

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК

ВЕСТНИК РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ МЕДИЦИНСКИХ НАУК

Научно-теоретический журнал. Выходит один раз в два месяца. Основан в 1946 г.

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. ХАИТОВ, Е.И. ЧАЗОВ, В.П. ЧЕХОНИН, В.И. ЧИССОВ, Е.В. ШЛЯХТО

НАУЧНЫЙ РЕДАКТОР: А.М. ГОЛУБЕВ

2015/том 70/№5

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.

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 (5)

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 ПЕДИАТРИИ

- Т.С. Кривоногова, Т.А. Шемякина, Ю.А. Бабикова, А.Н. Гаврилова* Психосоматические соотношения при бронхиальной астме у детей **509**
- Д.А. Морозов, Е.С. Пименова, Е.Д. Мирокова* Аденомы щитовидной железы у детей **513**
- Т.В. Свиридова, С.Б. Лазуренко, А.Л. Венгер, Е.В. Комарова, А.С. Потапов, А.С. Буслаева* Исследование психологических особенностей детей и подростков с заболеваниями органов пищеварения **519**

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ОНКОЛОГИИ

- О.С. Кобякова, И.А. Деев, Д.С. Тюфиллин, Е.С. Куликов* Витамин D — новый вектор профилактики онкологических заболеваний? **526**
- О.В. Смирнова, В.Т. Манчук, Ю.Н. Агилова* Клинико-иммунологические особенности инфекционных осложнений у больных множественной миеломой **534**

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ЭНДОКРИНОЛОГИИ

- Т.А. Гребенникова, Ж.Е. Белая, Л.Я. Рожинская, Г.А. Мельниченко, И.И. Дедов* Эпигенетические аспекты остеопороза **541**
- В.А. Карпельев, Ю.И. Филиппов, Ю.В. Тарасов, М.Д. Боярский, А.Ю. Майоров, М.В. Шестакова, И.И. Дедов* Математическое моделирование системы регуляции гликемии у пациентов с сахарным диабетом **549**

НАУЧНЫЕ СООБЩЕНИЯ

- Д.С. Барановский, А.В. Люндуп, В.Д. Паршин* Получение функционально-полноценного мерцательного эпителия *in vitro* для тканевой инженерии трахеи **561**
- Г.А. Бурнашева, Д.А. Напалков* Натрийуретические пептиды: использование в современной кардиологии **568**
- О.В. Калинина, А.Б. Жебрун* Филогенетика популяций вируса гепатита С **573**
- Л.И. Колесникова, С.И. Колесников, Н.А. Курашова, Т.А. Баирова* Причины и факторы риска мужской infertility **579**
- А.В. Орлов, О.П. Ротарь, М.А. Бояринова, А.С. Алиева, Е.А. Дудорова, Е.П. Колесова, Е.В. Могучая, Н.А. Паскарь, В.Н. Солтцев, Е.А. Баранова, А.О. Конради* Гендерные особенности распространенности поведенческих факторов риска у жителей Санкт-Петербурга **585**

PEDIATRICS: CURRENT ISSUES

- T.S. Krivonogova, T.A. Shemyakina, Yu.A. Babikova, A.N. Gavrilova* Psychosomatic Aspects of Bronchial Asthma in Children **509**
- D.A. Morozov, E.S. Pimenova, E.D. Mirokova* Thyroid Adenomas in Children **513**
- T.V. Sviridova, S.B. Lazurenko, A.L. Venger, E.V. Komarova, A.S. Potapov, A.S. Buslaeva* The Study of Psychological Characteristics of Children and Adolescents with Digestive Diseases **519**

ONCOLOGY: CURRENT ISSUES

- O.S. Kobyakova, I.A. Deev, D.S. Tyufilin, E.S. Kulikov* Vitamin D — A New Vector of Cancer Prevention? **526**
- O.V. Smirnova, V.T. Manchuk, Yu.N. Agilova* Clinical and Immunological Features of Infectious Complications in Patients with Multiple Myeloma **534**

ENDOCRINOLOGY: CURRENT ISSUES

- T.A. Grebennikova, Zh.E. Belaya, L.Ya. Rozhinskaya, G.A. Mel'nichenko, I.I. Dedov* Epigenetic Aspects of Osteoporosis **541**
- V.A. Karpel'ev, Yu.I. Filippov, Yu.V. Tarasov, M.D. Boyarsky, A.Yu. Maiorov, M.V. Shestakova, I.I. Dedov* Mathematical Modeling of the Blood Glucose Regulation System in Diabetes Mellitus Patients **549**

SCIENTIFIC REPORTS

- D.S. Baranovsky, A.V. Lyundup, V.D. Parshin* *In vitro* Cultivation of Functioning Passaged Ciliated Epithelium for Trachea Tissue Engineering **561**
- G.A. Burnasheva, D.A. Napalkov* Natriuretic Peptides: Role in Current Cardiology **568**
- O.V. Kalinina, A.B. Zhebrun* Phylodynamic of HCV Populations **573**
- L.I. Kolesnikova, S.I. Kolesnikov, N.A. Kurashova, T.A. Bairova* Causes and Factors of Male Infertility **579**
- A.V. Orlov, O.P. Rotar', M.A. Boyarinova, A.S. Alieva, E.A. Dudorova, E.P. Kolesova, E.V. Moguchaya, N.A. Paskar', V.N. Solntsev, E.A. Baranova, A.O. Konradi* Gender Differences of Behavioral Risk Factors in Saint-Petersburg Inhabitants **585**

- Е.В. Семичев, А.Н. Байков, Н.М. Шевцова, П.С. Бушланов, 592 E.V. Semichev, A.N. Baikov, N.M. Shevtsova, P.S. Bushlanov, E.A. Gereng, A.N. Aleinik* Морфофункциональные изменения селезенки после гемостаза неравновесной плазмой
- О.Н. Сергеева, Н.П. Чеснокова, Е.В. Понукалина, 599 O.N. Sergeeva, N.P. Chesnokova, E.V. Ponukalina, I.E. Rogozhina, T.N. Glukhova* Патогенетическая взаимосвязь эндотелиальной дисфункции и нарушений коагуляционного потенциала крови при беременности, осложненной развитием преэклампсии
- А.Д. Худавердян* Состояние реактивной и личностной тревоги у беременных с пороками развития плода **604 A.D. Khudaverdyan** Condition of State and Trait Anxiety In Pregnant Women with Fetal Malformations
- В.М. Черток, А.Е. Коцюба, М.С. Старцева* Межъядерные интернейроны в стволе мозга человека **608 V.M. Chertok, A.E. Kotsyuba, M.S. Startseva** Interneurons Brainstem of the Human

ЮБИЛЕИ

Геннадий Григорьевич Онищенко

ANNIVERSARIES, CONGRATULATIONS

614 *Gennadii Grigor'evich Onishchenko*

DOI: 10.15690/vramn.v70.i5.1435

Т.С. Кривоногова¹, Т.А. Шемякина¹, Ю.А. Бабикова¹, А.Н. Гаврилова²¹ Сибирский государственный медицинский университет, Томск, Российская Федерация² Центр развития ребенка – детский сад № 96 г. Томска, Томск, Российская Федерация

Психосоматические соотношения при бронхиальной астме у детей

Бронхиальная астма (БА) остается самой распространенной хронической болезнью среди детей, затрагивая 30% детского населения. Цель настоящего обзора — проанализировать и обобщить труды зарубежных и отечественных авторов, в которых оценивали влияние психических расстройств на течение БА у детей. Представлено определение понятия и актуальность изучения БА как психосоматического заболевания. Приведены итоги научных трудов, что позволяет оценить взаимосвязи между степенью тревожности, акцентуацией характера и тяжестью течения БА, а также длительностью заболевания. Показано, что в существующих публикациях поляризуются мнения исследователей относительно причинно-следственных отношений между психологическими сбоями и контролем БА. Дано заключение, что раннее выявление психопатологической симптоматики и своевременное оказание психотерапевтической помощи детям с БА позволит повысить эффективность лечения данной категории пациентов, улучшить социальную адаптацию, скорректировать систему внутрисемейных отношений, что в целом окажет положительное влияние на течение основного заболевания.

Ключевые слова: бронхиальная астма, дети, психические расстройства.

(Для цитирования: Кривоногова Т.С., Шемякина Т.А., Бабикова Ю.А., Гаврилова А.Н. Психосоматические соотношения при бронхиальной астме у детей. *Вестник РАМН.* 2015; 70 (5): 509–512. Doi: 10.15690/vramn.v70.i5.1435)

Актуальность

В последнее время инициируется широкий круг психологических исследований в области соматической медицины. Это связано с популярностью изучения влияния психологических факторов на возникновение и течение различных соматических расстройств [1–3].

Бронхиальная астма (БА) относится к классическим психосоматическим заболеваниям и входит в так называемую психосоматическую семерку (группа психосоматических заболеваний, где скрытый психологический конфликт является этиологией патологических нарушений внутренних органов) [2]. Общеизвестно факт, что психологические факторы выступают одним из компонентов патогенетического комплекса, определяющего развитие и течение БА [1, 2]. Сведения о том, что эмоциональная нагрузка и психологический стресс формируют и вызывают приступ БА, доказывают важную роль психических факторов в патогенезе психосоматических заболеваний [3]. Одним из таких примеров являются аффективные расстройства, связанные с БА, при которых ведущее на-

рушение протекает в виде постоянной конверсии настроения, чаще в направлении угнетения, сопровождаемые тревогой или без нее. Тревожно-депрессивные расстройства среди них имеют отдельную общественную ценность [1, 4].

Цель настоящего обзора — проанализировать и обобщить труды зарубежных и отечественных авторов, в которых оценивали влияние психических расстройств на течение БА у детей.

Результаты

Высказываемые в последнее время мнения относительно психосоматической природы БА весьма противоречивы: от категорического отрицания до столь же категорического утверждения. Так, наряду с демографическими, социальными и клиническими факторами в ряде работ изучали влияние на течение БА психических расстройств (тревога, депрессия) [5–7]. Одни авторы рассматривают депрессию как причину тяжелого течения

509

T.S. Krivonogova¹, T.A. Shemyakina¹, Yu.A. Babikova¹, A.N. Gavrilo²¹ Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation² Child Development Center – Kindergarten № 96, Tomsk, Russian Federation

Psychosomatic Aspects of Bronchial Asthma in Children

Bronchial asthma is the most common chronic disease in children affecting 30% of the child population. The purpose of this review was to analyze and summarize the works of foreign and Russian authors who evaluated the impact of mental disorders on the course of asthma in children. The article presents the definition of asthma as a psychosomatic disease and relevance of the study against this background. The authors adduce the results of research studies which allow us to estimate the interaction between the degree of anxiety, accentuation of the nature, severity of asthma, and the duration of the disease. The existing publications demonstrate that the researchers' opinions are polarized regarding the cause-and-effect relationship between psychological disorders and controlled asthma. The authors came to a conclusion that early detection of psychopathological symptoms and appropriate psychotherapeutic administration would improve the efficacy of treatment in children with bronchial asthma and the social adaptation, adjust the system of family relations, and have a positive effect on the course of the disease.

Key words: bronchial asthma, children, mental disorders.

(For citation: Krivonogova T.S., Shemyakina T.A., Babikova Yu.A., Gavrilo A.N. Psychosomatic Aspects of Bronchial Asthma in Children. *Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2015; 70 (5): 509–512. Doi: 10.15690/vramn.v70.i5.1435)

БА [8–10] и высокого уровня летальности [7–9], другие исследователи считают, что выраженность тревоги и депрессии не влияет на течение заболевания [11]. Повышение частоты тревоги и депрессии у пациентов с БА не доказывает причинно-следственной связи, а может объясняться влиянием общих для астмы и эмоциональной сферы факторов [12].

Дети, страдающие БА, бессильны в проблеме различия эмоциональных трудностей от беспокоящих физических расстройств, для них типичны повышенный отрицательный эмоциональный ореол и более скудная фантазия [13].

В работах В.И. Горемыкина и А.А. Протопопова [14] показано, что у детей с БА постоянно присутствует разлад внутрисемейной связи, отмечается критическое занижение собственных способностей, при этом чрезмерная чувствительность и осторожность способствуют повышенной уровню тревожности, что выражается истероидно-демонстративной стороной характера [15]. В исследованиях установлено наличие обратной зависимости между степенью тревожности и тяжестью БА, а также длительностью болезни [14]. Осознание невыполнимости в достижении жизненных целей, обоснованное волнением по поводу своего отличия от ровесников, при БА развивает боязнь удушья и, как следствие, высокий уровень тревожности [15].

510

Исследования К. Леонгарда указывают на взаимосвязь акцентуации характера с тяжестью течения БА: у детей с легким течением болезни преобладали гипертимные черты (стремление к социализации) в 87 и перепады настроения в 60% случаев; у детей со среднетяжелым течением чаще выявляли экзальтированность (61% обследованных) и демонстративность (68% случаев); для детей с тяжелым течением БА были характерны замкнутость (65%) и возбудимость (58%) [16]. По данным С.И. Овчаренко, больные БА имеют акцентуацию характера с преобладанием эпилептоидных и шизоидных типов, высокий уровень тревожности [17].

В существующих публикациях мнения исследователей в отношении роли тревожно-депрессивных расстройств поляризуются: одни их рассматривают как причину тяжелого течения заболевания и высокого уровня смертности [1, 18], другие авторы, наоборот, утверждают, что эксплицитность этих расстройств не оказывает влияния на течение заболевания [11].

По мнению Ф.Б. Березина и соавт., с психическими изменениями наиболее тесно связаны частота астматических приступов и в меньшей степени их тяжесть, а также содержание иммуноглобулинов в сыворотке крови [6]. В то же время хронические заболевания, к которым относят и аллергические, оказывают отрицательное влияние на психику, обуславливая патологическое формирование личности в детском возрасте. В условиях хронического заболевания у детей и подростков наблюдается готовность к ипохондрическому типу реагирования, возникают невротические и ипохондрические расстройства. Е.Ю. Соловьева [19], изучая детей с БА в возрасте 8–12 лет, исследовала способы психологического ограждения детей и обнаружила наиболее частый механизм психологической борьбы по типу «ухода в болезнь».

Болезнь, манифестируя в раннем возрасте, сохраняет клинические признаки на протяжении всей последующей жизни пациента, что определяет низкое качество жизни и психологические особенности подростков. Более неблагоприятное течение БА способствует ухудшению коммуникаций с ровесниками, что непосредственно ска-

зывается на успеваемости в школе и желании познавать окружающую среду [20].

Ограничение жизненной активности и душевные терзания являются следствием психогенного действия самого заболевания: именно у пациентов с БА в 1,5 раза чаще обнаруживают стрессовые расстройства [21]. С другой стороны, Y. Lu и соавт. показали, что стресс значительно повышает риск развития обострений астмы [22], которые чаще развиваются в первые 2 дня и позднее — на 5–7-й нед после стрессового события. Частота актуальных стрессовых ситуаций в разы выше у пациентов с обострениями астмы, подлежащих госпитализации [23]. При имитации стрессовой ситуации у пациентов с БА возникало чувство заложенности в груди с появлением одышки без клинического ухудшения объективных показателей бронхиальной обструкции. При этом по данным тестов с вдыханием воздуха, обогащенного CO₂, гипокания в этой ситуации не была причиной одышки [24].

Наличие астмы является фактором риска развития тревожных расстройств, и чем тяжелее протекает заболевание у пациентов, лежащих в больнице с обострением БА, тем выше у них уровень тревоги [23]. В такой ситуации астма ассоциируется с повышением частоты тревожных расстройств, в т.ч. панического расстройства и специфической фобии [12, 24, 25]. Вместе с тем тревога ассоциируется со снижением риска смерти от астмы, что может быть обусловлено более осторожным отношением пациентов к провоцирующим факторам и лучшей приверженностью к лечению [24].

S.L. Letitre и соавт. утверждают, что психологические сбои у детей с БА возникают вследствие плохого управления заболеванием. Показано, что дети с хорошо контролируемой астмой не имеют повышенного риска тревожности, депрессии и низкой самооценки [26].

В то же время в другом исследовании [27] показали, что 43,5% пациентов с БА соответствовали критериям по крайней мере одного психиатрического диагноза. Наиболее часто диагностировали депрессию (24%), генерализованное тревожное (20,9%) и паническое расстройство (17,7%). Статистически значимых различий в распространенности тревожных расстройств и депрессии между группами с легкой, среднетяжелой и тяжелой астмой не выявлено.

Y. Lu и соавт. сравнивали психологическое состояние подростков, страдающих БА, и здоровых детей. Установлено, что совокупная распространенность депрессивных и тревожных симптомов значительно выше среди подростков, страдающих хорошо контролируемой БА, чем у группы контроля [28].

По данным ряда авторов, уровень тревоги коррелирует с астматическими симптомами, но не с объективными показателями обструкции. Ученые полагают, что пациенты с БА, сопровождаемой симптомами тревоги, при клинически идентичной степени бронхиальной обструкции воспринимают заболевание как более тяжелое [24, 29].

Тревожно-депрессивные расстройства у больных БА выступают пусковым механизмом для более благоприятного течения заболевания с ухудшением показателей функций внешнего дыхания, большей продолжительностью обострений и, как следствие, увеличением потребности в противоастматическом лечении [1].

Е.Е. Русякова, исследуя группу подростков, страдающих БА, и здоровых подростков, сравнила личностные данные с манерой реагирования в случае фрустрации и выявила наибольшую тревожность и признаки депрессивного синдрома у подростков с БА. При этом тревожно-депрессивная симптоматика с увеличением срока

заболевания и степенью тяжести характеризовалась еще большим «уходом в болезнь», а также с дополнением астенизацией, алекситимией, ипохондрией [30].

Анализируя показатели личностной и ситуативной тревожности в группе больных БА в зависимости от длительности заболевания (по мере ее увеличения), ученые установили некоторое снижение ситуативной тревожности и повышение личностной [2, 29]. При этом образуются как бы характерные ножницы, т.е. в процессе течения болезни ситуативная тревожность, обусловленная развитием болезни, постепенно трансформируется в личностные особенности ребенка [2]. Показано, что у детей, больных БА, преобладают интроверсия и эмоциональная нестабильность, выявляются высокий и очень высокий уровень личностной тревожности, нехарактерный для их здоровых сверстников, а также сниженный уровень самоконтроля. При этом с увеличением степени тяжести заболевания данные показатели приобретают большую выраженность [2, 30].

Сопоставляя группу детей и подростков, больных БА, по течению заболевания и состоянию адаптации (удовлетворительное, неудовлетворительное, напряженное), отмечено, что чем хуже сравниваемые критерии пациентов, тем выше степень их интроверсии [2].

Из индивидуальных качеств у детей с БА преобладают эмоциональная неустойчивость, истероидность, неспособность видеть интересы других людей, снижение восприимчивости к ролевому взаимодействию. У подростков эти качества сменяются подавленной неадекватной агрессией, затруднением в разумном разрешении межличностных отношений, инфантильностью, несамостоятельностью, назойливостью, капризным характером. Волнение относительно своей несхожести со сверстниками подкрепляет страх удушья, формируя тревожность и чувство отверженности [31].

Отношения со сверстниками у детей, больных БА, не ладятся из-за переоценки особенностей характера, неверного предположения о своем месте в коллективе и предвзятой самооценки. Общение таких детей в основном обусловлено настроением, поэтому они тяжело втягиваются в коллектив [2].

Всевозможные представления о своем заболевании у детей разного возраста зависят от собственных психологических особенностей. Понимание ребенком своей болезни в подростковом периоде нуждается во вспомогательной психологической коррекции в силу ряда нервно-психологических качеств этого возраста.

Заключение

Для оптимизации подходов к лечению и профилактике БА следует рассматривать не только основные факторы, влияющие на развитие заболевания, такие как генетическая предрасположенность, загрязнение воздуха, питание, но и особенности личности пациента. Положительное воздействие на течение БА у детей, несомненно, окажет раннее установление психопатологических расстройств и корректное оказание адекватной профессиональной помощи данной категории пациентов, что позволит повысить эффективность лечения, улучшить социальную адаптацию и исправить порядок внутрисемейных отношений.

