Magino и соавт. связывают прогноз при микобактериальной инфекции (экспериментальные данные на биологической модели) с конкретным состоянием поляризации макрофагов. При этом быстрое включение сигнала ядерного фактора NF- κ B рассматривается этими авторами как предиктор благоприятного течения инфекции, а сам фактор — как перспективная терапевтическая мишень для обеспечения благоприятного исхода болезни [10].

Ишемическая болезнь сердца и ее проявления

Miettinen и соавт. установлено, что при декомпенсированной острой сердечной недостаточности высокий уровень в плазме крови N-терминального фрагмента предшественника мозгового натрийуретического пептида служит предиктором более высокой летальности, особенно у пациентов с высоким содержанием ИЛ 6 и ФНО α (двенадцатимесячная летальность), а также ИЛ 10 (шестимесячная летальность) [11]. Ohtsuka и соавт. по данным многофакторного анализа показали, что концентрация ИЛ 6 была независимым предиктором ремоделирования миокарда левого желудочка сердца после перенесенного инфаркта и восстановления коронарного кровотока (в исследовании данные собирали в острой фазе и спустя 6 мес) [12].

Посттравматические состояния

При ожоговой болезни существенно повреждаются кожные покровы и слизистые оболочки, что, как правило, сопровождается присоединением инфекции. Следовательно, противовоспалительный компонент механизма развития ожоговой болезни не должен нарушать микробицидной способности иммунных клеток. И действительно, Csontos и соавт. сообщают, что раннее преобладание эффектов молекул противовоспалительного ответа ассоциировано с неблагоприятным прогнозом при тяжелых ожогах. Обнаружено, что превышение в крови у таких пациентов содержания ИЛ 10 при их поступлении в клинику более 14 пг/мл являлось предиктором летального исхода заболевания в отделении интенсивной терапии (при чувствительности 85,4% и специфичности 84,2%) [13].

Новообразования

Факт существенного значения соотношения M_2 - / M_1 -фенотипов макрофагов либо доли M_2 -макрофагов среди общего их числа (определяемого рядом авторов по отношению клеток CD163/CD68) в качестве прогностических показателей продемонстрирован в экспериментальных исследованиях при ряде онкологических заболеваний. Среди них меланомы, отдельные виды Т-клеточной лимфомы и легочной карциномы [14]. Показано также, что использование факторов, обеспечивающих перепрограммирование макрофагов на M_1 -фенотип, положительно сказывается на прогнозе при легочной карциноме и раке молочной железы (на биологических моделях) [15, 16]. Еще более значимым представляется исследование Cornelissen и соавт., которые продемонстрировали, что, во-первых, более высокое соотношение CD163/CD68 статистически значимо отрицательно ($r = 0,72$; $p < 0,05$) коррелировало с продолжительностью жизни пациентов со злокачественной эпителиоидной мезотелиомой плевры, а, во-вторых, что для этого заболевания подобной достоверной корреляции ($r = 0,07$; $p < 0,81$) с числом CD8 лимфоцитов в ткани опухоли выявлено не было [14]. Очевидно, что в структуре противоопухолевого иммунитета, классически ассоциирующегося в основном с Т лимфоцитами (CD8+) и НК клетками, вполне возможно, даже более значимую роль играет поляризация макрофагов.

В связи с описываемыми в литературе функциями различных фенотипов макрофагов нельзя не связать хотя бы частично и другие представленные выше факты с различиями в состоянии процесса активации макрофагов и их двумя глобальными функциями — потенцированием воспаления для M_1 -макрофагов и противовоспалительного ответа — для M_2 .

Формализованное представление процесса активации макрофагов

Проанализировав представленные выше данные, имеем основание заключить, что ключевым фактором для определения прогноза заболевания, особенно включающего воспаление как компонент его патогенеза, а также для оценки эффективности лечения, является именно показатель соотношения различных фенотипов макрофагов. В связи с этим возникает важная задача формализации динамики этого показателя.

Учитывая, что число как M_1 -, так и M_2 -макрофагов в организме в целом и в отдельных его органах и тканях зависит от большого числа поляризующих их агентов (в т.ч. лекарственных препаратов), формирование надежной в повседневной практике модели представляется весьма непростой.

Представляется весьма важным проанализировать изменение не только показателя M_1/M_2 как такового, но и связанных с ним математических показателей. Так, если взять 2 оси в прямоугольной системе координат (рис. 1) и по оси ординат указать число M_1 -макрофагов, а по оси абсцисс — число M_2 , то каждая точка координатной плоскости будет характеризовать конкретное соотношение M_1/M_2 , и наоборот. При этом такие точки не могут выходить за пределы области, ограниченной значением максимального числа макрофагов в тканях. В каждый конкретный момент состояния пациента координаты такой точки будут совпадать с координатами вектора, выходящего из начала координат.

В состоянии здоровья в организме оптимально функционируют механизмы гомеостаза, и большая часть макрофагов остается неактивированной. Теоретически можно представить себе такое состояние, при котором все макрофаги активированы, а эффекты M_1 -макрофагов уравновешиваются эффектами M_2 (т.е. $M_1/M_2 = 1,0$). Это важно в связи с указанными выше проблемами, в т.ч. и тем, что в самом начале заболевания (ввиду малого числа активированных макрофагов) соотношение M_1/M_2 может оказаться непоказательным. Тогда на координатной плоскости точки соотношения M_1/M_2 , отражающие такое состояние, будут расположены на прямой:

$$M_1 = K \times M_2,$$

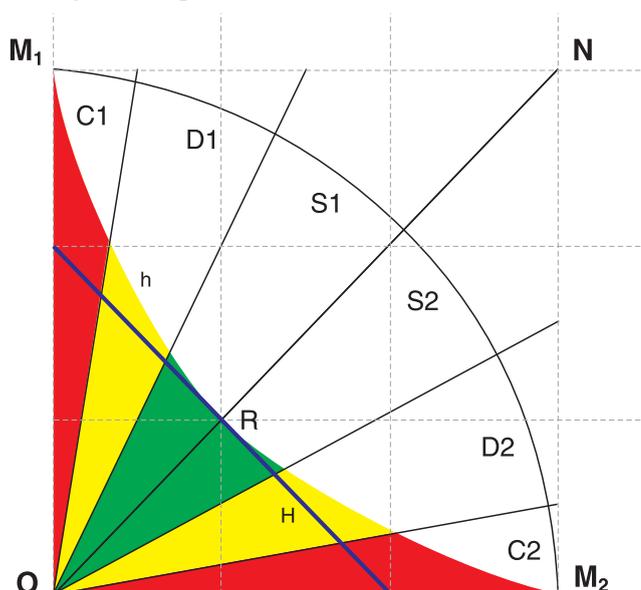


Рис. 1. Координатная плоскость, на которой наглядно можно изучать изменение соотношения M_1/M_2 .

Примечание. Авторство рис. 1–3 — В.Н. Сахаров, П.Ф. Литвицкий.

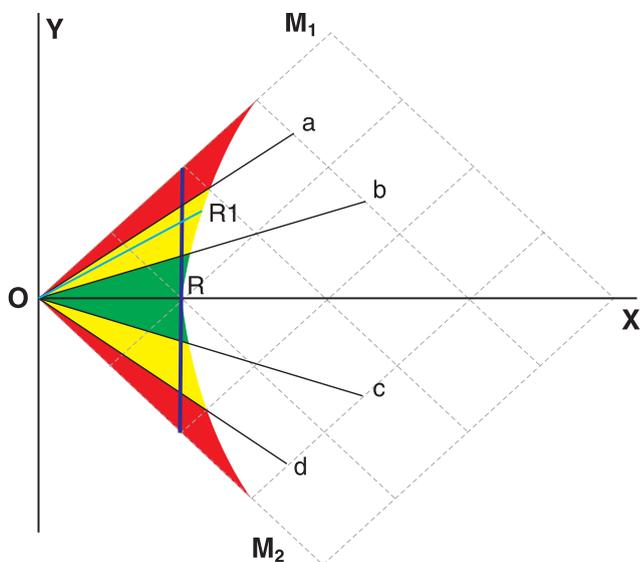


Рис. 2. Введение новых координатных осей.

где K — коэффициент их конкретного соотношения M_1/M_2 , и в данном случае $K=1$. Эта прямая фактически является функцией прямой пропорциональной зависимости двух величин при $K=1$, проходящей через начало координат $(0; 0)$ под углом 45° к осям. На рис. 1 это будет прямая ON .

Известно, что при воздействии повреждающего фактора, как правило, преобладает активация M_1 -фенотипа макрофагов, которая становится показательной по достижении определенного числа активированных M_1 -клеток. Если же в качестве начального значения взять не 0, а нейтральное положение (при среднестатистическом числе макрофагов обозначим это точкой R с соответствующим вектором OR), то вместе с изменениями координат точки R вектор OR вращается относительно $(0; 0)$, смещаясь вначале в область левее исходной прямой ON . Затем OR возвращается обратно, совпадая с исходной прямой, и переходит в область правее от нее. После этого вектор OR вновь отклоняется к исходному положению, что означает завершение заболевания. При этом точка R движется по прямой H в положительной четверти координат (см. рис. 1, синий отрезок), если не учитывается пролиферация клеток.

Таким образом, если не учитывать процесс деления макрофагов (либо привлечения моноцитов крови), то координаты вектора OR в каждый конкретный момент совпадают с координатами одной из точек прямой:

$$M_1 = M_0 - M_2,$$

где M_0 — общее число макрофагов (прямая H). Тем не менее при воспалении закономерно происходит пролиферация резидентных клеток (либо привлечение в ткань моноцитов крови) и гибель активированных макрофагов. В связи с этим условно можно обозначить пролиферацию

макрофагов при воспалении (либо миграцию моноцитов из кровотока) кривой h , которая демонстрирует, что чем больше отклонение вектора от исходной линии, тем большее число макрофагов суммарно присутствует в очаге. Таким образом, область левее исходной линии отражает преобладание M_1 -макрофагов, а правее — преобладание M_2 .

Также очевидно, что отношение скалярной длины конкретного вектора к усредненному исходному может использоваться как показатель интенсивности увеличения (либо снижения) числа макрофагов.

Учитывая то, что эффекты каждого фенотипа макрофагов носят адаптивный характер только в определенных пределах, можно предположить, что области преобладания как M_1 -, так и M_2 -фенотипов макрофагов можно разделить с помощью определенных линий на дополнительные сегменты: зону «нормального» стабильного иммунного ответа (S_1 и S_2), зону «тревоги» (D_1 и D_2), отражающую повышение риска развития осложнений и/или летального исхода, и «критическую зону» (C_1 и C_2), ассоциированную с неблагоприятным прогнозом. Определение границ таких зон представляется чрезвычайно перспективным.

Обобщая представленные выше рассуждения, можно сделать вывод, что основным показателем для прогноза в каждый конкретный момент является степень отклонения вектора OR от исходной линии ON . Это может быть сделано даже при отсутствии данных о конкретной скалярной длине вектора только по изменению соответствующего угла между вектором OR и исходной линией ON , что отражает соотношение M_1/M_2 , но более наглядно демонстрирует «ограниченность» изменения такого соотношения.

Для удобства дальнейших расчетов обозначим соотношение M_1/M_2 как индекс преобладающего фенотипа (index of dominating phenotype, IDP). Тогда индекс, равный 1,0 отражает равновесие между фенотипами индекс >1 — доминирование M_1 -фенотипа макрофагов, а меньший — M_2 . Каждая из указанных выше зон характеризуется своими границами для индекса IDP.