511

Конфликт интересов

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

ЛИТЕРАТУРА

1. Голубев Н.А. Оптимизация фармакотерапии бронхиальной астмы у больных с аффективными расстройствами. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. *Волгоград*. 2012. 35 с.
2. Психологические особенности детей и подростков с бронхиальной астмой. Уч. пос. Под ред. Е.Б. Романцова, А.Ф. Бабцева, Э.Л. Чупак, О.Б. Приходько, А.Г. Фомина. *Благовещенск: Полусфера*. 2009. 25 с.
3. Brehm J.M., Ramratnam S.K., Tse S.M., Croteaci-Chonka D.S., Pino-Yanes M., Rosas-Salazar C., Litonjua A.A., Raby B.A., Boutaoui N., Han Y.Y., Chen W., Forno E., Marsland A.L., Nugent N.R., Eng C., Colón-Semidey A., Alvarez M., Acosta-Pérez E., Spear M.L., Martínez F.D., Avila L., Weiss S.T., Soto-Quiros M., Ober C., Nicolae D.L., Barnes K.C., Lemanske R.F. Jr., Strunk R.C., Liu A., London S.J., Gilliland F., Sleiman P., March M., Hakonarson H., Duan Q.L., Kolls J.K., Fritz G.K., Hu D., Fani N., Stevens J.S., Almlí L.M., Burchard E.G., Shin J., McQuaid E.L., Ressler K., Canino G., Celedón J.C. Stress and bronchodilator response in children with asthma. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 2015; 192 (1): 47–56.
4. Бердникова Л.В. Качество жизни и тревожно-депрессивные расстройства у больных бронхиальной астмой в сочетании с артериальной гипертензией. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. *Н. Новгород*. 2012. 27 с.
5. Leander M., Lampa E., Rask-Andersen A., Franklin K., Gislason T., Oudin A., Svanes C., Torén K., Janson C. Impact of anxiety and depression on respiratory symptoms. *Respir. Med.* 2014; 108 (11): 1594–600.
6. Березин Ф.Б., Куликова Е.М., Шаталов Н.Н., Чарова Н.А. Психосоматические корреляции при бронхиальной астме. *Журнал неврологии и психиатрии*. 1997; 97 (4): 35–38.
7. Nekam K. Эпидемиология аллергических заболеваний в Центральной и Восточной Европе. *Астма*. 2009; 10 (1): 43–44.
8. Национальная программа «Бронхиальная астма у детей. Стратегия лечения и профилактики». М. 2012. 183 с.
9. Геппе Н.А. Влияние интервальной гипоксической тренировки на качество жизни детей с бронхиальной астмой. *Медицинская помощь*. 2003; 3: 29–33.
10. Маркелова Т.Н. Особенности цитокинового профиля, фармакотерапии и показателей качества жизни у детей дошкольного возраста с бронхиальной астмой. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. *Самара*. 2011. 24 с.
11. Esteban C., Quintana J.M., Aburto M., Moraza J., Egurrola M., Perez-Izquierdo J., Aispiri S., Aguirre U., Capelastegui A. Impact of changes in physical activity on health related quality of life among patients with COPD. *Eur. Respir. J.* 2010; 36 (2): 292–300.
12. Goodwin R.D. Asthma and the risk of panic attacks among adults in the community. *Psychol. Med.* 2003; 33 (5): 879–885.
13. Нагорова А.Ю., Прилепских О.С., Нестова А.В., Зотова М.А., Смирнова Т.Г., Данышина А.Е. Исследование характерологических особенностей детей, больных бронхиальной астмой. *Современные проблемы науки и образования*. 2012; 6. URL: www.science-education.ru/106-7596 (дата обращения: 06.05.2015).
14. Горемыкин В.И., Протопопов А.А., Королёв К.А. Психологические особенности детей с различным течением брон-

- хиальной астмы. Перинатальная психология и медицина. Психосоматические расстройства в акушерстве, гинекологии, педиатрии и терапии. Тезисы докладов Всероссийской конференции. *Иваново*. 2001. С. 272–274.
15. Воронина С.Н., Маскова Г.С. Анализ медико-социально-психологического статуса дошкольника из группы риска по формированию бронхиальной астмы. *Медицинская психология в России. Электронный научный журнал*. 2010; 4. URL: <http://medpsy.ru> (дата обращения: 15.04.2015).
 16. Леонгард К. Акцентуированные личности. *Ростов-на-Дону: Феникс*. 1997. 544 с.
 17. Овчаренко С.И. Контроль течения бронхиальной астмы: психосоматические соотношения и расстройства личности. *Атмосфера. Пульмонология и аллергология*. 2009; 1: 22–25.
 18. Potoczek A., Nizankowska-Mogilnicka E., Bochenek G., Szczeklik A. Astma cieзка i plec chorych a obecność doznanych urazów psychicznych. *Psychiatr. Pol.* 2006; 6: 1081–1096.
 19. Соловьёва Е.Ю. Особенности механизмов психологической защиты у детей с бронхиальной астмой. Конгресс по детской психиатрии. Тезисы докладов. *М*. 2001 С. 23–26.
 20. Кураева Д.А. Влияние детско-родительских отношений на отношение к болезни подростков с бронхиальной астмой. *Бюллетень медицинских интернет-конференций*. 2013; 3 (2): 195.
 21. Adams R.J., Wilson D.H., Daly A.W., Tursan d'Espaignet E., Del Grande E., Ruffin R.E. Psychological factors and asthma quality of life: a population based study. *Thorax*. 2004; 59 (11): 930–935.
 22. Lu Y., Ho R., Lim T.K., Kuan W.S., Goh. D.Y., Mahadevan M., Sim T.B., Ng T.P., van Bever H.P. Psychiatric comorbidities in Asian adolescent asthma patients and the contributions of neuroticism and perceived stress. *J. Adolesc. Health*. 2014; 55 (2): 267–275.
 23. Kolbe J., Fergusson W., Vamos M., Garrett J. Case control study of severe life-threatening asthma (SLTA) in adults: psychological factors. *Thorax*. 2002; 57: 317–322.
 24. Белялов Ф.И., Циринова А.Д. Бронхиальная астма как психосоматическое заболевание. Современное состояние проблемы. В сб. научных статей: Психосоматические и соматоформные расстройства в клинической практике. *Иркутск*. 2007. С. 46–49.
 25. Гладкова К.И., Паршикова И.В., Зайцева О.Г., Агеев М.И., Ложникова Л.Е., Коротеева В.В., Шапкарин В.О. Индивидуально-психологические особенности больных бронхиальной астмой в процессе их социальной адаптации. *Кубанский научно-медицинский вестник*. 2009; 4: 76–78.
 26. Letitre S.L., de Groot E.P., Draaisma E., Brand P.L. Anxiety, depression and self esteem in children with well controlled asthma: case control study. *Arch. Dis. Child*. 2014; 99 (8): 744–748.
 27. Valenca A.M., Falcao R., Freire R.C., Nascimento I., Nascntes R., Zin W.A., Nardi A.E. The relationship between the severity of asthma and comorbidities with anxiety and depressive disorders. *Rev. Bras. Psiquiatr.* 2006; 28 (3): 206–208.
 28. Lu Y., Mak K.K., van Bever H.P., Ng T.P., Mak A., Ho R.C. Prevalence of anxiety and depressive symptoms in adolescents with asthma: a meta-analysis and meta-regression. *Pediatr. Allergy Immunol.* 2012; 23 (8): 707–715.
 29. Feldman J.M., Siddique M.I., Thompson N.S., Lehrer P.M. The role of panic fear in comorbid asthma and panic disorder. *J. Anxiety. Disord.* 2009; 23 (2): 178–184.
 30. Руслякова Е.Е. Психологические особенности личности подростков, страдающих бронхиальной астмой и методы психологической коррекции. Автореф. дис. ... канд. психол. наук. *СПб*. 2004. 18 с.
 31. Рубан А.П., Василевский И.В. Личностные особенности характера детей с бронхиальной астмой и их взаимосвязь с показателями функции внешнего дыхания. *Медицинская панорама*. 2013; 3: 26–28.

512

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Кривоногова Татьяна Сергеевна, доктор медицинских наук, профессор кафедры педиатрии ФПК и ППС СибГМУ
 Адрес: 634050, Томск, Московский тракт, д. 4, тел.: +7 (3822) 53-10-12, e-mail: eukon@inbox.ru

Шемякина Татьяна Анатольевна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры педиатрии ФПК и ППС СибГМУ
 Адрес: 634050, Томск, Московский тракт, д. 4, тел.: +7 (3822) 53-10-12, e-mail: eukon@inbox.ru

Бабикова Юлия Анатольевна, аспирант кафедры педиатрии ФПК и ППС СибГМУ
 Адрес: 634050, Томск, Московский тракт, д. 4, тел.: +7 (3822) 53-10-12, e-mail: flexn@mail.ru

Гаврилова Анастасия Николаевна, старший воспитатель первой квалификационной категории МАДОУ ЦРР – ДС № 96 г. Томска
 Адрес: 634027, Томск, ул. Кошурникова, д. 11, тел.: +7 (3822) 46-62-65, e-mail: nastik31285@mail.ru

DOI: 10.15690/vramn.v70.i5.1436

Д.А. Морозов^{1,2}, Е.С. Пименова^{1,2}, Е.Д. Мирокова¹

¹ Научный центр здоровья детей, Москва, Российская Федерация

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

Аденомы щитовидной железы у детей

Согласно данным литературы, аденомы щитовидной железы весьма редко встречаются в детском возрасте. В обзоре представлены данные современных отечественных и зарубежных авторов, посвященные проблемам диагностики и лечения аденом щитовидной железы у детей. Проведен детальный анализ актуальных исследований по направлениям: эпидемиология, изучение гистологических типов, методы диагностики, хирургическое лечение, отдаленные результаты данной патологии. Кроме того, в обзоре перечислены последние тенденции в отношении изменения оперативных доступов, интраоперационного нейромониторинга. Актуальность проблемы связана с тем, что в последнее десятилетие отмечается резкое количественное увеличение аденом в структуре узловых образований щитовидной железы, увеличение числа больных с множественными аденомами, а также с сочетанной патологией — аденомы с узловым коллоидным зобом, аутоиммунным тиреоидитом и раком у детей. Как истинные эпителиальные неоплазии, аденомы щитовидной железы обладают сходными клиническими и цитогенетическими характеристиками роста с раком щитовидной железы, что часто приводит к диагностическим ошибкам. Необходимость проведения настоящей работы обусловлена еще и тем, что за последние годы подобная систематизация не проводилась.

Ключевые слова: щитовидная железа, дети, аденома, эндокринная хирургия.

(Для цитирования: Морозов Д.А., Пименова Е.С., Мирокова Е.Д. Аденомы щитовидной железы у детей. Вестник РАМН. 2015; 70 (5): 513–518. Doi: 10.15690/vramn.v70.i5.1436)

Введение

Аденомы щитовидной железы в детском возрасте являются актуальной на сегодняшний день проблемой, так как они вызывают наибольшие трудности в дооперационной дифференциальной диагностике узловых образований щитовидной железы (ЩЖ). Кроме того, в последние годы наблюдается увеличение заболеваемости аденомами в структуре узловых образований ЩЖ, увеличение числа случаев с множественными аденомами, а также с сочетанными патологиями — аутоиммунным тиреоидитом, узловым коллоидным зобом и раком [1–3].

Аденомы подразделяют на 4 типа: папиллярные, фолликулярные, токсические и аденомы из клеток Гюртля. Некоторые специалисты не выделяют папиллярную форму как вид аденом, а расценивают как папиллярную форму рака ЩЖ [4]. Кроме того, некоторые авторы считают эти типы вариантами фолликулярной аденомы, а также включают в эту группу такие варианты, как атипичная, светлоклеточная, аденома из С-клеток,

аденолипома, аденохондрома [5]. Приводятся редкие наблюдения неэпителиальных доброкачественных опухолей ЩЖ: соединительнотканых (фибромы, ангиомы, лимфомы) и нейрогенных (невриномы, параганглиомы). В работе С.Б. Пинского и соавт. [5] фигурируют 2 случая доброкачественной опухоли щитовидной железы (гиалинизирующей трабекулярной аденомы). В одном из них наблюдалась прогрессия аденомы в «смешанный» папиллярно-медуллярный рак.

Эпидемиология

Ранняя и своевременная диагностика узловых поражений ЩЖ у детей остается проблемой: недостаточно число сообщений, отсутствует единая база данных. Предполагается, что узлы ЩЖ у детей встречаются в 0,2–5,1% случаев [6], другие исследователи утверждают, что узлы ЩЖ у детей встречаются значительно реже — в 0,05–1,8% случаев [7–9].

D.A. Morozov^{1,2}, E.S. Pimenova^{1,2}, E.D. Mirokova¹

¹ Scientific Centre of Children Health, Moscow, Russian Federation

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

Thyroid Adenomas in Children

According to the papers thyroid nodules are quite rare in the first two decades of life. However, there are some exceptions, relating to areas with an iodine deficiency or affected by radioactive fallout, where the risk of nodules and carcinomas is increased. Therefore, it is a great challenge for the physician to distinguish between benign and malignant lesions preoperatively, and not only in these areas of greater risk. The authors analyzed current works, which are devoted to diagnostics and treatment of adenomas of thyroid gland in children. This literature review is based on works dedicated to epidemiology, histotypes study, and methods of diagnostics, surgical treatment, prognosis and complications of this pathology. The current tendencies in surgical approaches, intraoperative monitoring of recurrent laryngeal nerve are also discussed. The actuality of this problem is connected with last decade increase of adenomas in structure of thyroid gland nodules, increase of number of patients with multiple adenomas and with polyopathias: adenomas with nodular goiter, autoimmune thyroiditis and cancer in children. The difficulties of diagnostic of adenomas are related to the similar clinical symptoms, cytogenetic characteristics of growth of benign and malignant lesions of thyroid gland. Additionally there is no systematic review about thyroid adenomas in children recent years.

Key words: thyroid gland, children, adenoma, endocrine surgery.

(For citation: Morozov D.A., Pimenova E.S., Mirokova E.D., Thyroid Adenomas in Children. Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2015; 70 (5): 513–518. Doi: 10.15690/vramn.v70.i5.1436)

513

Риск малигнизации у детей значительно выше, чем у взрослых. По одним источникам, это 22 против 14% [10, 11], другие авторы считают, что процент малигнизации может достигать 25% [6]. Аденомы из клеток Гюртля склонны к малигнизации в 25–30% случаев у взрослых [12], а у детей эта цифра может достигать 45–50%.

Были замечены определенные закономерности расположения аденом в долях ЩЖ: одиночные аденомы чаще встречались в правой доле органа (54%) [13]. Другие исследователи говорят о преобладании соотношения правая / левая доля как 78/22% [14]. Еще одна особенность распределения патологии связана с полом, возрастом: у взрослых распределение равно 4:1 (ж:м), в возрасте 15–20 лет оно составляет 3:1, а в детском возрасте представлено практически в равных долях — 1,5:1. Хотя существует и иное мнение: соотношение девочки / мальчики равнялось 7,5:1 [14].

В структуре нераковых патологий ЩЖ по частоте встречаемости фолликулярная аденома стоит на втором месте (12,7%), аденома из клеток Гюртля — на третьем (3,2%) [14]. В России у детей, по данным скринингового исследования узловых образований ЩЖ, фолликулярные аденомы составили 4,2% [12, 15]. В то же время изолированные узлы ЩЖ у детей и подростков стали предметом нескольких эпидемиологических исследований, в которых продемонстрировали низкую частоту заболевания (около 20 на 1000 детей) по сравнению со взрослыми пациентами (около 5 на 100) [16]. Весьма противоречивы сведения по встречаемости токсических аденом у детей. Одни авторы регистрировали их в 0,7% случаев наблюдений узлового зоба [17], другие — в 5% обнаруженных узлов ЩЖ [18]. Последнюю цифру с некоторой долей вероятности можно экстраполировать на популяцию в Российской Федерации, имея в виду такую же степень йодного дефицита [19, 20].

Гистологические типы

Чаще всего аденомы ЩЖ имеют фолликулярный тип. Этиология фолликулярных образований ЩЖ остается недостаточно изученной. Основными причинами их возникновения большинство авторов считают ионизирующее излучение, радиоизотопное загрязнение окружающей среды, поступление йода в организм в нерациональных количествах, нарушения нейроэндокринного гомеостаза и генетически детерминированные молекулярные изменения тиреоцитов. Аденомы могут быть одиночными или часто встречаются в ассоциации с многоузловым зобом [6].

Фолликулярные аденомы представляют собой инкапсулированную эпителиальную опухоль яйцевидной формы и различаются по размеру. Обычно фолликулярные аденомы состоят из фолликулов, которые всегда содержат коллоид. Наиболее часто у детей встречаются аденомы, имеющие микрофолликулярное и солидное, реже — макрофолликулярное, трабекулярное, эмбриональное, фетальное, онкоцитарное и атипичное строение [4]. Внутренняя структура меняется в зависимости от вторичных изменений, таких как кровотечение, кистозные изменения, фиброз и кальциноз, которые возможны при данной патологии. Микроскопические фолликулярные аденомы, как правило, не единичны [21]. Фолликулярные аденомы являются наиболее распространенными и характеризуются преобладанием фолликулярных эпителиальных клеток в микрофолликулярном узоре с нехваткой коллоида [22]. При данной патологии не происходит инвазии в капсулу

узла, характерной для фолликулярного рака ЩЖ. Однако сравнительный анализ различных методов исследования при аденомах ЩЖ показал, что использование даже самых современных диагностических методов и их сочетаний не дает возможности до конца решить проблему ранней дифференциальной диагностики аденом ЩЖ и высококодифференцированного фолликулярного рака [12].

Аденома из клеток Гюртля состоит из крупных оксифильных клеток, цитоплазма которых выглядит гранулированной из-за большого числа митохондрий. Атипичи встречаются чаще, чем при фолликулярных аденомах, что, возможно, свидетельствует о злокачественной трансформации [21]. Кроме того, оксифильные клетки трудно отличить от клеток аденокарциномы ЩЖ, и клетки аденомы парашитовидных желез также схожи с оксифильными клетками, что ухудшает качество диагностики [12]. Клетки часто сгруппированы таким образом, что образуют столбчатые структуры [22]. Гистологически образец ткани при аденоме из клеток Гюртля похож на таковой при тиреоидите Хашимото [23].

Токсический узловой зоб (токсическая аденома) или болезнь Пламмера — доброкачественное новообразование ЩЖ, обусловленное наличием одного (82,4%) или нескольких (17,6%) узлов ЩЖ [24], манифестирующих гипертиреозом. Это состояние так же, как и мультинодулярный токсический зоб, более распространено в областях с дефицитом йода. Увеличение концентрации гормонов щитовидной железы чаще всего снижает выработку тиреотропного гормона посредством отрицательной обратной связи, но не до неопределяемых уровней. Нормальная ткань ЩЖ не имеет визуализируемого поглощения йода. Единичная токсическая аденома (автономная неоплазия ЩЖ) представляется в виде одного «горячего» узелка, который характеризуется повышенным поглощением йода [25].

Клиническая картина

Наличие узлов ЩЖ может сопровождаться признаками гипо-, гипер- или эутиреоза. Наиболее распространенным симптомом узла ЩЖ является асимметричность в области шеи. Другие признаки и симптомы могут быть связаны с дисфункцией ЩЖ (гипер- или гипотиреоз), дискомфортом или болью в шее, симптомами сдавления дыхательных путей и пищевода (дисфагия, одышка), увеличением лимфатических узлов, реже — с неврологическими синдромами сдавления (синдром Горнера) или, реже, с множественной эндокринной неоплазией (чаще у мальчиков). Токсические аденомы всегда характеризуются симптомокомплексом тиреотоксикоза разной степени выраженности [26].

Клинические проявления тиреотоксикоза у детей включают потерю веса, усталость, изменения в поведении, непереносимость жары, тремор и зоб. В редких случаях могут встретиться экзофтальм или узловая микседема. Тяжелый гипертиреоз, ассоциированный с гипертермией и тахикардией, образно называют «тиреоидной бурей». Большинство детей с узлами ЩЖ не предъявляет никаких жалоб [6]. Ряд авторов считают при этом, что чем моложе пациент, тем ярче представлены симптомы симпатической стимуляции: беспокойство, психомоторное возбуждение, тремор, малые эпилептические припадки [27]. Токсическая аденома часто вызывает симптомы сдавления дыхательных путей из-за большого размера узла [18]. Размер узла может достигать 4 см и более (7,5%), хотя обычно находится в диапазоне 1–3 см [28].

У некоторых пациентов обращают на себя внимание жалобы на раздражительность, плаксивость, учащенное сердцебиение, нарушение сна, влажность кожных покровов, которые расценивают как симптомы тиреотоксикоза, подтверждающегося затем лабораторно. Наличие гипертиреоза уже на ранних этапах позволяет предположить доброкачественный характер поражения ЩЖ, поскольку изменения тиреоидного статуса для рака нехарактерны [29].

У 73,6% пациентов с фолликулярной аденомой ЩЖ опухолевый узел имеет гипофункционирующий характер, у 7,5% — гиперфункционирующий [15].

При расположении аденомы в правой доле сопутствующий гипертиреозидизм, как правило, протекает тяжелее, предположительно вызывая повышенную васкуляризацию правой доли железы [14].

Аденомы из клеток Гюртля также могут быть ассоциированы с гипертиреозом, хотя обычно характеризуются гипотиреозом [20].

Диагностика

В случае обнаружения пальпируемого узелка должно быть выполнено тщательное физикальное исследование с описанием размера, места нахождения, консистенции, отношения узелка к окружающим тканям (подвижность, спаянность, сдавливание), наличия или отсутствия болезненного синдрома [24].

Измерение содержания тиреотропина, свободного тироксина и свободного трийодтиронина при постановке диагноза является обязательным для оценки функции ЩЖ и дальнейшей диагностики. Повышение концентрации гормонов ЩЖ чаще всего снижает выработку тиреотропного гормона (действие отрицательной обратной связи). Кроме того, необходимо сделать тест на антитела к тиреоглобулину для исключения аутоиммунного процесса. У пациентов с гипертиреозом и наличием одиночного узла ЩЖ вероятным диагнозом является токсическая аденома: поэтому в этом случае показана сцинтиграфия для исследования функции одиночных узелков.

Нормальная ткань ЩЖ не имеет визуализируемого поглощения йода. Единичная токсическая аденома представляется в виде одного «горячего» узелка с повышенным поглощением йода. Важно отметить, что содержание циркулирующего тиреотропного гормона не является показателем тяжести симптомов, обусловленных тиреотоксикозом [25]. Положительные титры антител к тиреоглобулину чаще выявляют в группе с раком (20%), чем у пациентов с фолликулярной аденомой (5%), но их наличие свидетельствует об аутоиммунном процессе [30].

Часто узел ЩЖ находят благодаря ультразвуковому исследованию с цветным доплеровским картированием, магнитно-резонансной или компьютерной томографии органов шеи и груди, выполненным по другим причинам, не связанным с подозрением на наличие узла ЩЖ. В 18% случаев обнаружение происходит при исследовании радиогрифическими методами, в 41% — в ходе осмотра врачом, в 41% — родителями пациентов [31].

Ультразвуковое исследование является «золотым стандартом» диагностики узлов ЩЖ и используется как скрининговый метод. Последовательно проводят эхотомографию, эховоломометрию. При этом описывают эхогенность, эхоструктуру капсулы, контуров всей железы и узлового образования. К косвенным признакам доброкачественности относят ровные контуры узла, высокую или

неизменную эхогенность, однородность структуры, наличие капсулы узла, участков кистозной дегенерации и гипоехогенного halo-ободка — суммарного эхосигнала от оттесненных узлом фолликулов, кровеносных и лимфатических сосудов. Признаками злокачественности считают неровные контуры, сниженную эхогенность, неоднородную структуру и отсутствие halo-ободка [29]. Некоторые авторы регистрировали утолщение капсулы при аденомах ЩЖ у 95% обследуемых [15], наличие кальцинатов — у 15%, halo-ободка — у 61%.

Эластография как метод исследования узлов ЩЖ был недавно введен в клиническую практику, чтобы облегчить идентификацию доброкачественных и злокачественных узлов. Этот метод, который широко используют в диагностике патологии молочных желез и печеночных узловых заболеваний, позволяет изучить плотность узелков, анализируя скорость упругой волны при прохождении через ткани. Свое применение метод нашел в результате того, что злокачественные узлы, как правило, плотнее доброкачественных. В настоящее время только в одном исследовании была проведена сравнительная оценка этого метода в диагностике узлов ЩЖ [17]. Эластография имеет большой потенциал в качестве нового инструмента в диагностике узлов щитовидной железы, особенно в узелках с неопределенной цитологией, снижая число биопсий до 60% случаев [32].

Пациенты с гипертиреозом демонстрируют преимущественно центральную васкуляризацию, больший диаметр узелка, большую способность к накоплению радиофармпрепарата. Некоторые специалисты считают сцинтиграфию более показательным методом при гипертиреозидизме, чем биопсию [31, 33, 34].

В ходе доплеровского картирования при токсических аденомах регистрируется явная гиперваскуляризация. При этом существуют данные [35] о выделении 4 типов сосудистого рисунка:

- I тип — аваскулярные узлы с отсутствием кровотока в самом узле и вокруг него;
- II тип — узлы с перинодулярной васкуляризацией, наличием огибающих сосудов по периферии;
- III тип — узлы со смешанной пери- и интранодулярной васкуляризацией за счет периферических огибающих и внутриузловых сосудов;
- IV тип — узлы с интранодулярной васкуляризацией, кровоснабжающиеся только за счет внутриузловых сосудов.

I, II тип тиреоидного кровотока свидетельствуют в пользу доброкачественного процесса, тогда как III, IV говорят о более вероятной злокачественности, при том что отдельные авторы типом III сосудистого рисунка считают внутриузловое усиление кровотока, а IV — мелкоочаговое усиление кровотока, свойственное аутоиммунному тиреоидиту [29]. Также характерным признаком токсической аденомы считается асимметрия васкуляризации за счет усиления кровотока на стороне поражения по тиреоидным артериям [36].

При аденомах ЩЖ повышенная васкуляризация отмечается в 21–25%, пониженная — в 28–30%, умеренная — в 43–46% наблюдений.

«Золотым стандартом» дооперационной диагностики любых узловых поражений ЩЖ является тонкоигольная биопсия под контролем ультразвукового исследования. Исторически безопасность этой процедуры в педиатрии ставилась под сомнение, утверждались такие минусы, как дискомфорт, малая диагностическая точность, высокая частота побочных эффектов: папиллярная эндотелиальная гиперплазия, кровоизлияния, пролиферации

сосудов, тромбозы сосудов, фиброз с кистозными изменениями, инфаркт и образование абсцессов [37]. Однако последние исследования показали, что большинство детей переносят данный метод исследования без каких-либо нежелательных явлений [16].

Существует отдельное мнение [38], что достаточно сложно утверждать о необходимости выполнения биопсии конкретному пациенту. В числе параметров, говорящих «за», — гипозохогенность узла, стертые границы узла, высокая концентрация кальцитонина, микрокальцификаты, увеличение лимфатических узлов, усиленный кровоток внутри узла. Если лимфаденопатии и других перечисленных критериев не наблюдается, проводить биопсию нужно только в случае, если узел не уменьшается или увеличивается в размере даже при лечении L-тироксина. В последние годы принято проводить тонкоигольную биопсию под контролем ультразвукового исследования для достижения большей диагностической точности. Тонкоигольная биопсия в среднем имеет 98% чувствительность, 83,3% специфичность, 89,1% диагностическую точность [18]. Кроме того, для достижения большей диагностической ценности некоторые специалисты проводят тонкоигольную аспирационную биопсию (полипозиционно, под контролем ультразвукового исследования) [12].

516

Ограничения тонкоигольной аспирационной цитологии у детей заключаются в технически более сложном исполнении данной процедуры в связи с особенностями анатомии маленьких пациентов, потребности в седации, а также необходимости проведения гистологического исследования опытной командой, т.к. из-за морфологических различий разная оценка результатов может привести к получению ложноотрицательных результатов [39]. При фолликулярной аденоме распространенной диагностической ошибкой является установление ложного диагноза рака ЩЖ [40].

Узлы ЩЖ фолликулярной структуры обычно имеют «подозрительную» цитологию, поэтому биопсия в этом случае не вносит достаточной ясности. В подобных случаях проводят тотальную тиреоидэктомию. То же самое и в случае с аденомой из клеток Гюртля [41].

Лечебная тактика

Лечение включает терапию тиростатическими препаратами, радиоактивным йодом, хирургическое лечение [4, 42].

Исторически считалось, что оперативное вмешательство при аденомах нужно выполнять только при условии сдавления окружающей ткани или быстром росте узла. Однако в последнее время консенсус состоит в удалении любой гипер- и неоплазии ЩЖ у ребенка.

Лечение токсических аденом включает хирургию и терапию радиоактивным йодом. Также применяют метод склеротерапии спиртом от 1 до 8 мл. В предоперационном периоде, при наличии тяжелой формы токсикоза показана тиреостатическая терапия. Риск радиоактивно-индуцированного гипотиреоза в одиночных токсических узелках минимален, поскольку происходит подавление поглощения в окружающей ткани ЩЖ. При одиночной токсической аденоме показана лобэктомия, тогда как при множественных более предпочтительно лечение радиоактивным йодом [41]. В то же время другие исследователи утверждают, что и при единичных, и при множественных узлах хирургическое лечение в случае токсической аденомы является вариантом вы-

бора [34]. Рекомендуется также проводить тиреоидэктомию в случае аденомы из клеток Гюртля и фолликулярной аденомы [41].

Хирургическое лечение

Хирургические варианты ведения пациента с узлом ЩЖ включают лобэктомию с истмусэктомией или субтотальную тиреоидэктомию [43]. Некоторые авторы считают, что резекция доли железы может проводиться только в том случае, если диагноз аденомы аргументирован, и узел не превышает 1 см в диаметре, с четкими ровными контурами, однородной изоэхогенной структурой и «гипозохогенным венчиком», т.е. при наличии достоверных признаков аденомы при ультразвуковом исследовании и отсутствии каких-либо признаков атипичности по данным цитологического исследования [12].

Преимущества лобэктомии с истмусэктомией по сравнению с тиреоидэктомией, главным образом состоят в минимизации рисков травматизации контрлатерального возвратного гортанного нерва и парашитовидных желез. Однако определенным недостатком является возможный рост узла в противоположной доле, который отмечается у значительной (26%) части пациентов, перенесших лобэктомию, в среднем через 4 года после операции [44, 45]. При этом доказано, что риск рецидива узла ЩЖ в контрлатеральной доле выше у пациентов с предшествовавшим аутоиммунным поражением ЩЖ [46]. И заместительную терапию гормонами необходимо будет начинать примерно в 50% случаев после лобэктомии, сразу после операции.

При отслеживании пациентов после лобэктомии при фолликулярной аденоме было выяснено, что терапия L-тироксина может предотвращать образование новых узлов в контрлатеральной доле [47].

В последнее время в практике хирурга-эндокринолога используется множество нововведений. Одним из них является низкий передний малый доступ при выполнении хирургического вмешательства по поводу аденомы ЩЖ, который уже доказал свою состоятельность. Традиционный доступ в 6–8 см имеет явный недостаток: косметологический дефект в виде шрама после хирургического лечения, серьезно влияющий на качество жизни пациентов.

Низкий передний малый доступ зависит от длины шеи и локализации поражения, проводится без разделения платизмы и отделения от подподязычных мышц. Таким образом, хирургический разрез является незаметным и миниатюрным, не оставляет никаких видимых шрамов и позволяет достичь хорошего косметического эффекта [48].

Кроме того, разработан эндоскопический метод лечения с применением малоинвазивного доступа, который считается некоторыми хирургами оптимальным также из-за своего хорошего косметического эффекта [42]. Однако другие специалисты считают, что при использовании эндоскопической тиреоидэктомии некоторые осложнения, такие как повреждение парашитовидных желез, возвратного гортанного нерва, дисфункция щитовидной железы, послеоперационные кровотечения, встречаются чаще [49, 50].

Осложнения и хирургические трудности

Хирургические трудности связаны с идентификацией возвратного гортанного нерва, который объективно меньше, чем у взрослых. Некоторые хирурги считают, что

использование увеличительного устройства (бинокулярного увеличительного стекла или операционного микроскопа), обеспечивающее более надежную идентификацию нерва, является необходимым в практике детского хирурга-эндокринолога [47].

В то же время существуют работы, указывающие на то, что процент осложнений у детей — такой же, как у взрослых [51]. Поражение возвратного гортанного нерва — нередкое осложнение. Возможными нарушениями, связанными с поражением возвратного гортанного нерва, могут быть осиплость голоса, парез и паралич, частота которого варьирует от 1 [53] до 18% [54]. Немалую опасность представляет вариабельность анатомии расположения возвратного гортанного нерва. Возвратный гортанный нерв без возвратного хода встречается в 0,5–2,2% случаев, причем гораздо реже слева (всего 0,04%) [52, 55]. Введение в практику хирурга-эндокринолога аппаратного нейромониторинга существенно облегчает визуализацию нерва [56].

Другое наиболее часто встречающееся осложнение после операции на щитовидной железе — гипокальциемия вследствие повреждения паращитовидных желез. У детей хроническая послеоперационная гипокальциемия отмечается в 5,5–25% случаев [54]. Высказывают различные предположения об этиологии данного состояния. Одни авторы указывают на отсутствие идентификации железы и ее резекции [57], другие — на деваскуляризацию

железы во время диссекции, кратковременную гемодилюцию, выход кальцитонина во время операции и синдром «голодных костей» (гипофосфатемия в сочетании с гиперкальциемией у пациентов после лечения гипертиреоза) [58]. Описана методика реимплантации паращитовидных желез во избежание гипокальциемии [59].

В сравнении с традиционной хирургией, эндоскопическая резекция аденом ЩЖ имеет специфические осложнения, в т.ч. подкожную эмфизему и раздражение кожи [49, 50].

Заключение

Современное состояние проблемы лечения аденом ЩЖ в детском возрасте определяется задачами точной дооперационной диагностики, стремлением к органосохраняющим операциям под контролем возвратных нервов и паращитовидных желез и грамотной диспансеризацией пациентов.

Конфликт интересов

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

517

ЛИТЕРАТУРА

1. Трошина Е.А., Мазурина Н.В., Абесадзе И.А., Юшков П.В., Егорычева Е.К. Фолликулярная неоплазия щитовидной железы. *Проблемы эндокринологии*. 2006; 1: 22–25.
2. Аристархов В.Г., Пузин Д.А., Донюков А.И., Аристархов Р.В. Качественные изменения морфологии многоузлового зоба на современном этапе. *Международный эндокринологический журнал*. 2008; 3.
3. Хамидуллин Р.Г., Чернышев В.А., Зинченко С.В. Диагностика и лечение аденом щитовидной железы. *Практическая медицина*. 2005; 2 (11): 33–34.
4. Хмельницкий О.К. Цитологическая и гистологическая диагностика заболеваний щитовидной железы. *СПб: СОТИС*. 2002. С. 228–288.
5. Пинский С.Б., Белобородов В.А. Аденома щитовидной железы. *Сибирский медицинский журнал*. 2010; 94 (3): 73–77.
6. Niedzela M. Pathogenesis, diagnosis and management of thyroid nodules in children. *Endocr. Relat. Cancer*. 2006; 13: 427–453.
7. Wiersinga W.M. Management of thyroid nodules in children and adolescents. *Hormones (Athens)*. 2007; 6 (3): 194–199.
8. Huang S.A. Thyromegaly. In: *Pediatric Endocrinology*. F. Lifshitz (ed.). NY: Inf. Health USA. 2007. P. 446–447.
9. Dinauer C.A., Breuer C., Rivkees S.A. Differentiated thyroid cancer in children: diagnosis and management. *Curr. Opin. Oncol*. 2008; 20 (1): 59–65.
10. Dinauer C., Francis G.L. Thyroid cancer in children. *Endocrinol. Metab. Clin. North Am*. 2007; 36 (3): 779–806.
11. Gupta A., Ly S., Castroneves L.A., Frates M.C., Benson C.B., Feldman H.A. A standardized assessment of thyroid nodules in children confirms higher cancer prevalence than in adults. *J. Clin. Endocrin. Metab*. 2013; 98: 3238–3245.
12. Ветшев П.С., Чилингарики К.Е., Габидзе Д.И. Аденомы щитовидной железы. *Хирургия*. 2005; 7: 4–8.
13. Agha A., Jung E.M., Janke M., Hornung M., Georgieva M., Schlitt H.J., Schreyer A.G., Stroszcynski C., Schleider S. Preoperative diagnosis of thyroid adenomas using high resolution contrast enhanced ultrasound (CEUS). *Clin. Hemorheol. Microcirc*. 2013; 55 (4): 403–409.
14. Gupta A., Ly S., Castroneves L.A., Frates M.C., Benson C.B., Feldman H.A., Wassner A.J., Smith J.R., Marqusee E., Alexander E.K., Barletta J., Doubilet P.M., Peters H.E., Webb S., Modi B.P. Thyroid nodules and cancer in children and adolescents affected by autoimmune thyroiditis. *Arch. Pediatr Adolesc. Med*. 2008; 162 (6): 526.
15. Боберь Е.Е., Фролова И.Г., Чойнзонов Е.Л. Современные возможности диагностики рака щитовидной железы. *Сибирский онкологический журнал*. 2013; 5 (59): 59–65.
16. Hung W. Solitary thyroid nodules in 93 children and adolescents. A 35 years experience. *Horm. Res*. 1999; 52: 15–18.
17. Tonacchera M., Pinchera A., Vitti P. Assessment of nodular goitre. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metab*. 2010; 24: 51–61.
18. Corrias A., Mussa A., Baronio F., Arrigo T., Salerno M., Segni M., Vigone M.C., Gastaldi R., Zirilli G., Tuli G., Beccaria L., Iughetti L., Einaudi S., Weber G., De Luca F. Diagnostic features of thyroid nodules in pediatrics. *Arch. Pediatr. Adolesc. Med*. 2010; 164: 714–719.
19. World Health Organization. Vitamin and Mineral Nutrition Information System (VMNIS). URL: http://who.int/vmnis/iodine/data/database/countries/ita_idd.pdf. (Available: 23.12.2009).
20. Delange F. Iodine deficiency in Europe and its consequences: an update. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*. 2002; 29 (Suppl. 2): 404–416.
21. Galatà G., Schulte K.M. Management of the thyroid nodule. *Surgery (Oxford)*. 2014; 32 (Issue 10): 531–536.
22. Mechanick J.I., Carpi A. Progress in the preoperative diagnosis of thyroid nodules: managing uncertainties and the ultimate role for molecular investigation. *Biomed. Pharmacother*. 2006; 60: 396–404.
23. Sakorafas G.H., Sampanis D. and Safioleas M. Cervical lymph node dissection in papillary thyroid cancer: Current trends, persisting controversies, and unclarified uncertainties. *Surg. Oncol*. 2010; 19 (Issue 2): 57–70.

24. Гостимский А.В., Скородок Ю.Л., Дитковская Л.В. Токсическая аденома щитовидной железы у детей. *Вестник хирургии им. И.И. Грекова*. 2007; 166 (2): 89–90.
25. Trzepak P.T., Klein I., Roberts M., Greenhouse J., Levey G.S. Graves' disease: an analysis of thyroid hormone levels and hyperthyroid signs and symptoms. *Am. J. Med.* 1989; 87: 558–561.
26. Wong C.P., AuYong T.K., Tong C.M. Thyrotoxicosis: a rare presenting symptom of Hurthle cell carcinoma of the thyroid. *Clin. Nucl. Med.* 2003; 28 (10): 803–806.
27. Boelaert K., Torlinska B., Holder R.L., Franklyn J.A. Older subjects with hyperthyroidism present with a paucity of symptoms and signs: a large cross sectional study. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2010; 95: 2715–2726.
28. Koike E., Noguchi S., Yamashita H., Murakami T., Ohshima A., Kawamoto H., Yamashita H. Ultrasonographic characteristics of thyroid nodules. *Arch. Surg.* 2008; 136: 334–337.
29. Морозов Д.А., Филиппов Ю.В., Напольников Ф.К., Гончарь В.Ф., Карпов С.А., Бучарская А.Б. Аденомы щитовидной железы у детей. *Детская хирургия*. 2005; 2: 14–16.
30. Autonomous adenomas caused by somatic mutations of the thyroid stimulating hormone receptor in children. Grob F., Deladoëy J., Legault L., Spigelblatt L., Fournier A., Vassart G., Van Vliet G. *Horm. Res. Paediatr.* 2011; 81 (2): 73–79.
31. Gupta A., Ly S., Castroneves L.A., Frates M.C., Benson C.B., Feldman H.A., Wassner A.J., Smith J.R., Marqusee E., Alexander E.K., Barletta J., Doubilet P.M., Peters H.E., Webb S., Modi B.P. Thyroid nodules and cancer in children and adolescents affected by autoimmune thyroiditis. *Arch. Pediatr. Adolesc. Med.* 2008; 162 (6): 526.
32. Rago T, Vitti P. Role of thyroid ultrasound in the diagnostic evaluation of thyroid nodules. *Best Pract Res. Clin. Endocrinol. Metab.* 2008; 22: 913–928.
33. Lewis C.M., Chang K.P., Pitman M., Faquin W.C., Randolph G.W. Thyroid fine needle aspiration biopsy: variability in reporting. *Thyroid*. 2009; 19 (7): 717–723.
34. Cooper D.S., Doherty G.M., Haugen B.R., Kloos R.T., Lee S.L., Mandel S.J., Mazzaferri E.L., McIver B., Pacini F., Schlumberger M., Sherman S.L., Steward D.L. American Thyroid Association Guidelines Taskforce. Management guidelines for patients with thyroid nodules and differentiated thyroid cancer. *Thyroid*. 2006; 16: 109–142.
35. Ионова Е.А. Ультразвуковая оценка васкуляризации узловых образований щитовидной железы. *Ангиология*. Электронный журнал. 2011; 1.
36. Морозов Д.А., Филиппов Ю.В., Горяйнов В.Ф. Селективная доплерометрия в дифференциальной диагностике гиперваскуляризованных узлов щитовидной железы у детей. *Ультразвуковая и функциональная диагностика*. 2000; 3: 61–64.
37. Gutman P.D., Henry M. Fine needle aspiration cytology of the thyroid. *Clin. Lab. Med.* 1998; 18: 461–482.
38. Hung W. Solitary thyroid nodules in 93 children and adolescents. A 35 years experience. *Horm. Res.* 1999; 52: 15.
39. Saavedra J., Deladoëy J., Saint-Vil D., Boivin Y., Alos N., Deal C., Van Vliet G., Huot C. Is ultrasonography useful in predicting thyroid cancer in children with thyroid nodules and apparently benign cytopathologic features? *Horm. Res. Paediatr.* 2011; 75: 269–275.
40. Castro M.R., Gharib H. Continuing controversies in the management of thyroid nodules. *Ann. Intern. Med.* 2005; 142 (11): 926–931.
41. Mijovic T., Rochon L., Gologan O., Hier M.P., Black M.J., Young J., Payne R.J. Fine needle aspiration biopsies in the management of indeterminate follicular and Hurthle cell thyroid lesions. *Otolaryngol. Head Neck Surg.* 2009; 140: 715–719.
42. Truran P. and Aspinall S. Thyrotoxicosis and thyroiditis. *Surgery (Oxford)*. 2014; 32 (10): 537–542.
43. Sakorafas G.H., Perros G., and Farley D.R. Thyroid nodules: does the suspicion for malignancy really justify the increased thyroidectomy rates? *Surg. Oncol.* 2006; 15: 43.
44. Marchesi M., Biffoni M., Faloci C., Biancari F., and Campana F.P. High rate of recurrence after lobectomy for solitary thyroid nodule. *Eur. J. Surg.* 2002; 168: 397–400.
45. Khairy G.A. Solitary thyroid nodules: the risk of cancer and the extent of surgical therapy. *East Africa Med. J.* 2004; 81: 459–462.
46. Niepomniszcze H., Garcia A., Faure E., Castellanos A., del Carmen Zalazar M., Bur G., Elsner B. Long term follow up of contralateral lobe in patients hemithyroidectomized for solitary follicular adenoma. *Clin. Endocrinol. (Oxford)*. 2001; 55: 509–513.
47. Astl J., Dvorakova M., Vlcek P., Vesely D., Matucha P., Betka J. Thyroid surgery in children and adolescents. *Int. J. Pediatr. Otorhinolaryngol.* 2004; 68: 1273–1278.
48. Zh. Zh. Pak. Efficacy comparison of the anterior low small incision and the traditional incision for treatment of thyroid adenoma. *J. Med. Sci.* 2014; 30 (5): 1119–1122
49. Wang Z., Li C., Wang W. The endoscopic assisted small incision thyroid surgery. *Chinese J. Otorhinolaryngol. Head Neck Surg.* 2007; 14: 401–402
50. Wang C., Wu D., Zhang J. Endoscopic thyroidectomy treatment of nodular goiter. *Chinese J. Endoscopy.* 2008; 14: 552–555
51. Hegedus L., Nygaard B., and Hansen J.M. Is routine thyroxine treatment hinder postoperative recurrence of nontoxic goiter justified? *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1999; 84: 756–760.
52. Burke J.F., Sippel R.S., and Chen H. Evolution of pediatric thyroid surgery at a tertiary medical center. *J. Surg. Res.* 2012; 177: 268–274.
53. Sherman J., Thompson G.B., Lteif A., Schwenk W.F. 2nd, van Heerden J., Farley D.R., Kumar S., Zimmerman D., Churchward M., Grant C.S. Surgical management of Graves disease in childhood and adolescence: an institutional experience. *Surgery*. 2006; 140: 1056–1061.
54. Karnak I., Ardicli B., Ekinci S., Ciftci A.O., Orhan D., Kale G., Tanyel F.C., Senocak M.E. Papillary thyroid carcinoma does not have standard course in children. *Pediatr. Surg. Int.* 2011; 27: 931–936.
55. Henry J.F., Audiffret J., Denizot A., Plan M. The non recurrent inferior laryngeal nerve: review of 33 cases, including two on the left side. *Surgery*. 1988; 104: 977–984.
56. White W.M., Randolph G.W., Hartnick C.J., Cunningham M.J. Recurrent laryngeal nerve monitoring during thyroidectomy and related cervical procedures in the pediatric population. *Arch. Otolaryngol. Head Neck Surg.* 2009; 135 (1): 88–94.
57. Lee N.J., Blakey J.D., Bhuta S., Calcaterra T.C. Unintentional parathyroidectomy during thyroidectomy. *Laryngoscope*. 1999; 109: 1238–1240.
58. Raval M.V., Browne M., Chin A.C., Zimmerman D., Angelos P., Reynolds M. Total thyroidectomy for benign disease in the pediatric patient feasible and safe. *J. Pediatr. Surg.* 2009; 44: 1529–1533.
59. Kim Y.S. Impact of preserving the parathyroid glands on hypocalcemia after total thyroidectomy with neck dissection. *J. Korean Surg. Soc.* 2012; 83: 75–82.