Безусловно, величины конкретных корреляций между степенью смещения вектора (а следовательно, и изменения IDP) и риском развития осложнений при конкретных нозологиях еще предстоит установить, но некоторые принципиальные закономерности уже можно сформировать. Для наглядности введем новые координаты (рис. 2), оси которых расположены по отношению к указанным выше под углом 45° . Изменение угла между вектором OR и осью X (к примеру, угол $XOR1$) во времени отражает уравнение движения точки на конце единичного отрезка, также выходящего от нуля и лежащего на движущемся векторе. В простейшем случае это уравнение колебательного процесса (по аналогии с математическим маятником), который может быть описан через изменение синуса этого угла (максимальное отклонение от оси X — 45°).

Для примера приведем кривую, которая может отражать динамику изменения угла (через его синус) (рис. 3),

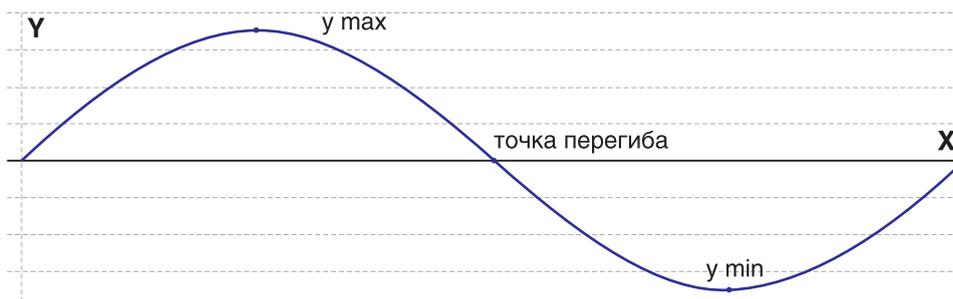


Рис. 3. Оценка перемещения вектора поляризации макрофагов на основе изучения отклонения точки $R1$ от оси X .

где по оси ординат отложены значения синуса рассматриваемых углов, а по оси абсцисс — время.

Представленная на рис. 3 кривая весьма упрощена, но на ней хорошо видно, что функция должна иметь 1 минимум, 1 максимум (когда ее первая производная равна 0) и одну точку перегиба (в примере совпадающую с осью X, при второй производной равной нулю). Положительные значения оси Y отражают преобладание эффектов M₁-макрофагов, а отрицательные — M₂. Несомненно, кривая может растягиваться вдоль оси X, «останавливаясь» на определенном уровне, сопровождаться уменьшением амплитуды отклонения со временем, что будет обусловлено уже тонкими механизмами каждой конкретной нозологии, сопутствующими ей заболеваниями, особенностями реактивности организма, а также проводимым лечением.

Y *max* и y *min* не могут превышать значения синуса угла 45°. Однако приближение к этому показателю характеризует нахождение вектора в той или иной зоне.

Удаление конца вектора от линии ON в динамике, как и увеличение рассматриваемого угла, не соответствующее стадии заболевания, особенностям патогенеза, может рассматриваться как предиктор ухудшения состояния пациента и неэффективности лечения.

Если при заболевании изменяется его «естественное» течение (например, становится благоприятным или неблагоприятным), используются лекарственные препараты и иные воздействия, меняющие поляризацию макрофагов, то изменится и расположение вектора. При этом представляется вероятным тот факт, что чем дальше от линии ON происходит отклонение, тем большее воздействие необходимо произвести на систему, чтобы привести ее к заданному состоянию.

Теперь более очевидно, что в простейшем случае и динамика индекса IDP во времени будет аналогичной. Однако изменения будут происходить относительно прямой y = 1,0, а зоны будут отграничены параллельными прямыми, равными соответствующим пограничным индексам IDP.

Как указано выше, изучение в динамике изменения соотношения именно макрофагов в тканях весьма затруднительно, поэтому представляется перспективным

исследование соотношения поляризующих цитокинов в биологических жидкостях. Установление для каждой зоны на координатной плоскости корреляций между соотношением, во-первых, различных цитокинов (например, в крови или другой биологической жидкости), во-вторых, разных фенотипов макрофагов, в-третьих, рисков развития осложнений, а также изучение эффектов применения препаратов позволит разработать методики диагностики заболевания и медикаментозного вмешательства при нем по алгоритму.

Заключение

Установление границ зон на координатной плоскости дает возможность учитывать для каждого фенотипа макрофагов наличие как благоприятных, так и негативных эффектов, а не только рассматривать один фенотип как «хороший», а другой как «плохой». Это позволит по динамике даже одного из показателей (например, в анализе крови) судить об активации макрофагов различных фенотипов в организме пациента, оценивать эффективность проводимого лечения и формировать представление о прогнозе заболевания. При этом, конечно, необходимо учитывать наличие сопутствующих и фоновых форм патологии, которые могут существенно изменить динамику активации макрофагов различных фенотипов.

497

Источник финансирования

Статья написана в рамках программы подготовки научно-педагогических кадров в аспирантуре, финансируемой за счет средств федерального бюджета.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки / конфликта интересов, о которых необходимо сообщить.

ЛИТЕРАТУРА

- Martinez F. O., Gordon. S. The M1 and M2 paradigm of macrophage activation: time for reassessment. *F1000 Prime Rep.* 2014; 6: 13. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3944738/> (Available: 05.04.2014).
- Ka M.B., Daumas A., Textoris J., Mege J.L. Phenotypic diversity and emerging new tools to study macrophage activation in bacterial infectious disease. *Front. Immunol.* 2014; 5: 500. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4193331/> (Available: 07.12.2014).
- Sica A., Mantovani A. Macrophage plasticity and polarization: in vivo veritas. *J. Clin. Invest.* 2012; 122 (3): 787–795. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3287223/> (Available: 26.11.2014).
- Wang Y., Yang T., Ma Y., Halade G.V., Zhang J., Lindsey M.L., Jin Y.F. Mathematical modeling and stability analysis of macrophage activation in left ventricular remodeling post-myocardial infarction. *BMC Genomics.* 2012; 13 (Suppl. 6): 21. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3481436/> (Available: 11.10.2014).
- Hashimoto D., Chow A., Noizat C., Teo P., Beasley M.B., Leboeuf M., Becker C.D., See P., Price J., Lucas D., Greter M., Mortha A., Boyer S.W., Forsberg E.C., Tanaka M., van Rooijen N., Garcia-Sastre A., Stanley E.R., Ginhoux F., Frenette P.S., Merad M. Tissue resident macrophages self maintain locally throughout adult life with minimal contribution from circulating monocytes. *Immunity.* 2013; 38 (4): 792–804. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3853406/> (Available: 11.10.2014).
- Van Dyken S.J., Locksley R.M. Interleukin-4 and intracellularly mediated alternatively activated macrophages: roles in homeostasis and disease. *Ann. Rev. Immunol.* 2013; 31: 317–343. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3606684/> (Available: 15.04.2014).
- Murray P.J., Wynn T.A. Protective and pathogenic functions of macrophage subsets. *Nat. Rev. Immunol.* 2011; 11 (11): 723–737. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3422549/> (Available: 15.04.2014).
- Day N.P., Hien T.T., Schollaardt T., Loc P.P., Chuong L.V., Chau T.T., Mai N.T., Phu N.H., Sinh D.X., White N.J., Ho M. The prognostic and pathophysiologic role of pro- and anti-inflammatory cytokines in severe malaria. *J. Infect. Dis.* 1999; 180 (4): 1288–1297. URL: <http://m.jid.oxfordjournals.org/content/180/4/1288.full.pdf> (Available: 15.01.2014).
- Gogos C.A., Drosou E., Bassaris H.P., Skoutelis A. Pro- versus anti-inflammatory cytokine profile in patients with severe sepsis: a

- marker for prognosis and future therapeutic options. *J. Infect. Dis.* 2000; 181 (1): 176–180. URL: <http://m.jid.oxfordjournals.org/content/181/1/176.full.pdf> (Available: 15.01.2014).
10. Marino S., Cilfone N.A., Mattila J.T., Linderman J.J., Flynn J.L., Kirschner D.E. Macrophage polarization drives granuloma outcome during Mycobacterium tuberculosis infection. *Infect. Immun.* 2015; 83 (1): 324–338. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25368116> (Available: 16.01.2015).
 11. Miettinen K.H., Lassus J., Harjola V.P., Siirilä-Waris K., Melin J., Punnonen K.R., Nieminen M.S., Laakso M., Peuhkurinen K.J. Prognostic role of pro- and anti-inflammatory cytokines and their polymorphisms in acute decompensated heart failure. *Eur. J. Heart Fail.* 2008; 10 (4): 396–403. URL: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1016/j.ejheart.2008.02.008/pdf> (Available: 15.01.2014).
 12. Ohtsuka T., Hamada M., Inoue K., Ohshima K., Sujzaki J., Matsunaka T., Ogimoto A., Hara Y., Shigematsu Y., Higaki J. Relation of circulating interleukin-6 to left ventricular remodeling in patients with reperfused anterior myocardial infarction. *Clin. Cardiol.* 2004; 27 (7): 417–420. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15298045> (Available: 16.01.2014).
 13. Csontos C., Foldi V., Pálincas L., Bogar L., Röth E., Weber G., Lantos J. Time course of pro- and anti-inflammatory cytokine levels in patients with burns prognostic value of interleukin-10. *Burns.* 2010; 36 (4): 483–494. URL: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S030541790900518X> (Available: 16.01.2014).
 14. Cornelissen R., Lieverse L.A., Maat A.P., Hendriks R.W., Hoogsteden H.C., Bogers A.J., Hegmans J.P., Aerts J.G. Ratio of intratumoral macrophage phenotypes is a prognostic factor in epithelioid malignant pleural mesothelioma. *PLoS One.* 2014; 9 (9): e106742. URL: <http://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0106742> (Available: 16.01.2015).
 15. Ren F., Fan M., Mei J., Wu Y., Liu C., Pu Q., You Z., Liu L. Interferon- γ and celecoxib inhibit lung tumor growth through modulating M2/M1 macrophage ratio in the tumor microenvironment. *Drug Des. Devel. Ther.* 2014; 8: 1527–1538. URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC25284985/> (Available: 16.10.2014).
 16. Na Y.R., Yoon Y.N., Son D.I., Seok S.H. Cyclooxygenase-2 inhibition blocks M2 macrophage differentiation and suppresses metastasis in murine breast cancer model. *PLoS One.* 2013; 8 (5): e63451. URL: <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0063451> (Available: 11.10.2014).

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Сахаров Владимир Николаевич, аспирант кафедры патофизиологии лечебного факультета Первого МГМУ им. И.М. Сеченова

Адрес: 119991, Москва, ул. Трубевская, д. 8, стр. 2, **e-mail:** vladimirsah91@mail.ru

Литвицкий Пётр Францевич, член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой патофизиологии лечебного факультета Первого МГМУ им. И.М. Сеченова

Адрес: 119991, Москва, ул. Трубевская, д. 8, стр. 2, **e-mail:** litvicki@mma.ru

Василий Геннадьевич Акимкин



3 июля 2015 г. исполнилось 50 лет со дня рождения одного из известных ученых в области эпидемиологии и профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, заместителя директора по научной работе НИИ дезинфектологии Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополу-

чия человека, члена-корреспондента РАН, заслуженного врача Российской Федерации, доктора медицинских наук, профессора Акимкина Василия Геннадьевича.