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

Пименова Евгения Сергеевна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры детской хирургии и урологии-андрологии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова
Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, **e-mail:** evgeniyarimeno@list.ru

Мирокова Екатерина Дмитриевна, студентка 6-го курса Первого МГМУ им. И.М. Сеченова
Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, **тел.:** +7 (495) 705-00-45, **e-mail:** kotemirokova@gmail.com

DOI: 10.15690/vramn.v70.i5.1437

Т.В. Свиридова, С.Б. Лазуренко, А.Л. Венгер, Е.В. Комарова, А.С. Потапов, А.С. Бушлаева

Научный центр здоровья детей Минздрава России, Москва, Российская Федерация

Исследование психологических особенностей детей и подростков с заболеваниями органов пищеварения

Цель исследования: изучить психологические особенности детей с различными хроническими заболеваниями органов пищеварения и установить основные факторы, влияющие на процесс формирования личности. **Методы:** проведено сплошное проспективное исследование психологических особенностей детей с болезнями органов пищеварения, наблюдавшихся в Научном центре здоровья детей Минздрава России (Москва). В качестве методов исследования были использованы анализ медицинской и педагогической документации, включенное наблюдение, беседа, опросный и проективный методы. **Результаты:** обследовано 125 пациентов в возрасте 7–17 (средний возраст 12,4) лет с болезнями органов пищеварения, из них подростков — 68 (54%), младших школьников — 57 (46%). Число мальчиков преобладало над числом девочек (2:1). В исследовании подтверждено наличие связи и взаимного влияния 3 факторов — физического состояния, социальной ситуации развития и индивидуальных психологических характеристик детей. По психологическим особенностям детей можно было объединить в 3 группы: I (n = 47; 37,6%) — дети в тяжелом психологическом состоянии, у большинства из которых (n = 37; 78,7%) заболевание находилось в активной стадии, требующей интенсивной медицинской помощи; II (n = 59; 47,2%) — дети с неустойчивым психологическим состоянием и высоким риском невротизации личности, у многих из которых (n = 45; 76,3%) заболевание находилось в стадии нестойкой клинической ремиссии с сохраненными или компенсированными функциями органов и систем организма либо неполной компенсацией функций, требующей длительного поддерживающего лечения; III (n = 19; 15,2%) — пациенты с относительно стабильным психологическим состоянием и высокой психологической уязвимостью в ситуации стресса, у большинства из которых (n = 17; 89,5%) болезнь перешла в стадию клинической ремиссии с редкими обострениями, с сохраненными или компенсированными функциями, требующую регулярного контроля врачами-специалистами. **Заключение:** большинство детей с болезнями органов пищеварения имеют психологические трудности, и их личность формируется в искаженных социальных условиях, ввиду чего они нуждаются в психолого-педагогической поддержке и создании специальных психолого-педагогических условий для реализации их психологического и познавательного потенциала. При составлении программы психолого-педагогической помощи необходимо учитывать возраст ребенка на момент возникновения болезни, этиологию и степень тяжести заболевания ребенка, длительность, характер и выраженность несоответствия социальных условий среды его возрастным и индивидуальным психологическим потребностям.

Ключевые слова: заболевания органов пищеварения, развитие личности, хроническая болезнь, психолого-педагогическое сопровождение.

(Для цитирования: Свиридова Т.В., Лазуренко С.Б., Венгер А.Л., Комарова Е.В., Потапов А.С., Бушлаева А.С. Исследование психологических особенностей детей и подростков с заболеваниями органов пищеварения. *Вестник РАМН*. 2015; 70 (5): 519–525. Doi: 10.15690/vramn.v70.i5.1437)

519

T.V. Sviridova, S.B. Lazurenko, A.L. Venger, E.V. Komarova, A.S. Potapov, A.S. Buslaeva
Scientific Centre of Children's Health of the Ministry of Healthcare, Moscow, Russian Federation

The Study of Psychological Characteristics of Children and Adolescents with Digestive Diseases

Objective: The present study was aimed at the psychological characteristics of children with different chronic diseases of the digestive system and the identification of key factors influencing the formation of their personality. **Methods:** The continuous prospective study of psychological peculiarities of 125 patients (7–17 y.o.) with diseases of the digestive system who have been monitored at Scientific Centre of Children's Health (Moscow) was performed. As research methods were used: analysis of medical and pedagogical documentation, participant observation, educational experiment, interview, questionnaires and projective methods. **Results:** The study involved 125 patients aged 7–17 years (12.4 averagely) with diseases of the digestive system including teens — 68 (54%), primary school pupil — 57 (46%). The number of boys significantly prevailed over the number of girls (2:1). The study confirmed the existence of a close relationship and mutual influence of three factors: the physical condition, social situation of development, and individual psychological characteristics of children. According to the psychological characteristics the children can be combined in three groups: Group I (47 of 125 people; 37.6%) — children with bad psychological status. This is most typical for children with active form of chronic diseases requiring intensive medical assistance (37 of 47 people; 78.7%). Group II (59 of 125 people; 47.2%) — children with instable psychological condition, with risk of neurotization. This group mainly comprises patients with chronic diseases at the stage of unstable clinical remission with preserved or compensated functions of organism bodies and systems or with incomplete compensation of functions requiring long term supportive treatment (45 of 59 people; 76.3%). Group III — patients with rather stable psychological condition (19 of 125 people; 15.2%). It comprises patients with rather stable psychological condition, anyway, with expressed psychological vulnerability in stress situation. Most children suffer from chronic diseases of different etiology at the stage of clinical remission with rare aggravations, with preserved or compensated functions, provided there are no aggravations of the basic disease (17 of 19 people; 89.5%). **Conclusion:** Most children with diseases of the digestive system have the psychological difficulties, while their identity is often formed in the distorted social conditions. Therefore, these children need psychological and pedagogical support, as well the special psychological and pedagogical conditions for the realization of their mental and cognitive capacities. To put together a program of psychological and educational assistance we should take into account the child's age at the moment of occurrence of the disease, etiology, duration and severity of the illness, the nature and degree of non-compliance of social environmental.

Key words: digestive system diseases, personal development, chronic disease, psychological & pedagogical monitoring.

(For citation: Sviridova T.V., Lazurenko S.B., Venger A.L., Komarova E.V., Potapov A.S., Buslaeva A.S. The Study of Psychological Characteristics of Children and Adolescents with Digestive Diseases. *Vestnik Rossijskoi Akademii Meditsinskikh Nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2015; 70 (5): 519–525. Doi: 10.15690/vramn.v70.i5.1437)

Обоснование

Известно, что болезнь не только оказывает отрицательное воздействие на развитие и формирование организма, но и препятствует полноценному развитию психики, становится одной из трудностей на пути к социальной адаптации ребенка.

В научной литературе отмечено, что многие функциональные заболевания желудочно-кишечного тракта протекают на фоне переживаний пациентами эмоционального стресса [1–3]. Для большинства детей и подростков с хроническими болезнями органов пищеварения характерны особенности эмоциональной сферы — депрессия [4, 5], тревога и астения [6, 7] проявления. Ярким примером воздействия болезни на психическое развитие служит снижение работоспособности и познавательных возможностей у детей с наследственными заболеваниями из группы ферментопатий [8].

Специфические социальные условия, которые создаются в ситуации длительной хронической болезни (например, склонность родителей к гиперопеке, разлука с родителями у школьников, ограничения социальной активности у подростков), часто приводят к искажению развития личности, снижению качества жизни ребенка и его семьи [9]. В частности, у школьников с хроническими заболеваниями (на материале хронического гастродуоденита) наблюдаются такие личностные особенности, как высокий уровень тревожности, алекситимия, несформированность образа «Я», нарушение процессов целеполагания, занижение идеалов личности, низкий уровень притязаний, низкая стрессоустойчивость и склонность к депрессивным реакциям [10, 11]. Важно отметить, что перечисленные выше психологические и личностные особенности больного ребенка не только препятствуют развитию его социальной компетентности, но и снижают эффективность лечения [12].

Вместе с тем приверженность современных исследователей к изучению психологических особенностей пациентов отдельных нозологических групп, отсутствие учета взаимодействия биологического и социального факторов в формировании детской личности (состояния здоровья, тяжести и прогноза болезни; социальной ситуации, возрастных и индивидуальных потребностей пациентов) обусловили наличие в литературе фрагментарных и разрозненных сведений о психологическом состоянии и адаптивных возможностях маленьких пациентов в ситуации болезни [13–15]. Это препятствует разработке алгоритма комплексной психолого-педагогической помощи детям в процессе лечения [16–18].

Целью нашего исследования стало изучение психологических особенностей детей с различными хроническими заболеваниями органов пищеварения и выявление основных факторов, влияющих на процесс формирования личности.

Методы

Дизайн исследования

Проведено сплошное проспективное исследование.

Критерии соответствия

В исследуемую группу включали детей школьного (7–17 лет) возраста с болезнями органов пищеварения.

Условия проведения

Все дети получали комплексную медико-психолого-педагогическую помощь в Научном центре здоровья детей Минздрава России (Москва).

Продолжительность исследования

Исследование проводилось в период с 2012 по 2015 г.

Описание медицинского вмешательства

В стандартную процедуру обследования входили диагностические консультации ребенка, беседа с врачом и родителями. Ее проводили в кабинете психолога в индивидуальной форме. Длительность одного обследования составляла 1 ч. Число встреч и объем психодиагностического инструментария подбирали индивидуально в зависимости от физического и психологического состояния пациентов.

Исходы исследования

Основным направлением обследования стало изучение психологических особенностей ребенка — эмоционально-волевой и мотивационной сфер личности, его самосознания, поведения и общения, а также его социальной ситуации развития [19].

Методы регистрации исходов

Диагностику личностного развития ребенка, особенностей межличностной ситуации развития осуществляли в рамках концепции психолого-педагогического консультирования младших школьников и подростков по А.Л. Венгеру [20]. Использованы следующие методы исследования: анализ медицинской и педагогической документации (дефектологическое и логопедическое заключение), наблюдение, беседа, опросный и проективный методы. Обследование пациентов включало комплекс методик, подобранных в зависимости от возраста и физических возможностей ребенка. В обследовании младших школьников применяли методики «Рисунок человека», «Лесенка самооценки», «Цветовой тест отношений», тест «Три желания». Для диагностики подростков использованы «Рисунок человека», «Методика исследования самооценки Т.В. Дембо – С.Я. Рубинштейн» (модифицированный вариант шкалы А.М. Прихожан), «Незаконченные предложения», «Опросник самоотношения» [21]. Анализ данных производили с помощью качественного и количественного метода. Последнему были подвергнуты данные, полученные при помощи методик «Шкала депрессии Бэка» (вариант для школьников), «Лесенка самооценки», «Методика исследования самооценки по Т.В. Дембо – С.Я. Рубинштейн», «Опросник самоотношения». Эти методики позволили оценить степень тяжести психологического состояния и глубину внутриличностных переживаний детей [21].

Этическая экспертиза

Проведение исследования одобрено Локальным этическим комитетом Научного центра здоровья детей (заседание от 01.09.2015 г.).

Статистический анализ

Статистическая обработка данных выполнена при помощи программы SPSS (США). Для анализа качественных данных (результатов наблюдения, рисунков, незаконченных предложений) использовали методы описательной статистики, критерий углового преобразования Фишера. Анализ количественных данных по опросным методикам проведен с помощью критерия Манна–Уитни, коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Ко-

личественные результаты представлены в виде средних арифметических баллов, начисленных в соответствии с ключом методики. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,001$.

Результаты

Участники исследования

Всего обследовано 125 пациентов, из них 67 (54%) подростков и 58 (46%) младших школьников. Возраст больных составил от 7 до 17 (средний возраст 12,4) лет. Число мальчиков преобладало над числом девочек (2:1). Средняя продолжительность заболевания равнялась 3,5 годам.

В обследовании приняли участие дети с заболеваниями органов пищеварения, включенными в следующие нозологические группы:

- болезни пищевода, желудка и двенадцатиперстной кишки (K20-31) — хронический гастродуоденит, язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки, гастроэзофагеальная рефлюксная болезнь — 39 (31,2%);
- болезни желчного пузыря, желчевыводящих путей, поджелудочной железы (K80-87) — функциональные нарушения моторики желчного пузыря и сфинктеров, хронический холецистит, желчнокаменная болезнь — 33 (26,4%);
- болезни печени (K70-77) — хронический вирусный гепатит С, фиброз и цирроз печени, портальная гипертензия — 7 (5,6%);
- воспалительные заболевания кишечника (K50-51) — язвенный колит и болезнь Крона — 41 (32,8%);
- нарушения обмена веществ (E70-90), а именно наследственные и метаболические болезни печени (болезни накопления) — болезнь Вильсона, гликогеновая болезнь, тирозинемия — 5 (4%).

Согласно этиологии и степени тяжести состояния, пациенты были разделены в соответствии с группами здоровья: группа II — 42 (34%), III — 65 (52%), IV — 13 (10%) и V — 5 (4%). Основное заболевание сочеталось с болезнями нервной и сердечно-сосудистой системы в 35 (28) и 17 (14%) случаях, соответственно.

Основные результаты исследования

Анализ показал, что все дети с хроническими болезнями органов пищеварения согласно личностным и психологическим особенностям могут быть условно объединены в 3 группы: группа I — дети в тяжелом психологическом состоянии — 47 (37,6%); группа II — дети в неустойчивом психологическом состоянии с риском невротического развития личности — 59 (47,2%); группа III — пациенты с относительно стабильным психологическим состоянием, выраженной психологической уязвимостью в ситуации стресса — 19 (15,2%) (табл. 1). Значимость установленных различий в группах подтверждена с помощью экспертного анализа случаев, проведенного профессиональными психологами, а также методов математической обработки данных ($p < 0,001$).

Наиболее сильное влияние на психологическое состояние оказывают возраст ребенка на момент возникновения болезни, степень тяжести заболевания, длительность, характер и степень выраженности несоответствия социальных условий среды его возрастным и индивидуальным психологическим потребностям, что подтверждается результатами корреляционного анализа ($p < 0,001$).

Группы наблюдения

Группу I ($n=47$; 37,6%) составили дети в тяжелом психологическом состоянии с эмоциональной подавленностью, высоким уровнем тревоги, высокой интен-

Таблица 1. Характеристика групп детей с заболеваниями органов пищеварения с различной степенью тяжести психологического состояния

Характеристика группы	Группа I ($n=47$; 37,6%)	Группа II ($n=59$; 47,2%)	Группа III ($n=19$; 15,2%)
Психологическое состояние	Дети в тяжелом эмоциональном состоянии	Дети в неустойчивом психологическом состоянии с риском невротизации	Дети в относительно стабильном эмоциональном состоянии с выраженной психологической уязвимостью в ситуации стресса
Физическое состояние	Активная стадия болезни ($n=37$; 78,7%), требующая неотложной медицинской помощи (продолжительностью от 3 нед и более)	Нестойкая клиническая ремиссия болезни ($n=45$; 76,3%), предполагающая длительное лечение в условиях круглосуточного стационара (продолжительностью от 2 нед 2–3 раза в год) и диспансерное наблюдение	Клиническая ремиссия болезни с редкими обострениями ($n=17$; 89,5%), требующая систематического диспансерного наблюдения в амбулаторно-поликлинических условиях и проведения лечебно-профилактических мероприятий
Структура заболеваемости	Болезни пищевода, желудка и двенадцатиперстной кишки ($n=11$; 23,4%); болезни желчного пузыря, желчевыводящих путей и поджелудочной железы ($n=7$; 14,9%); болезни печени ($n=2$; 4,2%); воспалительные заболевания кишечника ($n=25$; 53,1%); болезни накопления ($n=2$; 4,3%)	Болезни пищевода, желудка и двенадцатиперстной кишки ($n=21$; 35,6%); болезни желчного пузыря, желчевыводящих путей и поджелудочной железы ($n=17$; 28,8%); болезни печени ($n=4$; 6,8%); воспалительные заболевания кишечника ($n=14$; 23,7%); болезни накопления ($n=3$; 5,1%)	Болезни пищевода, желудка и двенадцатиперстной кишки ($n=7$; 36,7%); болезни желчного пузыря, желчевыводящих путей и поджелудочной железы ($n=9$; 47,4%); болезни печени ($n=1$; 5,3%); воспалительные заболевания кишечника ($n=2$; 10,6%)
Особенности социальной ситуации развития	Резкое изменение привычного жизненного стереотипа ребенка, необходимость соблюдения строгого режима лечения, выраженное сужение привычных видов деятельности и общения с близкими ($n=47$; 100%)	Необходимость соблюдения лечебного режима, ограничивающего физическую и социальную активность (в частности, домашнее обучение, диета, ограничение в контактах), сужение привычных форм деятельности ($n=50$; 84,7%)	Включенность ребенка в систематическую деятельность и общение наравне со здоровыми сверстниками, завышенные психофизические нагрузки, не соответствующие психофизическим возможностям ($n=16$; 84,2%)

Таблица 2. Особенности психологического состояния детей группы I, в зависимости от их возраста (значимость различий подтверждена с помощью углового преобразования Фишера; $p < 0,001$)

Критерии наблюдения	Младшие школьники ($n = 19$; 62%)	Подростки ($n = 16$; 58,5%)
Актуальные внутриличностные переживания	Ситуативность негативных переживаний (на фоне отсутствия привычных для ребенка видов деятельности, страха болевых ощущений и болезненных медицинских процедур, разлуки с родителями), зависимость от той информации, которую им сообщали взрослые, а также от степени эмоционального комфорта / дискомфорта в общении с ними	Устойчивость негативных переживаний, связанных с опасениями за свою жизнь, склонность к повышенной аутосимпатии (защитного характера) на фоне высокого уровня внутриличностной конфликтности, болезненного отношения к «телесному Я», низкого уровня развития ожидаемого положительного отношения со стороны других людей
Особенности поведения	Пассивная реакция (подчинение требованиям взрослых и сужение спектра деятельности до безразличного наблюдения за происходящим в палате)	Активная неустойчивая реакция (от повышенной внушаемости, ориентировки на мнение взрослых до чрезмерной требовательности, игнорирования социальных норм в общении, эгоцентризма)

сивностью и реактивностью негативных переживаний, выраженными трудностями эмоционально-волевой саморегуляции (см. табл. 1). Это состояние характерно для пациентов с болезнью в активной стадии, требующей оказания медицинской помощи ($n = 37$; 78,7%).

Длительные ощущения телесного дискомфорта, физического истощения сопровождались подавленным настроением, опасениями за свою жизнь, фиксацией на мучительных переживаниях боли, желанием как можно быстрее от них избавиться и вернуться домой.

Более чем у половины младших школьников ($n = 19$; 62%) и подростков ($n = 16$; 58,5%) с обострением болезни, находившихся на интенсивном лечении, были обнаружены некоторые различия в характере и содержании переживаний (табл. 2). Эти различия имели прямую связь с психологическим возрастом (который мог не совпадать с паспортным). У остальных детей группы I ($n = 12$; 25,5%) значимых различий в психологическом статусе не обнаружено.

Таким образом, психологическое состояние детей и подростков данной группы в первую очередь определялось тяжестью физического состояния. Оно в большей степени зависело от выраженности болевых ощущений, характера течения болезни и физического дискомфорта в процессе выполнения врачебных манипуляций и в меньшей — от возрастных и личностных особенностей пациента. Мониторинг тяжести психического состояния ребенка в процессе лечения, выбор специалистами адекватной стратегии общения, систематическая эмоциональная поддержка близких и медперсонала способствовали снижению негативных эмоциональных переживаний.

Таблица 3. Психологические трудности детей, находившихся на длительном лечении в круглосуточном стационаре в зависимости от их возраста (средние арифметические значения значимость различий подтверждена с помощью углового преобразования Фишера; $p < 0,001$)

Младшие школьники ($n = 31$)	Подростки ($n = 28$)
Трудности совладания с тревожными ожиданиями физически и психологически дискомфортных диагностических процедур (например, фиброгастроскопии, колоноскопии) — у 21 (67,7%)	Выраженное эмоциональное напряжение, связанное результатами обследования, неясным/отрицательным прогнозом заболевания — у 24 (85,7%)
Нереализованная потребность в систематической эмоциональной поддержке со стороны значимых взрослых — у 27 (87,1%)	Нереализованная потребность в эмоциональной поддержке значимых взрослых и сверстников — у 25 (89,3%)
Трудности адаптации в связи с необходимостью проявления самостоятельности (соблюдение режима, выполнение лечебных требований, установление новых контактов, саморегуляция эмоционального состояния) — у 24 (77,4%)	Трудности адаптации в связи с несоответствием стиля общения взрослых с подростками, их потребностям в проявлении самостоятельности (склонность взрослых к гиперопеке) — у 18 (64,3%)
Недостаточная включенность в различные формы систематической деятельности (в т.ч. учебную, творческую, продуктивную) — у 25 (80,6%)	Недостаточная реализация потребности в социальной активности в условиях стационара — у 19 (67,8%)

Группу II ($n = 59$; 47,2%) составили дети с неустойчивым психологическим состоянием, риском невротического развития личности (сниженный фон настроения, повышенное эмоциональное напряжение, высокий уровень тревоги, повышенная интенсивность и реактивность переживаний, трудности эмоционально-волевой регуляции; см. табл. 2). У этих пациентов болезнь в основном находилась в стадии нестойкой клинической ремиссии с сохранными или компенсированными функциями органов и систем организма либо с неполной компенсацией функций, требующей длительного поддерживающего лечения ($n = 45$; 76,3%).

На фоне длительной астении, физического дискомфорта и болевых ощущений, а также в связи с трудностями психологической адаптации к болезни и процессу лечения у пациентов отмечалось снижение познавательной деятельности, повышенная чувствительность к внешнему воздействию, тревожность, эмоциональная возбудимость и истощаемость, что указывало на высокий риск невротизации личности.

Нами были обнаружены значимые качественные и количественные различия в характере психологических трудностей у пациентов и их зависимость от психологического возраста (табл. 3)*.

* Важно отметить, что в данную группу были включены дети с нарушением развития личности, эмоций и поведения с рецидивирующим течением болезни ($n = 4$; 6,7%). Исследование их психологических особенностей и определение для них содержания программы психологической помощи может стать самостоятельной темой исследования.