После окончания четырех курсов лечебного факультета Новосибирского государственного медицинского института В.Г. Акимкин был переведен на Военно-медицинский факультет при Томском медицинском институте, который окончил в 1988 г. В период с 1988 по 1991 г. проходил службу в должности старшего врача-специалиста санитарно-эпидемиологической лаборатории окружного учебного центра Киевского военного округа. Участвовал в ликвидации последствий катастрофы на Чернобыльской АЭС в 1988 г. В 1994 г. с отличием окончил факультет руководящего медицинского состава Военно-медицинской академии по специальности «Эпидемиология». В 1995 г. защитил кандидатскую диссертацию на тему «Совершенствование иммунопрофилактики дифтерии в войсках», в 1999 г. — докторскую диссертацию «Эпидемиологические особенности нозокомиального сальмонеллеза, обусловленного *S. typhimurium*, в крупных многопрофильных стационарах для взрослых». Прошел профессиональный путь от старшего врача-эксперта эпидемиологического отдела Центра санитарно-эпидемиологического надзора Министерства обороны Российской Федерации до главного государственного санитарного врача Министерства обороны Российской Федерации (1994–2010). В 2011 г. был назначен заместителем директора по научной работе Научно-исследовательского института дезинфектологии Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, в течение короткого периода времени проявив себя талантливым ученым и организатором научной деятельности в области неспецифической профилактики инфекционных болезней.

За период 2007–2010 гг. В.Г. Акимкиным разработаны и внедрены концептуальные научные основы деятельности санитарно-эпидемиологической службы с учетом реформирования Вооруженных Сил Российской Федерации. На основе совершенствования календаря профилактических прививок и организации дезинфекционных мероприятий в войсках достигнуто существенное снижение уровня заболеваемости среди военнослужащих вирусным гепатитом А, брюшным тифом, гриппом, внебольничными пневмониями и ветряной оспой.

Василий Геннадьевич Акимкин — видный ученый-эпидемиолог, труды которого известны не только в нашей стране, но и за рубежом. Основными сферами научной и практической деятельности В.Г. Акимкина являются:

- организация санитарно-эпидемиологического надзора и профилактики инфекционных болезней в условиях военного времени, локальных конфликтов и чрезвычайных ситуаций;
- совершенствование иммунопрофилактики инфекционных болезней;
- оптимизация системы неспецифической (дезинфектологической) профилактики инфекционных болезней;
- эпидемиология и профилактика инфекционных болезней с различными механизмами передачи возбудителей инфекции;
- совершенствование научных и практических основ обеззараживания воздуха в медицинских организациях;
- совершенствование организационных и методических основ профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП);
- комплексное использование бактериофагов в целях локализации и ликвидации эпидемических очагов инфекционных болезней (в т.ч. внутрибольничных);
- оптимизация системы мероприятий по защите медицинского персонала от ИСМП;
- совершенствование организационных основ и функциональных направлений деятельности врачей-эпидемиологов лечебно-профилактических организаций;
- совершенствование организационных и методических основ эпидемиологически безопасной системы обращения с медицинскими отходами;
- совершенствование системы дополнительного профессионального обучения специалистов, в т.ч. с использованием методов дистанционного обучения.

Научные труды В.Г. Акимкина посвящены изучению проблем эпидемиологии инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, особенностей эпидемиологии инфекционных болезней в организованных коллективах, а также совершенствованию системы дезинфекционных и стерилизационных мероприятий в лечебно-профилактических организациях, иммунной и неспецифической профилактике инфекционных болезней. Им разработана широко применяемая в настоящее время в Российской Федерации и за рубежом эффективная система противоэпидемических мероприятий в очагах нозокомиального сальмонеллеза с использованием адаптированного сальмонеллезного бактериофага, которая позволяет в условиях стационара в короткие сроки локализовать и ликвидировать длительно существующие эпидемические очаги.

В.Г. Акимкиным изучена иммунологическая и эпидемиологическая эффективность отечественного вакцинного препарата против гепатита В в отношении медицинского персонала и отдельных категорий пациентов (онкогематологических больных). Модифицированные методики введения вакцины, защищенные патентом Российской Федерации, показали ее высокую иммунологическую и эпидемиологическую эффективность.

Профессором В.Г. Акимкиным научно обоснованы, разработаны и внедрены в практику эпидемиологически безопасная система методов обращения с медицинскими отходами в Российской Федерации, современное оборудование по очистке и дезинфекции воздуха в лечебно-профилактических организациях. Совместно с

коллективом специалистов ученым разработана Национальная концепция профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи.

В.Г. Акимкин — автор и соавтор более 600 опубликованных научных работ, в том числе 6 монографий, 7 руководств, 2 книг, более 40 методических пособий, указаний и рекомендаций, санитарно-эпидемиологических правил, 2 патентов Российской Федерации на изобретение.

Значительным разделом профессиональной деятельности В.Г. Акимкина является педагогическая работа: с 1999 по 2005 г. занимал должность профессора кафедры эпидемиологии медико-профилактического факультета послевузовского профессионального образования ММА им. И.М. Сеченова, в настоящее время заведует кафедрой дезинфектологии Института профессионального образования Первого МГМУ им. И.М. Сеченова.

Большое внимание В.Г. Акимкин уделяет подготовке научных кадров. Под его научным руководством и консультировании защищены 4 докторские и 17 кандидатских диссертаций.

Важное место в деятельности В.Г. Акимкина занимает организационная и общественная работа. Он руководитель Всероссийского научно-методического центра по неспецифической профилактике инфекционных болезней и мониторингу устойчивости биологических агентов к дезинфекционным средствам; секретарь Экспертного совета по медико-профилактическим наукам Высшей аттестационной комиссии при Министерстве образования и науки Российской Федерации; член Бюро Комиссии по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию Роспотребнадзора; эксперт ВОЗ в области инфекционного контроля по реализации Программы «Развитие стратегии лечения населения Российской Федерации, уязвимо к туберкулезу»; заместитель председателя проблемной комиссии «Дезинфектология» и член проблемной комиссии «Внутрибольничные инфекции» Научного совета по эпидемиологии,

паразитарным и инфекционным заболеваниям РАН; член Президиума и заместитель Председателя Всероссийского научно-практического общества микробиологов, эпидемиологов и паразитологов; член диссертационных советов по специальности «Эпидемиология» при ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора и ФГБУ «НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России; член редакционных коллегий и редакционных советов ряда ведущих научных журналов (Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы — главный научный редактор; Эпидемиология и вакцинопрофилактика; Стерилизация и госпитальные инфекции; Медицинский алфавит. Эпидемиология и гигиена; Дезинфекционное дело; Медицинская паразитология и паразитарные болезни; Вопросы вирусологии; Здоровье населения и среда обитания; Главная медицинская сестра).