Искаженная вследствие длительной хронической болезни социальная ситуация развития усугубляла эмоциональные трудности больных детей, оказывала негативное влияние на развитие самосознания, личности.

У каждого четвертого (25,3%) младшего школьника группы выявлено чувство неуспешности, затрудняющее реализацию возможностей, препятствующее полноценному общению со сверстниками. В период активного развития самосознания, значительного расширения круга общения у подростков осознание социальных ограничений и физических отличий от здоровых сверстников приводило к появлению третичных психологических нарушений в виде острых эмоциональных переживаний, связанных с болезнью, своим «Я». У подростков данной группы особенностями эмоциональной сферы являлись сниженный фон настроения, эмоциональная неустойчивость (72,1%), повышенный уровень внутриличностной тревожности (56,9%), эмоциональная лабильность (18%), демонстративность (15,2%) и астено-невротическая акцентуация характера (11%).

Степень выраженности эмоциональных нарушений у детей и подростков в группе II была напрямую связана с тяжестью физического состояния, а также со степенью и длительностью несоответствия социальных условий среды (в стационаре и дома) их возрастным и индивидуальным психологическим потребностям, что подтверждено результатами корреляционного анализа ($p < 0,001$).

В группу III ($n = 19$; 15,2%) были объединены пациенты с относительно стабильным психологическим состоянием, выраженной психологической уязвимостью в ситуации стресса (см. табл. 1).

Практически все (87,8%) младшие школьники испытывали эмоциональные трудности (высокий уровень тревоги, эмоциональную лабильность) в ситуации адаптации к новой социальной среде и учебной деятельности. Завышенные родительские ожидания, склонность взрослых к конкурентным отношениям в процессе воспитания обуславливали длительное эмоциональное напряжение у ребенка, оказывали неблагоприятное влияние на его психическое и физическое здоровье.

Для подростков с болезнями в стадии ремиссии были характерны психологические трудности, связанные с обретением психологической автономности от взрослых (76,1%), принятием собственной внешности и пола (62%), развитием интимно-личностного общения со сверстниками (68,2%), формированием жизненных целей (87,2%). По нашим наблюдениям, в отличие от здоровых сверстников трудности взросления данной группы имели более выраженный характер и более длительный временной интервал.

Психологическое состояние детей и подростков в группе III зависело как от их физического состояния, так и от степени и длительности несоответствия социальных условий среды их возрастным и индивидуальным психологическим потребностям.

Лишь у 5 (10%) подростков с болезнью в стадии ремиссии психическое и личностное развитие проходило в соответствии с возрастными нормативами. При эмоциональной поддержке взрослых такие подростки были способны самостоятельно преодолеть эмоциональные трудности, связанные со взрослением, и даже оказать поддержку другим детям. Практически во всех случаях (у 4) при нормативном развитии личности наблюдался более поздний дебют болезни (с 13,5 лет), благоприятные, т.е. учитывающие физические, возрастные и индивидуальные психологические характеристики и потребности ребенка, социальные условия (гармоничные детско-

родительские отношения, индивидуальный подход к обучению, систематическое общение со сверстниками). У подростков установлены такие важные психологические достижения, как самостоятельность, широкий круг интересов, высокая коммуникативная компетентность, развитые процессы самосознания и социальные мотивы.

Согласно нашим наблюдениям, более стабильное психологическое состояние имело место у детей в каждой группе при позднем возрастном развитии болезни, когда уже присутствовали достаточная личностная, психическая и физиологическая зрелость (в т.ч. работы центральной нервной системы) при соответствии социальной ситуации развития их возрастным и индивидуальным потребностям. Полученные данные свидетельствуют о необходимости психолого-педагогического сопровождения детей всех групп в рамках их комплексного восстановительного лечения.

Сравнительный анализ исследуемых групп

Сравнительный качественный и количественный анализ данных внутри каждой из 3 групп показал, что при обострении основного заболевания и ухудшении физического состояния возрастные и индивидуальные различия в психологическом состоянии детей становились менее заметными ($p < 0,001$). Для детей всех возрастов с обострением болезни был характерен сниженный фон настроения, высокая интенсивность и реактивность негативных переживаний, низкий уровень их саморегуляции. С улучшением физического состояния наблюдалась большая дифференциация возрастных и личностных потребностей ребенка.

Обсуждение

В нашем исследовании подтверждено наличие связи и взаимного влияния 3 факторов — физического состояния, социальной ситуации развития и индивидуальных психологических характеристик детей [22, 23]. Ранее начало, тяжесть и длительность заболевания оказывают наибольшее негативное влияние на физическое и психологическое состояние детей, а значит, и на ход формирования личности. В случае тяжелого течения хронической болезни ребенок длительное время находится в подавленном эмоциональном состоянии, у него отмечается значительное снижение психической активности. К сожалению, в условиях, необходимых для сохранения жизни и здоровья детей (частые госпитализации, соблюдение лечебного режима, сужение круга контактов), реализация их психологического потенциала крайне ограничена. Это оказывает дополнительное негативное влияние на психологическое состояние больного и обуславливает появление у него таких тяжелых психологических отклонений, как сужение мотивационно-потребностной сферы, конфликтное самоотношение, акцентуация характера, социальная дезадаптация [19]. В случае личностной и психологической незрелости ребенка степень негативно-го влияния болезни и искаженной социальной ситуации на процесс его психического развития возрастает, т.к. механизмы адаптации и компенсации у него чаще всего несовершенны. Предупредить возникновение «социального вывиха» или сгладить его последствия можно путем оказания психолого-педагогической помощи ребенку и его семье с момента выявления болезни и на протяжении лечения.

Важно отметить, что ни принадлежность к определенной нозологической группе, как указывают некоторые ав-

торы [14], ни схожесть социальных условий среды [10], ни индивидуально-типологические особенности пациента [13] изолированно сами по себе не являются прогностическими критериями развития личности. По отдельности каждый из них не позволяет установить траекторию психического развития ребенка и содержание индивидуальной программы помощи. Только путем сопоставления данных о состоянии здоровья ребенка, его психологических характеристиках и особых потребностях, сложившейся социальной ситуации развития можно определить форму, методы и содержание психологической помощи. Необходимую информацию можно собрать в ходе всестороннего психолого-педагогического обследования ребенка и его родителей. Программа психолого-педагогической поддержки ребенка должна включать комплекс реабилитационных мероприятий по повышению его адаптационных возможностей и оптимизации социальной ситуации развития (прежде всего, в семье). При этом форма и содержание помощи ребенку определяются степенью тяжести его физического и, как следствие, психологического состояния. Вместе с тем пока остается нерешенным вопрос об определении направлений и содержания дифференцированной помощи пациентам, имеющим различный психологический статус при одинаковой этиологии и тяжести течения болезни. Этот аспект требует дополнительной разработки, а также тщательного изучения специфических социальных условий и индивидуальных адаптационных возможностей детей.

Создание дифференцированных программ психологической помощи детям с болезнями органов пищеварения является чрезвычайно важной и представляет собой перспективу дальнейшего исследования.

Краткие практические рекомендации

Для детей с болезнью в острой стадии в тяжелом физическом и психологическом состоянии психолого-педагогическая работа в рамках восстановительного лечения проводится, как правило, в индивидуальной форме и

сфокусирована на оказании эмоциональной поддержки, стабилизации эмоционального фона и снижении остроты переживаний, связанных с лечением и опасениями негативного исхода. Для пациентов со стабильным физическим состоянием (стойкая ремиссия) и индивидуальными трудностями адаптации к болезни и изменениям социальных условий жизни помощь в основном оказывается в групповой форме и направлена на решение возрастных задач развития и сглаживание «социального вывиха».

Заключение

Большинство детей с болезнями органов пищеварения имеют психологические трудности, и их личность формируется в искаженных социальных условиях. Все они нуждаются в психолого-педагогической поддержке и создании оптимальных условий для реализации их психологического и познавательного потенциала.

Без систематической психолого-педагогической поддержки и создания необходимых условий во время лечения ребенок становится заложником искаженной социальной ситуации, которая направлена на сохранение его жизни и восстановление здоровья, но не обеспечивает развитие детской личности.

При разработке программы психологической помощи необходимо учитывать возраст ребенка на момент возникновения болезни, этиологию и тяжесть заболевания ребенка, длительность, характер и выраженность несоответствия социальных условий среды его возрастным и индивидуальным психологическим потребностям пациента.

Конфликт интересов

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

ЛИТЕРАТУРА

1. Лымарева Е.В. Расстройства нервной системы у детей с хроническими гастроуденитами. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Оренбург. 2005. 121 с.
2. Banez G.A., Cunningham C. Pediatric gastrointestinal disorders: recurrent abdominal pain, inflammatory bowel disease and rumination disorders. Handbook of pediatric psychology. M.C. Roberts (ed.). 3rd ed. Berlin: Springer. 2003. P. 462–481.
3. Ballenger J.C., Davidson J.R., Lecrulier J., Nutt, D.J., Lydiart R.D., Mayer E.A. Consensus statement on depression, anxiety and functional gastrointestinal disorders. *J. Clin. Psychiatry*. 2001; 48–51.
4. Антропов Ю.Ф., Шевченко Ю.С. Лечение детей с психосоматическими расстройствами. СПб.: Речь. 2002. 560 с.
5. Вахрушева И.А. Отношение к болезни у подростков с заболеваниями желудочно-кишечного тракта. Автореф. дис. ... канд. психол. наук. СПб. 2004. 25 с.
6. Фёдорова В.Л. Психологические механизмы формирования внутренней картины болезни и совладающего со стрессом поведения у больных с воспалительными заболеваниями кишечника. Автореф. дис. ...канд. психол. наук. СПб. 2009. 23 с.
7. Исаев Д.Н. Детская медицинская психология. Психологическая педиатрия. СПб.: Речь. 2004. 384 с.
8. Сухарева Г.Е. Лекции по психиатрии детского возраста. Т. 2. М. 1957. 193 с.
9. Николаева В.В. Влияние хронической болезни на психику. М.: Изд-во Московского гос. ун-та. 1987. 168 с.
10. Булыгина М.В. Особенности коммуникации между матерью и ребенком с хроническим соматическим расстройством (на материале гастропатологии). Автореф. дис. ... канд. психол. наук. М. 2007. 26 с.
11. Коркина М.В., Марилов В.В. Варианты психосоматического развития личности при заболеваниях желудочно-кишечного тракта. *Журнал неврологии и психиатрии им. С. Корсакова*. 1995; 95 (6): 43–47.
12. Филякова Е.Г., Николаева В.В., Касаткин В.Н. Образ Я детей с хроническими соматическими заболеваниями (бронхиальная астма- и гастродуоденальная патология). *Педиатрия*. 2000; 4: 97–102.
13. Alexander F. Psychological factors in gastro-intestinal disturbances. *Psychoanal*. 1934; 3: 506.
14. Levenstein S., Prantera C., Scribano M.L., Varvo V., Berto V., Spinella S., Psychologic Predictoiois of Duodenal Ulcer Healing. *J. Clin Gastr*. 1996; 22 (2): 84–89.
15. Здоровье детей России в XXI веке. Под ред. А.А. Баранова, В.Р. Кучмы. М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России. 2000. 159 с.
16. Лазуренко С.Б. Психическое развитие детей с нарушениями здоровья в раннем возрасте. Монография. М.: ЛОГОМАГ. 2014. 266 с.

17. Лазуренко С.Б., Симонова О.И., Свиридова Т.В. Психологические аспекты в ведении больных муковисцидозом. В кн.: Муковисцидоз. Под ред. Н.И. Капранова, Н.Ю. Каширской. М.: Медпрактика. 2014. С. 623–648.
18. Профилактическая педиатрия. Под ред. А.А. Баранова. М.: Союз педиатров России. 2012. С. 442–484.
19. Венгер А.Л. Психологические синдромы: подходы к содержательной диагностике развития. *Культурно-историческая диагностика*. 2014; 10 (1): 20–25.
20. Выготский Л. С. Собрание сочинений. Т. 4. Детская психология. М.: Педагогика. 1984. С. 244–268.
21. Практикум по возрастной психологии. Под ред. Л.А. Головей, Е.Ф. Рыбалко. СПб: Речь. 2006. 688 с.
22. Brain Function in Depressed Children and Adolescents. The international encyclopedia of depression. R.E. Ingram (ed.). New York: Springer Publishing Company. 2009. 688 p.
23. Barreire S.G., Oliveira O.A., Kazama W., Kimura M., Santos V. L.C.G. Quality of life of children with stomas: the children and mothers' point of view. *Jornal de Pediatria*. 2003; 79 (11): 55–62.
24. Хавкин А.И., Файзуллина Р.М., Бельмер С.В., Горелов А.В., Захарова И.Н., Звягин А.А. и др. Диагностика и тактика ведения детей с функциональными запорами. *Вопросы детской диетологии*. 2014; 12 (4): 49–63.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Свиридова Татьяна Васильевна, кандидат психологических наук, старший научный сотрудник НИИ ППиВЛ НЦЗД Минздрава России

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (499) 340-01-04, e-mail: tvsviridova@gmail.com

Лазуренко Светлана Борисовна, доктор психологических наук, доцент, заведующая лабораторией специальной психологии и коррекционного обучения НЦЗД Минздрава России

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, e-mail: labspiko@gmail.com

Венгер Александр Леонидович, доктор психологических наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории специальной психологии и коррекционного обучения НЦЗД Минздрава России

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, e-mail: labspiko@gmail.com

Комарова Елена Владимировна, доктор медицинских наук, врач-гастроэнтеролог НЦЗД Минздрава России

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, e-mail: labspiko@gmail.com

Потапов Александр Сергеевич, доктор медицинских наук, заведующий гастроэнтерологическим отделением с гепатологической группой НЦЗД Минздрава России

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

Буслаева Анна Сергеевна, научный сотрудник НИИ ППиВЛ НЦЗД Минздрава России

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, e-mail: labspiko@gmail.com

DOI: 10.15690/vramn.v70.i5.1438

О.С. Кобякова, И.А. Деев, Д.С. Тюфилин, Е.С. Куликов

Сибирский государственный медицинский университет, Томск, Российская Федерация

Витамин D — новый вектор профилактики онкологических заболеваний?

В настоящее время большое число исследований посвящено поиску новых методов лечения онкологических болезней, а также предикторов канцерогенеза и способов коррекции риска развития рака. В статье представлен обзор публикаций, посвященных исследованию витамина D как средства профилактики онкологических болезней, описаны результаты отдельных экспериментов и исследований in vitro, объясняющие механизмы протективного эффекта витамина D и его производных в отношении рака. Обобщены результаты эпидемиологических исследований, выполненных в разных странах и в различных популяциях, посвященных ассоциации применения витамина D с частотой встречаемости различных видов онкологической патологии.

Ключевые слова: витамин D, кальцитриол, профилактика рака, онкологические болезни.

(Для цитирования: Кобякова О.С., Деев И.А., Тюфилин Д.С., Куликов Е.С. Витамин D — новый вектор профилактики онкологических заболеваний? *Вестник РАМН.* 2015; 70 (5): 526–533. Doi: 10.15690/vramn.v70.i5.1438)

Введение

526

Актуальность изучения онкологической патологии обусловлена прежде всего высокой летальностью, ростом заболеваемости, снижением качества жизни больных, значительной долей пациентов с ранней инвалидизацией, а также существенным социально-экономическим бременем для государства и общества.

Несмотря на успехи современной фармакотерапии, а также внедрение высокотехнологических методов диагностики и лечения онкологических заболеваний, сохраняется высокая потребность в разработке новых эффективных методов лечения онкопатологии, которые будут обладать большей специфичностью, а следовательно, вызывать меньшее число нежелательных явлений. В настоящее время проводится большое число исследований в области таргетной химиотерапии, гамма-терапии, оперативной онкологии, однако каждый из этих методов лечения является лишь технологией «устранения» онкологического процесса, и при этом даже в случае максимальной эффективности метода прогноз для жизни пациента с высокой долей вероятности остается неблагоприятным.

В связи с этим исследования, направленные на поиск предикторов формирования онкопатологии, а также эффективных методов профилактики онкологических заболеваний, имеют приоритетное значение.

Проведено достаточное число крупных эпидемиологических исследований, доказывающих наличие связи между курением в анамнезе и развитием рака легких;

употреблением продуктов с повышенным содержанием клетчатки и снижением риска развития колоректальных раков; вакцинацией против вируса папилломы человека и снижением частоты рака шейки матки. Также показана протективная роль антиоксидантов в общей профилактике рака. Кроме того, в течение последних 10 лет опубликовано большое число работ, посвященных роли витамина D и его производных в метаболизме раковых клеток, доказывающих наличие протективного эффекта данных субстанций относительно развития онкологических состояний [1, 2].

Метаболизм витамина D, его биологические эффекты

Общезвестны пути восполнения необходимого количества витамина D в организме. Во-первых, он поступает в организм с пищей, при этом наибольшее его количество содержится в молочных продуктах, яйцах, рыбе и мясе. Во-вторых, витамин D синтезируется из 7-гидроксихолестерола в коже под воздействием ультрафиолетовых лучей, причем второй источник является основным (90–95%). Образующийся при этом провитамин D₃ подвергается ферментативной обработке в печени и почках (а также других органах) до конечного активного метаболита — 1α,25-дигидроксивитамина D₃ (1α,25(OH)₂D₃). На протяжении более 100 лет основным биологическим эффектом витамина D принято считать регуляцию обмена кальция и фосфатов [3, 4].

O.S. Kobyakova, I.A. Deev, D.S. Tyufilin, E.S. Kulikov

Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

Vitamin D — A New Vector of Cancer Prevention?

Currently, a great number of research projects are focused on finding new treatment methods for cancer and carcinogenesis predictors, as well as the ways to decrease cancer development risks. This article provides an overview of research on vitamin D as cancer prevention factor. The results of independent experiments and in vitro tests explaining the mechanisms of protective effect of vitamin D and its derivatives on cancer are illustrated. The review of epidemiological survey results obtained from different countries and various populations that were focused on the association of vitamin D use with various cancer pathologies incidence was performed.

Key words: vitamin D, calcitriol, cancer prevention, oncology.

(For citation: Kobyakova O.S., Deev I.A., Tyufilin D.S., Kulikov E.S. Vitamin D — A New Vector of Cancer Prevention? *Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2015; 70 (5): 526–533. Doi: 10.15690/vramn.v70.i5.1438)

Помимо регуляции обмена кальция и фосфатов, витамин D и его производные играют важную роль в пери- и постнатальном развитии человека, формировании различных органов и систем, а также в регуляции процессов пролиферации, дифференцировки и апоптоза во многих тканях. Действуя на свои специфические рецепторы, витамин D, подобно стероидным гормонам, через определенные лиганды и промоторы регулирует экспрессию тех или иных генов.

Рецепторы витамина D (vitamin D receptors, VDRs), обнаруженные в 1969 г. M.R. Haussler и A.W. Norman в клетках слизистой оболочки кишечника, позднее были найдены в клетках костей, парашитовидных желез, головного мозга, кожи, предстательной железы, яичников, сердца, скелетных мышц, молочных желез, печени, легких, β -клетках поджелудочной железы, иммунокомпетентных клетках, клетках почек. Кроме того, эти рецепторы обнаруживаются и в раковых клетках [5, 6].

Вместе с тем опубликованы исследования, доказывающие, что витамин D имеет регулирующее влияние и на клетки, лишенные VDRs [7]. Именно эти исследования, демонстрирующие наличие у витамина D ингибирующего влияния на пролиферацию, метастазирование, неоангиогенез и инвазию раковой ткани, позволяют полагать, что его уровень в сыворотке крови может быть ассоциирован с протективным эффектом относительно риска развития онкологических заболеваний.

Рак молочной железы

В ткани молочной железы, как и во многих других тканях организма, синтезируется гидроксилаза, катализирующая трансформацию 25-гидроксивитамина D в $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, а также фермент CYP21, превращающий $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ в $1,24,25(\text{OH})_3\text{D}_3$ — менее активный метаболит. Таким образом, в ткани молочной железы возможна местная регуляция метаболизма витамина D и его влияния на VDRs [8, 9].

Проведено множество доклинических исследований, в которых показано влияние витамина D на раковые клетки молочной железы. Так, например, в исследовании S.Y. James и соавт. при помощи вестерн-блоттинга было доказано, что в раковых клетках молочной железы экспериментальных крыс, а также в линии клеток рака молочной железы человека MCF-7 (Michigan Cancer Foundation-7) $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ и его синтетический аналог EB1089 повышают интенсивность экспрессии p53 (индуктор апоптоза) и снижают интенсивность экспрессии bcl-2 (ингибитор апоптоза) [10]. Таким образом, продемонстрирован проапоптотический эффект метаболитов витамина D в отношении раковых клеток молочной железы.

В исследованиях K.C. Chiang и соавт. в качестве средства, снижающего риск развития рака молочной железы, а также подавляющего метастазирование рака этого органа, был предложен аналог витамина D 19-нор-2 α -(3-гидроксипропил)- $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (MART-10). По результатам исследований *in vitro* удалось доказать, что данный аналог, обладая меньшим гиперкальциемическим эффектом, в 10 раз активнее снижает риск метастазирования рака молочной железы, чем кальцитриол [11].

Исследовательский коллектив W. Zheng и соавт. проводил изучение влияния $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ на метаболизм глюкозы в клетках эпителиального рака молочной железы (MCF10A) и *ras*-клетках, используя для анализа [$^{13}\text{C}_6$]-глюкозу. Согласно результатам исследования, повыше-

ние концентрации $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ привело к снижению пролиферации опухолевых клеток за счет нормализации метаболизма глюкозы, что также позволяет говорить о антиканцерогенной активности витамина D [12].

В исследовании A.V. Krishnan и соавт. предлагалась гипотеза о том, что витамин D, подобно нестероидным противовоспалительным препаратам, способен ингибировать циклооксигеназу-2. В своих исследованиях авторы установили, что витамин D снижает продукцию ароматазы — фермента, катализирующего трансформацию андрогенов в эстрогены, а также снижает интенсивность синтеза простагландинов, стимулирующих этот процесс [13]. Таким образом, витамин D снижает активность ER-позитивного рака молочной железы.