В.Г. Акимкин — дипломант Российского конкурса на звание «Лучший врач года» в номинации «Санитарный врач» (2005), лауреат Национальной премии лучшим врачам России «Призвание» в номинации «За вклад в развитие медицины, внесенный представителями фундаментальной науки и немедицинских профессий» (2011). В 2010 г. ему присвоено звание «Заслуженный врач Российской Федерации». Награжден Орденом Почета (2006), а также медалями и почетными грамотами. Имеет благодарности от Министра обороны Российской Федерации, Министра здравоохранения и социального развития Российской Федерации, Главного государственного санитарного врача Российской Федерации, Российской академии медицинских наук, министерств и департаментов здравоохранения регионов и субъектов Российской Федерации.

Редколлегия журнала «Вестник РАМН», друзья, коллеги и ученики от души поздравляют Василия Геннадьевича с юбилеем и желают крепкого здоровья, счастья, долгих лет активной жизни и новых творческих успехов на благо науки и образования, медицины и здравоохранения.

Олег Иванович Киселёв



5 сентября 2015 г. исполнилось 70 лет директору Научно-исследовательского института гриппа, известному ученому-вирусологу, внесшему существенный вклад в решение широкого спектра фундаментальных и прикладных задач в области молекулярной вирусологии, биохимии, генной инженерии, диагностики, химиотерапии и профилактики гриппа и других вирусных инфекций, академику РАН, доктору биологических наук, профессору Олегу Ивановичу Киселёву.

О.И. Киселёв родился в 1945 г. в Магнитогорске. В 1968 г. с отличием окончил 1-й Ленинградский медицинский институт им. акад. И.П. Павлова, в 1971 г. — аспирантуру в Институте экспериментальной медицины. Кандидатская работа молодого ученого была посвящена ядерному и митохондриальному происхождению рибонуклеиновых кислот митохондрий, спустя 10 лет он успешно защитил докторскую диссертацию на тему «Белоксинтезирующие структуры митохондрий и топография биосинтеза митохондриальных белков» по специальности «Биологическая химия».

В 1998 г. решением ВАК РФ ему присвоено звание профессора по специальности «Биологическая химия», в 2000 г. избран членом-корреспондентом, а в апреле 2005 г. — действительным членом Российской академии медицинских наук.

В течение шести последующих лет О.И. Киселёв работал на предприятиях Министерства медицинской промышленности. Научные исследования этого периода относились к области молекулярной биологии генома человека, цитоплазматической наследственности, контроля экспрессии генов у про- и эукариот, генной инженерии продуцентов физиологически активных веществ. В настоящее время О.И. Киселёв возглавляет Всесоюзный научно-исследовательский институт гриппа в Санкт-Петербурге и является его бессменным руководителем вот уже более 25 лет. Под его руководством учреждение стало ведущим вирусологическим научным центром.

О.И. Киселёв является экспертом Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ). В 2011 г. он избран членом Группы советников ВОЗ по подготовке к пандемии (Pandemic Influenza Preparedness Advisory Group, PIP AG), в которой представляет интересы не только Министерства здравоохранения РФ, но и Российской Федерации в целом. О.И. Киселёв возглавляет Национальный центр по гриппу ВОЗ. За работу на высоком научно-методическом уровне по надзору за гриппом и другими вирусными респираторными инфекциями Центр ежегодно получает благодарности от руководства Всемирной организации здравоохранения.

Олег Иванович внес большой вклад в разработку отечественных противовирусных этиотропных химиопрепаратов. Под его руководством выполнены приоритетные работы по созданию и выпуску соединений адамантанового ряда, а также препаратов на полимерных носителях, целенаправленному конструированию противовирусных препаратов ряда азоло-азинов, акридонов, фуллеренов; разработана модель для изучения токсических и апоптогенных свойств при-

онных белков. При непосредственном участии академика О.И. Киселёва выполняется ряд международных проектов по принципиально новым вакцинам против гриппа. Разработаны генно-инженерные препараты против птичьего гриппа и туберкулеза. Выполняются Европейский проект по растительной и живым рекомбинантным delNS-вакцинам, а также федеральные проекты по нанотехнологиям и новому отечественному препарату Триазавирин. При содействии ученого в Институте организовано производство препаратов для диагностики респираторных инфекций у человека.

О.И. Киселёв уделяет серьезное внимание вопросам региональной и глобальной инфекционной безопасности. Он придает большое значение созданной и научно обоснованной на базе НИИ гриппа системе эпидемиологического и этиологического надзора за гриппом и острыми респираторными инфекциями, позволяющей прогнозировать развитие эпидемий на территории РФ и стран СНГ. Особое внимание Олег Иванович уделяет развитию сотрудничества с ВОЗ, укреплению научных контактов с исследовательскими центрами США, Германии, Австрии, Китая; он курирует ряд интернациональных научных проектов.

Результаты научных исследований О.И. Киселёва широко публикуются в отечественной и зарубежной печати. Он автор более 350 научных работ, в том числе 46 изобретений и патентов, 19 монографий, 260 научных статей. Среди них такие фундаментальные работы, как «Прионы и прионные болезни», «Антивирусные препараты для лечения гриппа и ОРЗ. Дизайн препаратов на основе полимерных носителей», «Вирусы папилломы человека в развитии рака шейки матки», «Грипп птиц: происхождение инфекционных биокатастроф», «Фуллерены в биологии», «Химиопрепараты и химиотерапия гриппа», «Беременность, иммуносупрессия, грипп и плацентарная экспрессия эндогенных ретровирусов».

Профессор О.И. Киселёв со всей ответственностью подходит к подготовке молодых молекулярных биологов и инфекционистов высшей квалификации. Под его научным руководством и консультировании подготовлено 4 докторских и 11 кандидатских диссертаций.

Научную работу Олег Иванович успешно совмещает с руководством большим коллективом и научно-общественной деятельностью: он является председателем Комиссии по гриппозным и диагностическим штаммам Министерства здравоохранения Российской Федерации, председателем Диссертационного совета; он также выполняет обязанности члена редакционного совета «Медицинского академического журнала» и заместителя главного редактора журнала «Цитокины и воспаление».

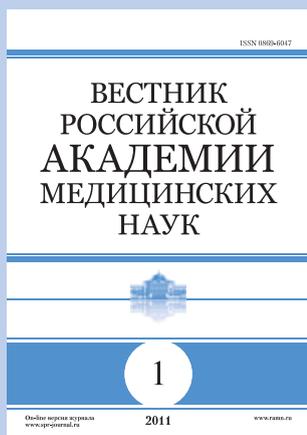
В 2003 г. О.И. Киселёву в составе авторского коллектива присуждена Премия Правительства РФ за разработку технологии, организацию промышленного выпуска и внедрение в медицинскую практику готовых лекарственных форм нового отечественного препарата Циклоферон. В этом же году ученый был удостоен почетного звания «Человек года» в номинации «Врач года» с занесением имени в «Книгу чести и чести России». Указом Президента РФ О.И. Киселёв награжден медалью Ордена «За заслуги перед Отечеством» II степени (2004); дипломом лауреата Национальной ежегодной премии «Лучший руководитель года» (2009), а в 2014 г. ему присвоено почетное звание «Заслуженный деятель науки Российской Федерации».

Редколлегия журнала «Вестник РАМН», многочисленные ученики, коллеги и друзья сердечно поздравляют глубокоуважаемого Олега Ивановича с юбилеем и желают ему крепкого здоровья и дальнейших творческих свершений.

Льготная редакционная подписка



Предлагаем редакционную подписку на Журнал «Вестник Российской медицинской академии наук». Журнал входит в Перечень ВАК. Периодичность выхода журналов 6 раз в год.
Адрес редакции: 119991, Москва, Ломоносовский проспект, д. 2/62.
Телефон/факс: 8 (499) 132-72-04, e-mail: sales@nczd.ru



Извещение	Форма №ПД-4
	<p>ООО Издательство «ПедиатрЪ» <small>(наименование получателя платежа)</small> 7728798571 <small>(ИНН получателя платежа)</small> № 40702810738110016525 <small>(номер счета получателя платежа)</small> В Сбербанке России ОАО, г. Москва <small>(наименование банка и банковские реквизиты)</small> к/с 30101810400000000225 БИК 044525225</p> <p>Подписка на журнал <input type="checkbox"/> Вестник Российской медицинской академии наук Срок: <input type="checkbox"/> полгода <input type="checkbox"/> год Журнал № __ 20 __ г. Журнал № __ 20 __ г. Журнал № __ 20 __ г. Журнал № __ 20 __ г. Журнал № __ 20 __ г. <small>(наименование платежа, нужное отметить)</small></p> <p>Дата _____ Сумма платежа: _____ руб. _____ коп.</p> <p>Информация о плательщике: _____ <small>ФИО, электронная почта, телефон</small></p> <p>Плательщик (подпись) _____</p>
кассир	
Извещение	Форма №ПД-4
	<p>ООО Издательство «ПедиатрЪ» <small>(наименование получателя платежа)</small> 7728798571 <small>(ИНН получателя платежа)</small> № 40702810738110016525 <small>(номер счета получателя платежа)</small> В Сбербанке России ОАО, г. Москва <small>(наименование банка и банковские реквизиты)</small> к/с 30101810400000000225 БИК 044525225</p> <p>Подписка на журнал <input type="checkbox"/> Вестник Российской медицинской академии наук Срок: <input type="checkbox"/> полгода <input type="checkbox"/> год Журнал № __ 20 __ г. Журнал № __ 20 __ г. Журнал № __ 20 __ г. Журнал № __ 20 __ г. Журнал № __ 20 __ г. <small>(наименование платежа, нужное отметить)</small></p> <p>Дата _____ Сумма платежа: _____ руб. _____ коп.</p> <p>Информация о плательщике: _____ <small>ФИО, электронная почта, телефон</small></p> <p>Плательщик (подпись) _____</p>
Кассир	

Редакционная подписка это:

Подписка с любого номера

Теперь подписаться можно с любого номера — на год, на полгода, или на любое количество номеров.

Оплаты и заполнение квитанции

По квитанции в любом отделении Сбербанка РФ. Разборчивым почерком впишите в квитанцию свои личные данные: ФИО получателя, адрес для доставки журнала с индексом, контактный телефон. Отметьте период подписки или отдельно выбранный номер журнала и укажите стоимость. Подтвердите оплату по факсу 8 (499) 132-72-04 или по электронной почте sales@nczd.ru

Сервис обслуживания подписчиков

В случае возникновения вопросов, касающихся Вашей подписки, позвоните нам по телефону 8 (499) 132-72-04. Мы ответим на все Ваши вопросы.

Обратная связь

Вы можете сообщить свои пожелания относительно тематического наполнения журнала. Мы обязательно учтем Ваши пожелания при подготовке будущих номеров. Ваше мнение очень важно для нас.

Стоимость

За текущий год:

полгода (3 номера) — 2250 рублей;
 год (6 номеров) — 4500 рублей

За один номер — 750 рублей



XIX Конгресс педиатров России с международным участием «Актуальные проблемы педиатрии»

12–14 февраля 2016 года

Москва, Краснопресненская набережная, д. 12,
Центр международной торговли, 4-й подъезд

Уважаемые коллеги!