Из эпидемиологических исследований, посвященных протективному влиянию витамина D в отношении рака молочной железы, наиболее крупное было проведено в Италии в 2009 г. M. Rossi и соавт. В нем приняли участие 2569 женщин в исследуемой группе и 2588 — в контрольной. При помощи методов ассоциативной статистики было доказано, что женщины с высоким содержанием витамина D в рационе имеют меньший риск развития рака молочной железы (для женщин в пре- и перименопаузе ОШ = 0,8; 95% ДИ 0,64–0,99); для женщин в постменопаузе ОШ = 0,78; 95% ДИ 0,66–0,92) [14]. Подобные исследования с похожими результатами проведены F.M. Yousef и соавт. в Саудовской Аравии в 2013 г. ($n=240$) и L. Shi и соавт. в Китае ($n=1940$) [15, 16].

Существуют эпидемиологические исследования, в которых были предложены гипотезы, основанные на ассоциации фенотипических различий кожи у представительниц различных этнических групп с риском развития рака молочной железы, что должно было быть связано с различным сывороточным содержанием витамина D. Для подтверждения этой гипотезы S. Yao и соавт. было проведено исследование, в которое была включена 1771 женщина (из них 843 — контрольная группа), афро- и евроамериканки. Всем участницам измеряли сывороточный уровень кальциферола (25-гидроксивитамина D, 25(OH)D) и соотносили его с наличием рака или одиночным полиморфизмом в генах *VDR*, *CYP24A1* и *CYP27B*, а также с эстрогенрецепторным (ER) статусом. Согласно данным исследователей, отличие афроамериканок в генетических вариантах метаболизма витамина D ассоциировано с большей частотой ER-негативного рака молочной железы [17].

В одном из своих последних исследований S. Yao и соавт. выдвинули гипотезу о том, что витамин D влияет на действие иммунной системы по отношению к ER-статусу рака молочной железы. Ими было обследовано 490 больных женщин, и подобной связи установлено не было, однако доказано, что у женщин в пременопаузальном периоде с низким содержанием 25(OH)D и высокой концентрацией фактора некроза опухоли (ФНО) α ER-негативный рак молочной железы развивался чаще, чем у женщин с достаточной концентрацией 25(OH)D и низким уровнем ФНО α (ОШ = 0,32; 95% ДИ 2,44–21,98) [18].

Рак предстательной железы

Исследования, посвященные роли витамина D в развитии и профилактике рака предстательной железы, по большей части представлены в зарубежной специализированной литературе и включают в себя доклинические и клинические эксперименты с использованием различных подходов и методов.

Так, например, в исследовании S.E. Blutt и соавт. подробно изучено и доказано ингибирующее влияние EB1089 (синтетического аналога витамина D) на рост LNCaP (культуры клеток андрогенчувствительной аденокарциномы предстательной железы человека) *in vitro*, а также в качестве ксенотрансплантатов у здоровых мышей [19]. Позднее, в исследовании D.M. Peehl и соавт. (2003) было установлено что $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ действует на LNCaP через инсулиноподобный фактор роста, который связывает протеин-3 (p3), стимулируя апоптоз этих клеток. Кроме того, показано, что действие $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ усиливается при его применении совместно с ингибиторами 24-гидроксилазы — фермента, катализирующего инактивацию $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Также в проведенном D.M. Peehl и соавт. небольшом клиническом исследовании продемонстрирована антипролиферативная активность метаболитов витамина D в отношении рака предстательной железы [20].

М. Tseng и соавт. (2004) использовали в своей работе данные Национального эпидемиологического исследования здоровья (United States Health Examination Epidemiological Follow-up Study — крупное эпидемиологическое исследование в рамках федерального проекта), в котором приняли участие 3779 мужчин (из них 136 с раком предстательной железы). С помощью ассоциативной статистики удалось доказать, что мужчины, употребляющие в пищу продукты из так называемого южного рациона (кукурузный хлеб, крупы, сладкий картофель, окра, фасоль и рис), имеют меньший риск развития рака простаты (3-я и 1-я тертиль, соответственно; ОР = 0,6; 95% ДИ 0,4–1,1), в связи с чем было сделано предположение, что «южное питание» может являться интегративным маркером воздействия солнечного света на человека, что в свою очередь доказывает возможное влияние витамина D на степень риска развития рака предстательной железы [21].

Тем не менее существуют исследования, результатом которых является доказательство отсутствия какого-либо влияния сывороточного содержания витамина D и его производных на рак предстательной железы. Так, метаанализ результатов проспективных исследований по влиянию витамина D на развитие рака предстательной железы в публикациях до 2009 г., проведенный L. Yin и соавт., показал, что суммарное ОШ в случаях рака предстательной железы с высоким содержанием $25(\text{OH})\text{D}$, было равно 1,03 (95% ДИ 0,96–1,11), что свидетельствует об отсутствии ассоциации сывороточного уровня $25(\text{OH})\text{D}$ с развитием рака предстательной железы [22].

В эпидемиологических исследованиях С.М. Barnett и соавт. (2010) содержание $25(\text{OH})\text{D}$ измеряли у 1433 мужчин в возрасте 65 лет и старше, а также у 297 мужчин с установленным диагнозом рака предстательной железы того же возраста. Все значения этих измерений были разделены на квартили, оценку ассоциации содержания $25(\text{OH})\text{D}$ со случаями рака предстательной железы и значениями шкалы Глисона провели при помощи регрессии Кокса. По сравнению с квартилем с самым низким уровнем $25(\text{OH})\text{D}$ ОР для квартиля с самым высоким уровнем $25(\text{OH})\text{D}$ было равно 1,22 (95% ДИ 0,50–1,72), не наблюдалось никаких зависимостей ($p = 0,94$) или ассоциаций со значениями шкалы Глисона [23]. Похожие исследования проведены S.Y. Park и соавт. (2010) и S.K. Holt и соавт. (2013). По их данным, гипотеза о снижении риска развития рака предстательной железы под влиянием сывороточного содержания $25(\text{OH})\text{D}$ не была доказана [24, 25].

Рак легкого

Рак легкого — один из наиболее часто встречающихся видов онкопатологии в развитых странах — представляет собой тяжелую социально-экономическую проблему. Учеными из многих стран проведены крупные исследования по изучению профилактики и лечения рака легкого, в т.ч. относительно применения витамина D и его аналогов для решения данной проблемы [27–29].

Подобные работы выполнены К. Nakagawa и соавт. (2005), которые использовали опухолевые штаммы карциномы легких Льюис (LLC-GFP), инъецированные крысам, а также $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ и 22-Оха- $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ (некальциемический аналог витамина D), введенные крысам в виде минипомп. В эксперименте удалось доказать, что 22-Оха- $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ и $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ способны снижать риск метастазирования и неоангиогенеза рака легкого за счет снижения интенсивности экспрессии генов металлопротеиназ, а также эндотелиального фактора роста. Кроме того, за счет снижения продукции паратгормонсвязанного белка (parathyroid hormone-related protein, PTHrP) в клетках LLC-GFP 22-Оха- $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ обладает менее выраженным гиперкальциемическим эффектом, что определяет его преимущества в качестве средства, которое может быть использовано для профилактики метастазирования рака легкого [26, 27].

В 2013 г. в Шанхае было проведено 2 эпидемиологических исследования с использованием опросника ежедневного рациона (Food Frequency Questionnaire, FFQ), подтверждающих наличие ассоциации содержания кальция в рационе некурящих женщин и риска развития рака легких, для чего были рассчитаны отношения шансов: Y. Takata и соавт. — $n = 71\ 267$; ОШ = 0,66; 95% ДИ 0,48–0,91; T.Y. Cheng и соавт. — $n = 128\ 779$; ОШ = 0,37; 95% ДИ 0,18–0,77 [28, 29].

Рак кожи

В канцерогенезе онкологических заболеваний кожи немаловажную роль играет ультрафиолетовое облучение (УФО), из-за воздействия которого повреждается ДНК фибробластов и кератицитов (что связано с образованием в них димеров), тормозится синтез транскрипционного фактора p53, являющегося мощным проапоптогенным эффектором, развивается иммуносупрессия и оксидативный стресс [30, 31]. В настоящее время проведено большое число исследований по изучению возможности использования витамина D и его соединений в качестве фотопротектора, а также средства, ликвидирующего последствия воздействия УФО.

В экспериментах V.V. Sequeira и соавт. (2012) оценивали способность витамина D и его производных уменьшать содержание тиминовых димеров (TD) в фибробластах после УФО. В данном исследовании удалось доказать, что протективный эффект $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ и JN ($1\alpha,25$ -дигидроксилостероид-3 — аналог витамина D) связан с функцией VDRs и ERp57 (эндоплазматический ретикулярный стресс-протеин 57), при этом для VDRs не требуется нормальных ДНК-связывающих или классических лигандсвязывающих доменов для опосредования фотопротекции [32].

Подобные исследования проводились и на культурах клеток меланомы RPMI 7951 [33], SK Mel 28 [34], MeWo [35], ME18 [36], SM [37], при этом во всех работах доказан антипролиферативный эффект витамина D и его аналогов.

Австралийские ученые E.J. Song и соавт. (2012) использовали в качестве объекта исследования эксплантат кожи человека, который также подвергали УФО, а затем в разные промежутки времени обрабатывали $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, после чего измеряли содержание в нем TD, 8-оксо-7,8-дигидро-2'-дезоксигуанозина (8-oxodG — мутагенное основание), а также 8-нитрогуанозина (8-NG — мутагенное основание). Результаты исследования продемонстрировали снижение содержания TD и 8-NG в течение 30 мин и уменьшение концентрации 8-oxodG через 3 ч после обработки $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, что свидетельствует о фотопротективном эффекте $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ [38].

K. Bahar-Shany и соавт. (2010) изучали воздействие $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ на MMP-9 — металлопротеиназу, индуцирующую процесс деградации коллагена IV и синтез некоторых хемо- и цитокинов в ответ на стресс и травмы, в т.ч. на УФО, что определяет ее роль в канцерогенезе. В этом исследовании использована культура клеток HaCaT (бессмертные кератиноциты человека, используемые в изучении канцерогенеза меланомы и обладающие высокой пролиферативной активностью). Культуры обрабатывали ФНО α , что приводило к увеличению продукции MMP-9, затем, в случае предварительной обработки кальцитриолом, данный эффект ослаблялся. Было установлено, что механизм ослабления влияния ФНО α на концентрацию MMP-9, наблюдаемый у кальцитриола, заключается в том, что он ингибирует активацию JNK (с-jun-п-концевая киназа — фактор р53-зависимого апоптоза), NF- κ B (ядерный фактор каппа-би — универсальный фактор транскрипции), содержание которых повышалось при воздействии ФНО α , вызывая активацию синтеза MMP-9 [39].

Рак поджелудочной железы

Метаболизм витамина D в клетках рака поджелудочной железы изменяется благодаря наличию в них, как и в здоровых клетках данного органа, гидроксилазы, синтез которой клетками линии рака поджелудочной железы был доказан в исследовании G.G. Schwartz и соавт. (2004). В этой же работе продемонстрирован антипролиферативный эффект 25(OH)D и $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ в 3 линиях клеток панкреатического рака (AsPC-1 > Hs700T >> Hs766T), что подтвердило полученные ранее результаты S. Kawa и соавт. [40, 41]. Механизм этого эффекта заключается в том, что различные метаболиты витамина D увеличивают интенсивность экспрессии генов *p21* и *p27* — ингибиторов циклинзависимой киназы 2 (cyclin-dependent kinase 2, CDK2), индуцирующей остановку клетки в G_1/S фазе [40, 41]. В 2008 г. G.G. Schwartz и соавт. удалось доказать тот же эффект у 19-нор- $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ — метаболита витамина D, обладающего меньшим гиперкальциемическим свойством [42].

Зависимость между степенью инсоляции, которая является основным катализатором синтеза провитамина D в коже, и заболеваемостью, а также смертностью от рака поджелудочной железы была продемонстрирована в исследованиях, проведенных в США (ОР относительно заболеваемости = 1,09, 95% ДИ 1,05–1,14 — для мужчин и ОР = 1,17, 95% ДИ 1,13–1,22 — для женщин; ОР относительно смертности = 1,06, 95% ДИ 1,03–1,09 — для мужчин и ОР = 1,11, 95% ДИ 1,08–1,14 — для женщин) и Японии [стандартизированный шанс смерти, SMR = -4,35 ($p < 0,001$) для мужчин и -5,02 ($p < 0,0001$) для женщин] [43, 44].

В эпидемиологическом исследовании L.B. Zablotska и соавт. (2011) в Сан-Франциско была установлена положительная связь между суточной дозой витамина D и риском развития рака поджелудочной железы у мужчин ($n = 2233$); ≥ 450 и < 150 МЕ/сут; ОШ = 2,6; $p = 0,009$), в то время как в выборочных исследованиях H.G. Skinner и соавт. (2006) наблюдали обратную ситуацию как для мужчин ($n = 46\ 771$; возраст 40–75 лет; ≥ 600 и < 150 МЕ/сут; ОР = 0,49; 95% ДИ 0,29–0,82), так и для женщин ($n = 75\ 427$; возраст 38–65 лет; ОР = 0,76; 95% ДИ 0,42–1,38) [45, 46].

Обратная зависимость между содержанием циркулирующего 25(OH)D и заболеваемостью раком поджелудочной железы была продемонстрирована в исследовании R.Z. Stolzenberg-Solomon и соавт. в 2006 г. ($> 65,5$ и $< 32,0$ нмоль/л; ОШ = 2,92; 95% ДИ 1,56–5,48), в то время как зависимость отсутствовала в исследовании 2009 г. ($> 82,3$ и $< 45,9$ нмоль/л; ОШ = 1,45; 95% ДИ 0,66–3,15), а в исследовании 2010 г. была установлена прямая связь (> 100 и 50 –75 нмоль/л; ОШ = 2,12; 95% ДИ 1,23–3,64) [47–49].

Рак толстой кишки

Впервые на роль витамина D в профилактике колоректального рака обратили внимание C.F. Garland и F.C. Garland (1980), которые впоследствии (в 1989 г.) в своем эпидемиологическом исследовании доказали связь между сывороточным содержанием 25(OH)D и риском развития колоректального рака ($n = 34$ — больные, $n = 67$ — контроль): риск был снижен на 75% в 3-й (27–32 нг/мл) и на 80% — в 4-й квинтиле (33–41 нг/мл) [50, 51]. Аналогичные результаты получили D.M. Freedman и соавт. [52], S. Gandini и соавт. [53], M.F. Atoum и M.N. Tchopogyan [54], однако существуют и противоположные данные, полученные в 2010 г. S.J. Weinstein и соавт. (1-й и 4-й квартиль ОР = 2,11; 95% ДИ 1,20–3,69) [55]. Тем не менее проведенный в 2011 г. M. Chung и соавт. метаанализ 28 исследований показал, что повышение концентрации 25(OH)D в сыворотке крови на каждые 10 нмоль/л связано с 6% (95% ДИ 3–9) снижением риска развития колоректального рака [56].

Молекулярные механизмы протективного действия $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ в отношении колоректального рака заключаются в повышении интенсивности экспрессии генов *p21* и *p27*, что было подтверждено исследованием S.R. Evans и соавт. (1999) на клеточной линии карциномы толстого кишечника HT-29 (Human Colon Carcinoma Cell Line) с применением TUNEL-анализа и электрофореза ДНК в агарозном геле. Как уже было сказано выше, *p21* и *p27* индуцируют остановку клетки в фазе G_1/S [57].

Доказано, что мутации генов белков, участвующих в WNT/b-катениновом сигнальном пути — одна из основных причин развития колоректального рака. Кальцитриол модулирует WNT/b-катениновый сигнальный путь, во-первых, за счет снижения содержания β -катенина, что было доказано в исследованиях S. Shah и соавт. (2006); во-вторых, $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ индуцирует образование E-кадгерина, а благодаря обоим эффектам происходит нормальная дифференцировка клеток толстого кишечника, что подтверждают исследования H.G. Palmer и соавт. (2001) на клетках SW480 [58, 59]. P. Kaler и соавт. (2009) было показано, что содержание β -катенина может снижаться за счет того, что $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ подавляет синтез интерлейкина 1 β , который в свою очередь тормозит фосфорилирование β -катенина и его деградацию [60].

Кроме того, в исследованиях G.D. Diaz и соавт. [61] и J.D. Varnes и соавт. [62] продемонстрировано, что $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ индуцирует апоптоз в клетках аденомы толстого кишечника S/RG/C2 и карциномы толстого кишечника HT29, повышая образование проапоптотического протеина BAK1 и снижая синтез антиапоптотического белка BAG1.

Антипролиферативный эффект $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ *in vivo* показан S.K. Padi и соавт. (2013) в экспериментах с ксенотрансплантатом НСТ-116 у крыс. Авторам удалось доказать, что $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ индуцирует синтез miR-627 (мкРНК), которая путем подавления действия JMJD1A (эпигенетический фактор — гистоновая деметилаза) подавляет экспрессию факторов пролиферации, таких как фактор роста и дифференцировки 15 [63].

D.P. Trivedi и соавт. провели одно из первых рандомизированных двойных слепых плацебоконтролируемых клинических исследований витамина D как препарата для лечения колоректального рака. В проекте принимали участие 2686 пациентов в возрасте 65–85 лет, которые получали 100 000 МЕ витамина D₃ или плацебо [64].

Еще одно рандомизированное двойное слепое плацебоконтролируемое исследование было выполнено J. Wactawski-Wende и соавт. в 2006 г. в рамках Women's Health Initiative в США с участием только женщин в постменопаузе ($n=36\,282$, возраст 50–79 лет), получавших витамин D в суточной дозе 400 МЕ, а также кальций в дозе 1 г/сут или плацебо [65]. По результатам обоих исследований доказать какую-либо связь между приемом препарата и развитием колоректального рака, а также выживаемостью в пятилетнем периоде не удалось.

Однако на молекулярном уровне P.R. Holt и соавт. (2006) показали, что ежедневный прием витамина D₃ (400 МЕ) и кальция (1,5 г) в течение 6 мес у 11 пациентов вызывал снижение интенсивности пролиферации слизистой оболочки толстой кишки и полипов, а также увеличение экспрессии BAK1 и уменьшение интенсивности синтеза муцина MUC5AC (часто ассоциирован с колоректальным раком) в полипах по сравнению с группой плацебо ($n=8$) [66]. В исследовании V. Fedirko и соавт. (2009) сообщается, что применение 800 МЕ/сут витамина D₃ и/или 2 г/сут кальция (у 92 больных с >1 аденомой, 6 мес лечения) увеличивало синтез p21 в колоректальных крипах [67].

Рак печени

В исследовании J. Akhter и соавт. (2001) $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, а также его аналоги EB1089, CB1093 продемонстрировали свою антипролиферативную активность в отношении линии клеток гепатобластомы человека HepG2 [68]. Z. Ghous и соавт. (2008) установили тот же эффект сеокальцитола (EB10890) на клетках рака печени Hep 3B, PLC/PRF/5 и SKHEP-1, а также *in vivo* на ксенотрансплантатах SKHEP-1 у крыс [69]. В исследовании K.C. Chiang и соавт. (2011) был использован MART-10, и получены похожие результаты [70]. Антипролиферативный эффект аналогов витамина D достигается путем уже описанного ранее механизма — накопления p27 и остановки клеток в G₁/S-фазе клеточного цикла, что было показано в исследовании W. Luo и соавт. [71].

В 2003 г. K. Dalhoff и соавт. провели клиническое исследование (без контрольной группы) сеокальцитола для лечения неоперабельной гепатоцеллюлярной карциномы ($n=56$). По его результатам доказано, что

сеокальцитол эффективен в лечении, особенно в пролонгированном режиме, у пациентов на ранней стадии болезни [72].

Другие онкологические заболевания

Подавление пролиферации онкоклеток $1\alpha,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ путем индуцирования p27, описанное выше, было также продемонстрировано Q.M. Wang и соавт. [73] на линии клеток HL60 (human promyelocytic leukemia cells — клетки-промиелоциты лейкоемии). В этой линии клеток аналог витамина D 20-эпи-витамин D₃ (KH 1060) снижал экспрессию bcl-2 (ингибитор апоптоза), что подтверждено в исследовании E. Elstner и соавт. [74]. Также изучено влияние других аналогов витамина D. К примеру, в исследовании T. Kumagai и соавт. продемонстрировано воздействие 19-Nor- $1,25(\text{OH})_2\text{D}_2$ в сочетании с оксидом мышьяка As₂O₃ (0,6–0,8 нмоль/л) на клетки миелоидной лейкоемии (HL-60, NB-4 и U937) и миеломы (RPMI-8226, ARH-77 и NCI-H929). Комбинация препаратов индуцировала ингибирование пролиферации в линиях HL-60, NB-4, RPMI-8226, NCI-H929 [75].

Эффект накопления p27 и индуцирования апоптоза был продемонстрирован *in vitro* на клетках KU-2 почечноклеточной карциномы человека в исследованиях T. Fujioka и соавт. [76], а также *in vivo* в исследовании J.R. Lambert и соавт. [77].

Другими исследователями установлено, что индукция апоптоза возможна в клетках рака яичника при воздействии кальцитриола, что достигается путем ингибирования экспрессии теломераз, в частности hTERT (F. Jiang и соавт., 2005), и подтверждает проапоптотический потенциал витамина D [78].

В проведенном нами обзоре публикаций представлены различные виды исследований, демонстрирующих влияние витамина D и его производных на канцерогенез различных локализаций. Исходя из описанных исследований *in vitro*, можно утверждать, что кальцитриол и некоторые другие формы витамина D способны воздействовать на экспрессию многих транскрипционных факторов апоптоза и пролиферации, обладая при этом проапоптотическим, антипролиферативным и антиметастатическим действием на культуры клеток рака молочной железы [10, 11], простаты [19, 20], панкреатического рака [40–42], а также рака толстой кишки [57, 59, 61], почек, яичника, крови [75, 76, 78] и кожи [33–35]. Кроме того, подобное действие подтверждено в исследованиях *in vivo* в отношении рака легких [26, 27], молочной железы [10], почек [77] и простаты [19].

Если рассматривать эпидемиологические исследования, то обратная связь между содержанием витамина D в сыворотке крови и риском развития рака установлена в большинстве представленных работ, однако следует отметить, что некоторые из них включают в себя изучение небольших когорт, например только женщин в постменопаузе, а также охватывают недостаточный возрастной спектр [16, 18]. Обращают на себя внимание эпидемиологические исследования в отношении риска развития рака простаты [21] и колоректального рака, в которых установлена прямая связь между сывороточным содержанием витамина D и случаями развития рака [51, 52, 54].

Для получения более точной информации относительно ассоциации сывороточного содержания витамина D и риска развития рака необходимо проведение масштабных эпидемиологических исследований, учи-

тывающих суточный уровень кальцитриола, а также включающих в себя разнообразные когорты пациентов и основывающихся на более длительных периодах наблюдения.