Союз педиатров России приглашает вас принять участие в работе **XIX Конгресса педиатров России с международным участием «Актуальные проблемы педиатрии», IV Всероссийской конференции «Неотложная детская хирургия и травматология», V Евразийского форума по редким болезням, VI Форума детских медицинских сестер и Форума экспертов по детской колопроктологии.**

Программа Конгресса включает вопросы организации медицинской помощи детям, охраны репродуктивного здоровья детей и подростков, питания здорового и больного ребенка, вакцинопрофилактики, высокотехнологичных методов диагностики и лечения болезней детского возраста, школьной медицины, детской хирургии и другие актуальные проблемы. В рамках послевузовского профессионального образования педиатров будут проведены Школы специалистов (повышения квалификации) с выдачей сертификатов.

На церемонии открытия Конгресса — 12 февраля 2016 г. в 18:00 — будут подведены итоги:

- конкурса «Детский врач года» (к участию приглашаются детские врачи всех звеньев системы медицинской помощи детям);
- конкурса «Детская медицинская сестра года» (к участию приглашаются медицинские сестры и фельдшера, оказывающие медицинскую помощь детям);
- конкурса на лучший художественно-исторический очерк по истории российской педиатрии (к участию приглашаются все желающие).

На церемонии закрытия Конгресса — 14 февраля 2016 г. — будут подведены итоги конкурса научных работ молодых ученых.

Заявки на доклады и симпозиумы принимаются до 14 декабря 2015 г., тезисы для публикации — до 12 декабря 2015 г., заявки на участие в конкурсах «Детский врач года», «Детская медицинская сестра года» — до 15 декабря 2015 г., конкурсные работы на лучший художественно-исторический очерк по истории российской педиатрии — до 24 декабря 2015 г., работы на конкурс научных работ молодых ученых — до 9 января 2016 г., регистрация участников Школ — до 18 января 2016 г.

Информацию по вопросам участия в Конгрессе, форумах и выставке, школах специалистов и публикации тезисов можно получить:

- по телефонам в Москве: +7 (499) 134-13-08, +7 (499) 134-30-83, +7 (499) 783-27-93; +7 (495) 967-15-66, +7 (495) 631-14-12, +7 (495) 681-76-65;
- на веб-сайтах: www.pediatr-russia.ru, www.nczd.ru, www.kdcenter.ru, www.spr-journal.ru

Адрес оргкомитета Конгресса:

119991, Москва, Ломоносовский проспект, д. 2, стр. 1, Научный центр здоровья детей

e-mail: orgkomitet@nczd.ru; zmir@sumail.ru



Анастасия Павловна Шицкова



Секция профилактической медицины Отделения медицинских наук РАН с прискорбием сообщает, что 20 августа 2015 г. на 96-м году жизни скончалась выдающийся ученый-гигиенист, профессор, доктор медицинских наук, академик РАН Шицкова Анастасия Павловна.

В 1943 г. после окончания Свердловского государственного медицинского института Анастасия Павловна работала в Башкирии (г. Сибай), где заведовала больницей и руководила медицинским участком. С 1947 г. деятельность А.П. Шицковой неразрывно связана с Московским НИИ гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана, где она последовательно прошла путь от аспиранта, младшего, старшего научного сотрудника до заведующего отделом, ученого секретаря, заместителя директора по науке, а с 1959 по 1990 г. была директором института.

Многолетние экспедиционные наблюдения жилищного и гражданского строительства, экологической ситуации, условий труда, быта, питания и водопотребления среди населения Заполярья, а также моделирование в экспериментальных условиях сурового климата позволили Анастасии Павловне создать новое научное направление в гигиенической науке — гигиену Севера — и сформулировать концепцию комплексной оценки жизнеобеспечения при разработке гигиенических мер оптимизации условий труда, проживания и охраны здоровья жителей региона.

А.П. Шицкова стала одним из основателей научной школы по системному изучению механизмов и закономерностей воздействия на организм человека физических факторов (шума, инфразвука, вибрации) в условиях населенных мест. На основе комплексных натурных и экспериментальных исследований впервые в мировой практике были разработаны гигиенические нормативы и требования по снижению вредного воздействия указанных факторов на население.

Особое место в научном наследии А.П. Шицковой принадлежит исследованиям в области гигиенической регламентации пестицидов, изучению механизмов и закономерностей их действия на организм. В настоящее время это научное направление является приоритетным для деятельности НИИ гигиены, токсикологии пестицидов и химической безопасности ФНЦГ им. Ф.Ф. Эрисмана.

Научные труды и монографии А.П. Шицковой широко известны в нашей стране и за рубежом. Под ее руководством выполнены более 30 докторских и кандидатских диссертаций. Ученики Анастасии Павловны успешно трудятся в различных областях современной профилактической медицины по всему миру.

А.П. Шицкова в течение ряда лет была членом Бюро Отделения гигиены, микробиологии и эпидемиологии АМН СССР; председателем правления Всероссийского общества гигиенистов и санитарных врачей; членом Ученого медицинского совета Министерства здравоохранения РСФСР и Государственной комиссии по санитарно-эпидемиологическому надзору; заместителем председателя Комитета охраны окружающей среды Всесоюзного научно-инженерного общества; членом Совета старейшин РАМН, Экспертного совета ВАК, пленума Комитета советских женщин, редакционного совета Большой медицинской энциклопедии, редакционных коллегий журналов «Гигиена и санитария», «Здоровье», «Медицинская газета» и др.

За доблестный труд в годы Великой Отечественной войны, выдающиеся заслуги в развитии медицинской науки и подготовку кадров А.П. Шицкова удостоена многих высоких государственных наград — орденов Ленина, Октябрьской Революции, Трудового Красного Знамени, Знака Почета, медалей и др.

Научная общественность страны, ученые и коллеги понесли невосполнимую утрату. Светлая память об Анастасии Павловне навсегда останется в сердцах ее близких, учеников и соратников.

Коллектив Федерального научного центра гигиены им. Ф.Ф. Эрисмана, Секция профилактической медицины ОМедН РАН выражают глубокие соболезнования родным и близким Анастасии Павловны