Заключение

На данный момент проведенные исследования не позволяют с достаточной степенью ясности рассматривать возможность использования витамина D и его аналогов в качестве средств предупреждения онкологических заболеваний на популяционном уровне. В этой связи особо актуальным является проведение крупных проспективных исследований (с высокой степенью защиты от субъективных возмущений), направленных на клиническую оценку эффективности применения витамина D и его производных для профилактики развития рака, снижения интенсивности метастазирования, предотвращения метастазии и т.д. Результаты подобных исследований могут стать основой формирования программ применения витамина D в рамках общей профилактики онкологических заболеваний.

Конфликт интересов

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

ЛИТЕРАТУРА

1. Parsons A., Daley A., Begh R., Aveyard P. Influence of smoking cessation after diagnosis of early stage lung cancer on prognosis: systematic review of observational studies with meta-analysis. *BMJ*. 2010; 340: b5569.
2. Allen J.D., Coronado G.D., Williams R.S., Glenn B., Escoffery C., Fernandez M. A Systematic Review of Measures Used in Studies of Human Papillomavirus (HPV) Vaccine Acceptability. *Vaccine*. 2010; 28 (24): 4027–4037.
3. Mellanby E. An experimental investigation on rickets. *Lancet*. 1919; 1: 407–412.
4. McCollum E.V., Simmonds N., Becker J.E., Shipley P.G. An experimental demonstration of the existence of a vitamin which promotes calcium deposition. *J. Biol. Chem.* 1922; 53: 293–298.
5. Haussler M.R., Norman A.W. Chromosomal receptor for a vitamin D metabolite. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1969; 62: 155–162.
6. Wang Y., Zhu J., DeLuca H.F. Where is the vitamin D receptor? *Arch. Biochem. Biophys.* 2012; 523: 123–133.
7. Costa J.L., Eijk P.P., van de Wiel M.A., ten Berge D., Schmitt F., Narvaez C.J., Welsh J., Ylstra B. Anti-proliferative action of vitamin D in MCF7 is still active after siRNA-VDR knock down. *BMC Genomics*. 2009; 10: 499.
8. Zehnder D., Bland R., Williams M.C., McNinch R.W., Howie A.J., Stewart P.M., Hewison M. Extrarenal expression of 25-hydroxyvitamin d(3)-1 alpha-hydroxylase. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2001; 86: 888–894.
9. Townsend K., Evans K.N., Campbell M.J., Colston K.W., Adams J.S., Hewison M. Biological actions of extra renal 25-hydroxyvitamin D-1-hydroxylase and implications for chemoprevention and treatment. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 2005; 97: 103–109.
10. James S.Y., Mackay A.G., Colston K.W. Effects of 1,25 dihydroxyvitamin D3 and its analogues on induction of apoptosis in breast cancer cells. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 1996; 58: 395–401.
11. Chiang K.C., Yeh C.N., Chen S.C., Shen S.C., Hsu J.T., Yeh T.S. MART-10, a New Generation of Vitamin D Analog, is More Potent than 1 α , 25-Dihydroxyvitamin D3 in Inhibiting Cell Proliferation and Inducing Apoptosis in ER+ MCF-7 Breast Cancer Cells. *Evid. Based Complement. Altern. Med.* 2012; 2012: 310872.
12. Zheng W., Tayyari F., Gowda G.A., Raftery D., McLamore E.S., Shi J., Porterfield D.M., Donkin S.S., Bequette B., Teegarden D. 1, 25 Dihydroxyvitamin D Regulation of Glucose Metabolism in Harveyras Transformed MCF10A Human Breast Epithelial Cells. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 2013; 138: 81–89.
13. Krishnan A.V., Swami S., Feldman D. The Potential Therapeutic Benefits of Vitamin D in the Treatment of Estrogen Receptor Positive Breast Cancer. *Steroids*. 2012; 77 (11): 1107–1112.
14. Rossi M., McLaughlin J.K., Lagiou P., Bosetti C., Talamini R., Lipworth L., Giacosa A., Montella M., Franceschi S., Negri E., La Vecchia C. Vitamin D intake and breast cancer risk: a case control study in Italy. *Ann. Oncol.* 2009; 20 (2): 374–378.
15. Yousef F.M., Jacobs E.T., Kang P.T., Hakim I.A., Going S., Yousef J.M., Al-Raddadi R.M., Kumosani T.A., Thomson C.A. Vitamin D status and breast cancer in Saudi Arabian women: case control study. *Am. J. Clin. Nutr.* 2013; 98: 105–110.
16. Shi L., Nechuta S., Gao Y.T., Zheng Y., Dorjgochoo T., Wu J., Q., Zheng W., Lu W., Shu X.O. Correlates of 25-Hydroxyvitamin D among Chinese Breast Cancer Patients. *PLOS ONE*. 2014; 9 (1): 86467.
17. Yao S., Zirpoli G., Bovbjerg D.H., Jandorf L., Zhao H., Sucheston L.E., Tang L., Roberts M., Ciupak G., Davis W., Hwang H., Johnson C.S., Trump D.L., McCann S.E., Ademuyiwa F., Pawlish K.S., Bandera E.V., Ambrosone C.B. Variants in the vitamin D pathway, serum levels of vitamin D and estrogen receptor negative breast cancer among African-American women: a case-control study. *Breast Cancer Res.* 2012; 14: 58.
18. Yao S., Hong C.C., McCann S.E., Zirpoli G., Quan L., Gong Z., Johnson C.S., Trump D.L., Ambrosone C.B. Combined Effects of Circulating Levels of 25-Hydroxyvitamin D and Th1 and Th2 Cytokines on Breast Cancer Estrogen Receptor Status. *Cancers*. 2014; 6: 211–225.
19. Blutt S.E., Polek T.C., Stewart L.V., Kattan M.W., Weigel N.L. A calcitriol analogue, EB1089, inhibits the growth of LNCaP tumors in nude mice. *Cancer Res.* 2000; 60: 779–782.
20. Peehl D. M., Krishnan A.V., Feldman D. Pathways mediating the growth-inhibitory actions of vitamin D in prostate cancer. *J. Nutr.* 2003; 133 (Suppl. 7): 2461–2469.
21. Tseng M., Breslow R.A., De Vellis R.F., Ziegler R.G. Dietary patterns and prostate cancer risk in the national health and nutrition examination survey epidemiological follow up study cohort. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2004; 13: 71–77.
22. Yin L., Raum E., Haug U., Arndt V., Brenner H. Meta-analysis of longitudinal studies: serum vitamin D and prostate cancer risk. *Cancer Epidemiol.* 2009; 33: 435–445.
23. Barnett C.M., Nielson C.M., Shannon J., Chan J.M., Shikany J.M., Bauer D.C., Hoffman A.R., Barrett-Connor E., Orwoll E., Beer T.M. Serum 25-OH vitamin D levels and risk of developing prostate cancer in older men. *Cancer Causes Control.* 2010; 21: 1297–1303.
24. Park S.Y., Cooney R.V., Wilkens L.R., Murphy S.P., Henderson B.E., Kolonel L.N. Plasma 25-hydroxyvitamin D and prostate cancer risk: the multiethnic cohort. *Eur. J. Cancer.* 2010; 46: 932–936.
25. Holt S.K., Kolb S., Fu R., Horst R., Feng Z., Stanford J.L. Circulating levels of 25-hydroxyvitamin D and prostate cancer prognosis. *Cancer Epidemiol.* 2013; 37: 666–670.
26. Nakagawa K., Sasaki Y., Kato S., Kubodera N., O. Toshio 22-Oxa 1 α , 25-dihydroxyvitamin D3 inhibits metastasis and

- angiogenesis in lung cancer. *Carcinogenesis*. 2005; 26: (6): 1044–1054.
27. Nakagawa K., Kawaura A., Kato S., Takeda E., Okano T. 1α , 25-Dihydroxyvitamin D3 is a preventive factor in the metastasis of lung cancer. *Carcinogenesis*. 2005; 26 (2): 429–440.
 28. Takata Y., Shu X.O., Yang G., Li H., Dai Q., Gao J., Cai Q., Gao Y.T., Zheng W. Calcium intake and lung cancer risk among female nonsmokers: A report from the Shanghai Women's Health Study. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2013; 22 (1): 50–57.
 29. Cheng T.Y., Lacroix A.Z., Beresford S.A., Goodman G.E., Thornquist M.D., Zheng Y., Chlebowski R.T., Ho G.Y., Neuhaus M.L. Vitamin D intake and lung cancer risk in the Women's Health Initiative. *Am. J. Clin. Nutr.* 2013; 98: 1002–1011.
 30. Matsumura Y., Ananthaswamy H.N. Toxic effects of ultraviolet radiation on the skin. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2004; 195: 298–308.
 31. Ziegler A., Jonason A.S., Leffell D.J., Simon J.A., Sharma H.W., Kimmelman J., Remington L., Jacks T., Brash D.E. Sunburn and p53 in the onset of skin cancer. *Nature*. 1994; 372: 773–776.
 32. Sequeira V.B., Rybchyn M.S., Tongkoo-On W., Gordon-Thomson C., Malloy P.J., Nemere I., Norman A.W., Reeve V.E., Halliday G.M., Feldman D., Mason R.S. The role of the vitamin D receptor and ERp57 in photoprotection by 1α , 25-dihydroxyvitamin D3. *Mol. Endocrinol.* 2012; 26: 574–582.
 33. Evans S.R., Houghton A.M., Schumaker L., Brenner R.V., Buras R.R., Davoodi F., Nauta R.J., Shabahang M. Vitamin D receptor and growth inhibition by 1,25-dihydroxyvitamin D3 in human malignant melanoma cell lines. *J. Surg. Res.* 1996; 61 (1): 127–133.
 34. Hansen C.M., Madsen M.W., Arensbak B., Skak-Nielsen T., Latini S., Binderup L. Down regulation of laminin binding integrins by 1 alpha, 25-dihydroxyvitamin D3 in human melanoma cells in vitro. *Cell Adhes. Commun.* 1998; 5 (2): 109–120.
 35. Essa S., Denzer N., Mahlknecht U., Klein R., Collnot E.M., Tilgen W., Reichrath J. VDR microRNA expression and epigenetic silencing of vitamin D signaling in melanoma cells. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 2010; 121 (1–2): 110–113.
 36. Gruber B.M., Anuszevska E.L. Influence of vitamin D3 metabolites on cell proliferation and cytotoxicity of adriamycin in human normal and neoplastic cells. *Toxicol. in vitro*. 2002; 16 (6): 663–667.
 37. Reichrath J., Rech M., Moeini M., Meese E., Tilgen W., Seifert M. In vitro comparison of the vitamin D endocrine system in 1,25 (OH) 2D3-responsive and resistant melanoma cells. *Cancer Biol. Ther.* 2007; 6 (1): 48–55.
 38. Song E.J., Gordon-Thomson C., Cole L., Stern H., Halliday G.M., Damian D.L., Reeve V.E., Mason R.S. 1α , 25-Dihydroxyvitamin D (3) reduces several types of UV-induced DNA damage and contributes to photoprotection. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 2012; 136: 131–138.
 39. Bahar-Shany K., Ravid A., Koren R. Upregulation of MMP-9 production by TNF alpha in keratinocytes and its attenuation by vitamin D. *J. Cell Physiol.* 2010; 222: 729–737.
 40. Schwartz G.G., Eads D., Rao A., Cramer S.D., Willingham M.C., Chen T.C., Jamieson D.P., Wang L., Burnstein K.L., Holick M.F., Koumenis C. Pancreatic cancer cells express 25-hydroxyvitamin D-1 alphasynthase and their proliferation is inhibited by the prohormone 25-hydroxyvitamin D3. *Carcinogenesis*. 2004; 25 (6): 1015–1026.
 41. Kawa S., Nikaido T., Aoki Y., Zhai Y., Kumagai T., Furihata K., Fujii S., Kiyosawa K. Vitamin D analogues up regulate p21 and p27 during growth inhibition of pancreatic cancer cell lines. *Brit. J. Cancer*. 1997; 76: 884–889.
 42. Schwartz G.G., Eads D., Naczki C., Northrup S., Chen T., Koumenis C. 19-nor-1 alpha, 25-dihydroxyvitamin D2 (paricalcitol) inhibits the proliferation of human pancreatic cancer cells in vitro and in vivo. *Cancer Biol. Ther.* 2008; 7 (3): 430–436.
 43. Boscoe F.P., Schymura M.J. Solar ultraviolet-B exposure and cancer incidence and mortality in the United States, 1993–2002. *BMC Cancer*. 2006; 6: 264.
 44. Kinoshita S., Wagatsuma Y., Okada M. Geographical distribution for malignant neoplasm of the pancreas in relation to selected climatic factors in Japan. *Int. J. Health Geogr.* 2007; 6: 34.
 45. Zablotska L.B., Gong Z., Wang F., Holly E.A., Bracci P.M. Vitamin D, calcium, and retinol intake, and pancreatic cancer in a population based case control study in the San Francisco Bay area. *Cancer Causes Control*. 2011; 22 (1): 91–100.
 46. Skinner H.G., Michaud D.S., Giovannucci E., Willett W.C., Colditz G.A., Fuchs C.S. Vitamin D intake and the risk for pancreatic cancer in two cohort studies. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 2006; 15 (9): 1688–1695.
 47. Stolzenberg-Solomon R.Z., Vieth R., Azad A., Pietinen P, Taylor P.R., Virtamo J., Albanes D. A prospective nested case control study of vitamin D status and pancreatic cancer risk in male smokers. *Cancer Res.* 2006; 66 (20): 10213–10219.
 48. Stolzenberg-Solomon R.Z., Hayes R.B., Horst R.L., Anderson K.E., Hollis B.W., Silverman D.T. Serum vitamin D and risk of pancreatic cancer in the prostate, lung, colorectal, and ovarian screening trial. *Cancer Res.* 2009; 69 (4): 1439–1447.
 49. Stolzenberg-Solomon R.Z., Jacobs E.J., Arslan A.A., Qi D., Patel A.V., Helzlsouer K.J., Weinstein S.J., McCullough M.L., Purdue M.P., Shu X.O., Snyder K., Virtamo J., Wilkins L.R., Yu K, Zeleniuch-Jacquotte A., Zheng W., Albanes D., Cai Q., Harvey C., Hayes R., Clipp S., Horst R.L., Irish L., Koenig K., Le Marchand L., Kolonel L.N. Circulating 25-hydroxyvitamin D and risk of pancreatic cancer: Cohort Consortium Vitamin D Pooling Project of Rarer Cancers. *Am. J. Epidemiol.* 2010; 172 (1): 81–93.
 50. Garland C.F., Garland F.C. Do sunlight and vitamin D reduce the likelihood of colon cancer? *Int. J. Epidemiol.* 1980; 9: 65–71.
 51. Garland C.F., Comstock G.W., Garland F.C., Helsing K.J., Shaw E.K. GORHAM E.D. Serum 25-hydroxyvitamin D and colon cancer: eight year prospective study. *Lancet*. 1989; 2: 1176–1178.
 52. Freedman D.M., Looker A.C., Chang S.C., Graubard B.I. Prospective study of serum vitamin D and cancer mortality in the United States. *J. Natl. Cancer Inst.* 2007; 99: 1594–1602.
 53. Gandini S., Boniol M., Haukka J., Byrnes G., Cox B., Sneyd M.J., Mullie P., Autier P. Meta-analysis of observational studies of serum 25-hydroxyvitamin D levels and colorectal, breast and prostate cancer and colorectal adenoma. *Int. J. Cancer*. 2011; 128: 1414–1424.
 54. Atoum M.F., Tchoporyan M.N. Association between Circulating Vitamin D, the TaqI Vitamin D Receptor Gene Polymorphism and Colorectal Cancer Risk among Jordanians. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 2014; 15: 7337–7341.
 55. Weinstein S.J., Yu K., Horst R.L., Ashby J., Virtamo J., Albanes D. Serum 25-Hydroxyvitamin D and Risks of Colon and Rectal Cancer in Finnish Men. *Am. J. Epidemiol.* 2011; 173: 499–508.
 56. Chung M., Lee J., Terasawa T., Lau J., Trikalinos T.A. Vitamin D with or without calcium supplementation for prevention of cancer and fractures: an updated meta-analysis for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann. Intern. Med.* 2011; 155: 827–838.
 57. Evans S.R., Soldatenkov V., Shchepotin E.B., Bograss E., Shchepotin I.B. Novel 19-nor-hexafluoride vitamin D3 analog (Ro 25-6760) inhibits human colon cancer in vitro via apoptosis. *Int. J. Oncol.* 1999; 14: 979–985.
 58. Shah S., Islam M.N., Dakshanamurthy S., Rizvi I., Rao M., Herrell R., Zinser G., Valrance M., Aranda A., Moras D., Norman A., Welsh J., Byers S.W. The molecular basis of vitamin D receptor and b-catenin cross regulation. *Molecular Cell*. 2006; 21: 799–809.
 59. Palmer H.G., Gonza'lez-Sancho J.M., Espada J., Berciano M.T., Puig I., Baulida J., Quintanilla M., Cano A., Garc'ia de Herberos A., Lafarga M., Mu'noz A. Vitamin D3 promotes the differentiation of colon carcinoma cells by the induction of E-cadherin and the inhibition of b-catenin signaling. *J. Cell Biol.* 2001; 154: 369–387.

60. Kaler P., Augenlicht L., Klampfer L. Macrophage-derived IL-1 β stimulates Wnt signaling and growth of colon cancer cells: a cross-talk interrupted by vitamin D3. *Oncogene*. 2009; 28: 3892–3902.
61. Diaz G.D., Paraskeva C., Thomas M.G., Binderup L., Hague A. Apoptosis is induced by the active metabolite of vitamin D3 and its analogue EB1089 in colorectal adenoma and carcinoma cells: possible implications for prevention and therapy. *Cancer Res*. 2000; 60: 2304–2312.
62. Barnes J.D., Arhel N.J., Lee S.S., Sharp A., Al-Okail M., Packham G., Hague A., Paraskeva C., Williams A.C. Nuclear BAG-1 expression inhibits apoptosis in colorectal adenoma derived epithelial cells. *Apoptosis*. 2005; 10: 301–311.
63. Padi S.K., Zhang Q., Rustum Y.M., Morrison C., Guo B. MicroRNA-627 Mediates the Epigenetic Mechanisms of Vitamin D to Suppress Proliferation of Human Colorectal Cancer Cells and Growth of Xenograft Tumors in Mice. *Gastroenterology*. 2013; 145 (2): 437–446.
64. Trivedi D.P., Doll R., Khaw K.T. Effect of four monthly oral vitamin D3 (cholecalciferol) supplementation on fractures and mortality in men and women living in the community: randomised double blind controlled trial. *BMJ*. 2003; 326: 469.
65. Wactawski-Wende J., Kotchen J.M., Anderson G.L., Assaf A.R., Brunner R.L., O'Sullivan M.J., Margolis K.L. Calcium plus vitamin D supplementation and the risk of colorectal cancer. *N. Engl. J. Med*. 2006; 354: 684–696.
66. Holt P.R., Bresalier R.S., Ma C.K., Liu K.F., Lipkin M., Byrd J.C., Yang K. Calcium plus vitamin D alters preneoplastic features of colorectal adenomas and rectal mucosa. *Cancer*. 2006; 106: 287–296.
67. Fedirko V., Bostick R.M., Flanders W.D., Long Q., Shaikat A., Rutherford R.E., Daniel C.R., Cohen V., Dash C. Effects of vitamin D and calcium supplementation on markers of apoptosis in normal colon mucosa: a randomized, double blind, placebo controlled clinical trial. *Cancer Prev. Res*. 2009; 2: 213–223.
68. Akhter J., Lu Y., Finlay I., Pourgholami M.H., Morris D.L. 1 α ,25-dihydroxyvitamin D3 and its analogues, EB1089 and CB1093, profoundly inhibit the in vitro proliferation of the human hepatoblastoma cell line HepG2. *ANZ J. Surg*. 2001; 71 (7): 414–417.
69. Ghous Z., Akhter J., Pourgholami M.H., Morris D.L. Inhibition of hepatocellular cancer by EB1089: in vitro and in vivo study. *Anticancer Res*. 2008; 28 (6A): 3757–3761.
70. Chiang K.C., Yeh C.N., Chen H.Y., Lee J.M., Juang H.H., Chen M.F., Takano M., Kittaka A., Chen T.C. 19-nor-2 α -(3-hydroxypropyl)-1 α ,25-dihydroxyvitamin D3(MART-10) is a potent cell growth regulator with enhanced chemotherapeutic potency in liver cancer cells. *Steroids*. 2011; 76 (13): 1513–1519.
71. Luo W., Chen Y., Liu M., Du K., Zheng G., Cai T., Zhang W., Zhao F., Yao T., Yang R., Chen J. EB1089 induces Skp2 dependent p27 accumulation, leading to cell growth inhibition and cell cycle G1 phase arrest in human hepatoma cells. *Cancer Invest*. 2009; 27 (1): 29–37.
72. Dalhoff K., Dancy J., Astrup L., Skovsgaard T., Hamberg K.J., Lofts F.J., Rosmorduc O., Erlinger S., Bach Hansen J., Steward W.P., Skov T., Burcharth F., Evans T.R. A Phase II study of the vitamin D analogue Seocalcitol in patients with inoperable hepatocellular carcinoma. *Brit. J. Cancer*. 2003; 89 (2): 252–257.
73. Wang Q.M., Jones J.B., Studzinski G.P. Cyclin dependent kinase inhibitor p27 as a mediator of the G1–S phase block induced by 1,25-dihydroxyvitamin D3 in HL60 cells. *Cancer Res*. 1996; 56: 264–267.
74. Elstner E., Linker-Israeli M., Umiel T. Le J., Grillier I., Said J., Shintaku I.P., Krajewski S., Reed J.C., Binderup L., Koeffler H.P. Combination of a potent 20-epi-vitamin D3 analogue (KH 1060) with 9-cisretinoic acid irreversibly inhibits clonal growth, decreases bcl-2 expression, and induces apoptosis in HL-60 leukemic cells. *Cancer Res*. 1996; 56: 3570–3576.
75. Kumagai T., Shih L.Y., Hughes S.V., Desmond J.C., O'Kelly J., Hewison M., Koeffler H.P. 19-nor-1,25 (OH) 2D2 (a Novel, Non-calcemic Vitamin D Analogue), Combined with Arsenic Trioxide, Has Potent Antitumor Activity against Myeloid Leukemia. *Cancer Res*. 2005; 65: 2488–2497.
76. Fujioka T., Suzuki Y., Okamoto T., Mastushita N., Hasegawa M., Omori S. Prevention of renal cell carcinoma by active vitamin D3. *World J. Surg*. 2000; 24: 1205–1210.
77. Lambert J.R., Eddy V.J., Young C.D., Persons K.S., Sarkar S., Kelly J.A., Genova E., Lucia M.S., Faller D.V., Ray R. A vitamin D receptor alkylating derivative of 1 α , 25-dihydroxyvitamin D3 inhibits growth of human kidney cancer cells and suppresses tumor growth. *Cancer Prev. Res. (Phila)*. 2010; 3, 1596–1607.
78. Jiang F., Bao J., Li P., Nicosia S.V., Bai W. Induction of ovarian cancer cell apoptosis by 1,25-dihydroxyvitamin D3 through the down regulation of telomerase. *J. Biol. Chem*. 2004; 279 (51): 53213–53221.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Кобякова Ольга Сергеевна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой общей врачебной практики с курсом поликлинической терапии СибГМУ, ректор СибГМУ

Адрес: 634050, Томск, Московский тракт, д. 2, тел.: + 7 (3822) 53-04-23, e-mail: olga_kobyakova@rambler.ru

Деев Иван Анатольевич, доктор медицинских наук, профессор кафедры факультетской педиатрии с курсом детских болезней лечебного факультета СибГМУ, проректор по развитию – первый проректор СибГМУ

Адрес: 634050, Томск, Московский тракт, д. 2, тел.: + 7 (3822) 53-04-23, e-mail: ivandeyev@yandex.ru

Тюфиллин Денис Сергеевич, студент VI курса лечебного факультета СибГМУ

Адрес: 634050, Томск, Московский тракт, д. 2, тел.: + 7 (3822) 52-77-47, e-mail: dtufilin@gmail.com

Куликов Евгений Сергеевич, доктор медицинских наук, доцент кафедры общей врачебной практики с курсом поликлинической терапии СибГМУ, начальник научного управления СибГМУ

Адрес: 634050, Томск, ул. Московский тракт, д. 2, тел.: + 7 (3822) 52-77-47, e-mail: evgeny.s.kulikov@gmail.com

Клинико-иммунологические особенности инфекционных осложнений у больных множественной миеломой

Инфекционные осложнения — ведущая причина смертности больных множественной миеломой (ММ), их появление расценивают как неблагоприятный прогностический фактор в течении заболевания. **Цель исследования:** изучить клинические и иммунологические особенности инфекционных осложнений у больных G-иммунохимическим вариантом ММ для поиска наиболее информативных показателей в их прогнозировании. **Методы:** проведено нерандомизированное контролируемое исследование. Для сравнения выделено 3 группы: группа 1 (n = 47) — больные ММ G-иммунохимического варианта с инфекционными осложнениями; группа 2 (n = 54) — больные ММ G-иммунохимического варианта без инфекционных осложнений; группа 3 (n = 125) — практически здоровые добровольцы. Материалом для исследования послужила венозная кровь, которую брали при поступлении больных в гематологическое отделение до начала патогенетического лечения. Идентификацию G-варианта ММ осуществляли методом иммунофиксации и электрофореза. Иммунный статус оценивали при помощи непрямой иммунофлуоресценции. Концентрацию IgA, M, E и G и цитокинов ИЛ 2, ИЛ 4, ИЛ 8, ФНО α, ИФН γ в сыворотке крови определяли иммуноферментным анализом. Для изучения активности нейтрофильных гранулоцитов применяли хемилюминесцентный анализ спонтанной и индуцированной продукции активных форм кислорода. Статистическую обработку данных проводили с помощью пакета программ STATISTICA v. 8.0 (США). **Результаты:** проанализированы данные от 101 больного ММ и 125 практически здоровых добровольцев. Средний возраст больных ММ составил 60,53±6,78 года. Группа практически здоровых добровольцев была сопоставима по полу и возрасту с группами больных ММ. У больных ММ при наличии инфекционных осложнений обнаружено развитие комбинированного вторичного T- и B-клеточного иммунодефицита, изменения в неспецифическом звене иммунитета зависели от стадии заболевания, выявлялись однонаправленные нарушения в спонтанной и индуцированной хемилюминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов на II и разнонаправленные — на III стадии заболевания (p = 0,045). Установлены преобладание содержания провоспалительных цитокинов над противовоспалительными (p < 0,001) и девиация иммунного ответа по T_{H1}-типу. **Заключение:** полученная совокупность 6 информативных показателей (содержание ИЛ 2, 4, ФНО α, IgG, абсолютное число CD4⁺ и CD19⁺ клеток) дает возможность разработки способа прогнозирования инфекционных осложнений у больных ММ.

Ключевые слова: неспецифический иммунитет, цитокины, специфический иммунитет, нейтрофильные гранулоциты, лимфоциты, инфекционные осложнения, множественная миелома.

(Для цитирования: Смирнова О.В., Манчук В.Т., Агилова Ю.Н. Клинико-иммунологические особенности инфекционных осложнений у больных множественной миеломой. *Вестник РАМН*. 2015; 70 (5): 534–540. Doi: 10.15690/vramn.v70.i5.1439)

534

O.V. Smirnova, V.T. Manchuk, Yu.N. Agilova

Research Institute of Medical Problems of the North, Krasnoyarsk, Russian Federation

Clinical and Immunological Features of Infectious Complications in Patients with Multiple Myeloma

Background: Infectious complications — the leading cause of mortality in patients with multiple myeloma (MM), their appearance is regarded as an adverse prognostic factor in the course of the disease. **Objective:** The aim of our study was to evaluate the clinical and immunological features of infectious complications in patients with G- immunochemical MM to find the most informative indicators in their forecasting. **Methods:** A randomized controlled trial was made. All patients were divided into 3 groups for comparison: Group 1 (n = 47) — MM patients, G-immunochemical variant with infection, Group 2 (n = 54) — MM patients, G-immunochemical option no infectious complications, and Group 3 (n = 125) — healthy volunteers. Research material was deoxygenated blood taken on admission of a patient to the hematology department before the pathogenetic treatment. Identification of G-variant was carried by immunofixation and electrophoresis. The immune status was assessed by indirect immunofluorescence. The concentration of IgA, M, E and G, and the levels of IL 2, IL 4, IL 8, TNF α, IFN γ in serum was determined by enzyme immunoassay. The activity of neutrophil granulocytes (NG) was studied by chemiluminescent analysis of spontaneous and induced production of reactive oxygen species. Statistical analysis was performed using the software STATISTICA v. 8.0 (USA). **Results:** We analyzed data from 101 patients with MM and 125 healthy volunteers. The average age of MM patients was 60.53±6.78 years. The group of healthy volunteers was similar in sex and age to groups of patients with MM. In patients with MM in the presence of infectious complications the researchers detected combined secondary development of T and B cell immunodeficiency, changes in non-specific immunity depended on the stage of the disease, unidirectional irregularities in spontaneous and induced chemiluminescence activity NG in II stage disease and multidirectional irregularities in stage III (p = 0.045). Prevalence of the content of proinflammatory cytokines on inflammatory (p < 0.001) and the deviation of the immune response to T_{H1}-type were detected. **Conclusion:** the set of 6 informative indicators (the content of IL 4, IL 2, TNF α, IgG, the absolute number of CD4⁺ and CD19⁺ cells) enables the development of prediction method of infectious complications in patients with MM.

Key words: non-specific immunity, cytokines, specific immunity, neutrophil granulocytes, lymphocytes, infectious complications, multiple myeloma.

(For citation: Smirnova O.V., Manchuk V.T., Agilova Yu.N. Clinical and Immunological Features of Infectious Complications in Patients with Multiple Myeloma. *Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2015; 70 (5): 534–540. Doi: 10.15690/vramn.v70.i5.1439)

Обоснование

Множественная миелома (ММ) — злокачественное заболевание крови, обусловленное неопластической пролиферацией плазматических клеток с тотальным замещением костного мозга, наличием М-протеина в сыворотке крови, развитием костных и почечных осложнений [1].

ММ (по данным REAL-классификации 1994 г.) — периферическая В-клеточная лимфоидная опухоль низкой степени злокачественности. Ежегодно в среднем регистрируют 3 новых случая заболевания на 100 тыс. населения [2]. ММ — это болезнь пожилого возраста, поэтому с возрастом число заболевших увеличивается. Так, у лиц старше 60 лет заболеваемость в среднем составляет уже 37 случаев на 100 тыс. населения [2]. В Российской Федерации ежегодно диагностируют приблизительно 20 тыс. новых случаев ММ, при этом средний возраст заболевших составляет 62 года [2]. В настоящее время наблюдается увеличение числа больных младше 40 лет: до 5% всех случаев заболеваний приходится на эту возрастную группу. В целом за последние годы зафиксировано увеличение общего числа случаев заболеваний ММ [3].

Согласно иммунохимической классификации ММ, в зависимости от продуцируемого иммуноглобулина выделяют 5 вариантов заболевания: G, A, D, E и несекретирующая миелома. Частота встречаемости иммунохимических вариантов ММ соответствует распределению нормальных иммуноглобулинов в сыворотке крови: G-миелома обнаруживается в 50% случаев, A-миелома — в 25%, D-миелома — в 1%, M-миелома и несекретирующая форма встречаются очень редко [4]. G-иммунохимический вариант ММ является наиболее прогностически благоприятным.

В настоящее время современные способы лечения (лучевая и химиотерапия) способствуют увеличению продолжительности и повышению качества жизни больных ММ, однако данное заболевание до сих пор остается неизлечимым. При этом общая продолжительность жизни с момента постановки диагноза до наступления летального исхода не превышает 8 лет, а медиана выживаемости составляет 4,5 года [1, 2, 4]. Среди причин смертности больных ММ лидируют инфекционные осложнения [5]. Выделяют местные и генерализованные инфекционно-воспалительные процессы. Наиболее часто при ММ встречаются сепсис, пневмония, тяжелые поражения желудочно-кишечного тракта [5–7]. Инфекционно-воспалительные заболевания утяжеляют состояние больных ММ, способствуют прогрессированию онкологического процесса [8–10]. Адекватная антибактериальная терапия при онкологическом состоянии не всегда купирует возникшие осложнения. Таким образом, возникновение инфекционных осложнений может расцениваться как неблагоприятный прогностический фактор в течении ММ.

Целью нашего исследования было изучить клинические и иммунологические особенности инфекционных осложнений у больных G-иммунохимическим вариантом ММ для поиска наиболее информативных показателей прогнозирования.

Методы

Дизайн исследования

Проведено нерандомизированное контролируемое исследование.

Критерии соответствия

Критерии включения:

- согласие пациентов на участие в исследовании;
- верифицированный G-иммунохимический вариант ММ;
- первичное обращение к врачу-гематологу (до обращения пациенты не получали патогенетического лечения по поводу ММ, диагноз был первичным);
- отсутствие патогенетической терапии на момент взятия крови.

Критерии невключения:

- отказ пациентов от участия в исследовании;
- другие иммунохимические варианты ММ;
- сопутствующие онкологические заболевания;
- ВИЧ-инфекция;
- возраст более 80 лет.

Условия проведения

Отбор больных ММ, их клиническое и лабораторное обследование и наблюдение осуществляли в гематологическом отделении Краевой клинической больницы г. Красноярска, иммунологические тесты выполняли в лаборатории клинической патофизиологии НИИ медицинских проблем Севера.

Продолжительность исследования

Исследование проводилось в период с 2011 по 2013 г.

Описание медицинского вмешательства

Диагноз ММ верифицировали по результатам клинического и лабораторного обследования. Идентификацию G-варианта ММ проводили методом иммунофиксации и электрофореза. Диагноз подтвержден сочетанием диагностических критериев по Durie, Salmon (1975; 2000) [4] и наличием (либо отсутствием) инфекционных осложнений. Степень поражения костей подтверждалась рентгенологическим исследованием и результатом магнитно-резонансной томографии.

Объектом исследования служила венозная кровь, которую брали утром, с 8 до 9 ч, натощак из локтевой вены в пробирки с гепарином при поступлении больного в стационар, до назначения патогенетической терапии. Динамическое наблюдение за больными осуществляли на протяжении всего периода пребывания их в стационаре.

При поступлении собирали анамнез всех пациентов, оценивали клинические синдромы (поражения костей, нервной системы, почек, синдром повышенной вязкости крови, геморрагический синдром, синдром нарушения гемопоэза, угнетение иммунитета), измеряли пульс, артериальное давление, частоту дыхательных движений, температуру тела, выполняли стандартные исследования крови (развернутый клинический анализ крови, биохимическое исследование крови с определением мочевины, электролитов, активности АЛТ, АСТ, содержания альбумина, С-реактивного белка, оценкой коагуляционного профиля). Проводили микробиологическое исследование мокроты больных при поступлении. При обнаружении возбудителя *Legionella pneumophila* ведение больных осуществляли согласно рекомендациям Британского торакального общества (BTS, 2001; 2004).

Иммунный статус оценивали методом непрямой иммунофлуоресценции с использованием моноклональных антител к CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD16⁺, CD19⁺, HLA-DR⁺ (ОО «Сорбент», Россия). Для дополнительной оценки Т-клеточного звена иммунной системы определяли следующие соотношения: CD4⁺ / CD8⁺, лейкоциты / CD3⁺,

лейкоциты / CD19⁺, а также индекс активации Т лимфоцитов (HLA-DR⁺ / CD19⁺) [11].

Центрифугированием в градиенте плотности фико-колл-верографин ($\rho = 1,077$) по методу А. Воуин (1968) выделяли лимфоциты. Содержание иммуноглобулинов (Ig) классов А, М, Е и G в сыворотке крови определяли иммуноферментным анализом (ИФА). По интенсивности относительного синтеза IgA (IgA / CD19⁺), IgE (IgE / CD19⁺), IgG (IgG / CD19⁺), IgM (IgM / CD19⁺) оценивали состояние гуморального звена иммунной системы [12]. Относительный синтез иммуноглобулина представляет собой отношение содержания данного иммуноглобулина в сыворотке крови к абсолютному числу CD19⁺ лимфоцитов. Содержание интерлейкинов (ИЛ) 2, 4 и 8, фактора некроза опухоли (ФНО) α , интерферона (ИФН) γ в сыворотке крови больных ММ и здоровых добровольцев оценивали с применением ИФА, используя наборы реагентов производства ЗАО «Вектор-Бест» (Россия).

Для изучения активности нейтрофильных гранулоцитов (НГ) как неспецифического звена иммунной системы использовали хемилюминесцентный анализ спонтанной и индуцированной продукции активных форм кислорода НГ больных ММ в зависимости от стадии заболевания и практически здоровых добровольцев [13]. На 36-канальном хемилюминесцентном анализаторе CL 3606 (Россия) в течение 90 мин осуществляли оценку спонтанной и индуцированной хемилюминесценции. Вычисляли следующие параметры: время выхода кривой на максимум интенсивности хемилюминесценции (T_{\max}), максимальное значение интенсивности хемилюминесценции (I_{\max}), площадь кривой хемилюминесценции (S). Для усиления хемилюминесценции использовали люминол. Для индукции респираторного взрыва применяли опсонизированный зимозан. По соотношению площади индуцированной ($S_{\text{инд}}$) к площади спонтанной ($S_{\text{спонт}}$) хемилюминесценции определяли усиление хемилюминесценции, и обозначали данный показатель как индекс активации.

Для определения наиболее значимых показателей гуморального, клеточного и неспецифического звена иммунитета при развитии инфекционных осложнений и оценки равномерности распределения исследуемых показателей нами был применен дискриминантный анализ по методу Forward stepwise. Число заданных шагов соответствовало числу исследуемых параметров иммунного статуса.

Исходы исследования

На основании комплексного изучения показателей гуморального, клеточного и неспецифического звена иммунитета при развитии инфекционных осложнений у больных ММ с использованием математических методов были выявлены 6 наиболее информативных показателей в прогрессировании заболевания: концентрация ИЛ 2, 4, IgG, ФНО α , абсолютное число CD4⁺ и CD19⁺ клеток.

Анализ в подгруппах

Для сравнения было выделено 3 группы: группа 1 ($n = 47$) — больные ММ G-иммунохимического варианта с инфекционными осложнениями; группа 2 ($n = 54$) — больные ММ G-иммунохимического варианта без инфекционных осложнений; группа 3 ($n = 125$) — практически здоровые добровольцы.

По стадиям ММ сформировали следующие подгруппы больных: больные ММ на II стадии заболевания с инфекционными осложнениями ($n = 19$), больные ММ на II стадии заболевания без инфекционных осложнений

($n = 45$), больные ММ на III стадии заболевания с инфекционными осложнениями ($n = 28$), больные ММ на III стадии заболевания без инфекционных осложнений ($n = 9$) и практически здоровые добровольцы.

Методы регистрации исходов

Деление больных ММ по стадиям осуществляли по классификации Durie, Salmon [14], развитие инфекционных осложнений оценивали по диагностическим критериям МКБ-10 [15], оценку степени тяжести пневмонии у больных производили по шкале CURB-65 BTS (2004), определяли индекс тяжести пневмонии (PSI) [16]. Сепсис у пациентов диагностировали при наличии пневмонии и двух или более SIRS-критериев (синдром системного ответа на воспаление, Systemic Inflammatory Response Syndrome) [11]. Оценку первичных исходов давали по месячной смертности. Летальность больных ММ от инфекционных осложнений оценивали по данным патологоанатомического вскрытия.

Оценку степени тяжести пневмонии у больных ММ производили по шкале CURB-65 BTS (спутанность сознания, мочевины крови >7 ммоль/л при норме 2,5–7, частота дыхательных движений ≥ 30 в минуту при норме 16–20, систолическое артериальное давление <90 мм рт.ст. при норме 110–129, диастолическое артериальное давление ≤ 60 мм рт.ст. при норме 70–89, PSI — индекс тяжести пневмонии по прогностической шкале PORT). В случаях, когда температура тела больного была ниже 36 или выше 38 °С, частота сердечных сокращений — более 90 уд./мин, частота дыхательных движений — от 20 и выше в мин, или содержание артериального диоксида углерода было менее 32 мм рт.ст., а число лейкоцитов в крови — менее 4 или более 12×10^9 /л, диагностировали септическое воспалительное заболевание. Диагноз «Сепсис» устанавливали при наличии пневмонии и 2 или более SIRS-критериев.

Этическая экспертиза

Проведение исследования одобрено Комитетом по биомедицинской этике НИИ медицинских проблем Севера (Красноярск). Протокол № 11 от 12.12.2011 г.

Статистический анализ

По результатам исследования в пакете электронных таблиц MS Excel 2010 была сформирована база данных. Статистическую обработку данных проводили при помощи пакета программ STATISTICA v. 8.0 (StatSoft Inc., США). Для данных, подчиняющихся закону нормального распределения, определяли среднее арифметическое значение (M), ошибку среднего (m). Оценку достоверности различий средних осуществляли с использованием t-критерия Стьюдента. Обработка данных, не подчиняющихся закону нормального распределения, включала определение медианы (Me) и перцентилей (C_{25} – C_{75}). Статистическую значимость различий оценивали с использованием критерия Манна–Уитни. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимали равным $p < 0,05$. Для системного анализа использовали дискриминантный и канонический подход.

Результаты

Участники исследования

Участников исследования разделили на 3 группы: 47 больных ММ G-иммунохимического варианта с инфекционными осложнениями; 54 пациента с ММ G-иммунохимического варианта без инфекционных ос-

ложений и 125 практически здоровых добровольцев. Возраст больных ММ составил от 43 до 76 (средний возраст $60,5 \pm 6,8$) лет. Из 101 больного ММ мужчин было 39 (39%), женщин — 62 (62%). Возраст мужчин составил от 47 до 73 ($60,0 \pm 2,3$) лет, женщин — от 43 до 76 ($61,0 \pm 3,7$) лет. Статистически значимых различий по полу и возрасту между больными ММ с /без инфекционных осложнений не отмечено ($p = 0,060$). Группа практически здоровых добровольцев была сопоставима по полу и возрасту с группами больных ММ ($p = 0,057$). Группы больных ММ были разделены на подгруппы в зависимости от стадии заболевания (II, III стадии; см. Методы).

У 93 (93,93%) человек обнаружены деструктивные очаги в костях. Статистически значимых различий в сопутствующих заболеваниях между больными ММ на II и III стадии заболевания отмечено не было ($p = 0,080$). При поступлении в гематологическое отделение у 47 (46%) больных развились инфекционные осложнения: у 2 (1,98%) — сепсис при наличии пневмонии и 2 или более SIRS-критериев; у 45 (44,6%) — острая пневмония. У 19 (29,7%) больных ММ на II стадии и у 28 (75,7%) пациентов с ММ III стадии заболевания диагностировали инфекционные осложнения, при этом не обнаружено статистически значимых различий по числу больных сепсисом в данных группах (по одному пациенту в каждой группе; $p = 0,070$).

Основные результаты исследования

У 47 (46,5%) больных во время клинического наблюдения развились инфекционные осложнения: у 2 (1,98%) отмечалась генерализованная гнойно-септическая инфекция (сепсис), у 45 (44,6%) — локальные воспалительные заболевания (острая пневмония).

От инфекционных осложнений, несмотря на проводимую антибактериальную терапию, умерли 4 (3,96%) человека. Смертность в группе с инфекционными осложнениями составила 1,88%, в общей группе ММ — 4,04%.

Пациентов, у которых рентгенологически в легких диагностировали воспалительный инфильтрат, и которые имели 3 или более симптомов или признаков воспаления (кашель, отделение мокроты, одышка, боль в грудной клетке или другие признаки, подтверждающие развитие пневмонии аускультативно), относили к группе больных ММ с инфекционными осложнениями (пневмонией).

Только у 30% больных ММ с острыми пневмониями диагноз был подтвержден положительным микробиологическим тестом. Наиболее часто встречающимися изолированными патогенами были *Streptococcus pneumoniae* и *Haemophilus influenzae*. Не было обнаружено статистически значимых различий по микробиологическим агентам у больных ММ со II и III стадией заболевания ($p = 0,060$).

Также не установлено статистически значимых различий по тяжести острой пневмонии между больными ММ с II и III стадией заболевания (31,5 против 37,5%; $p = 0,100$; ≥ 3 по шкале CURB-65). Концентрация С-реактивного белка была выше у пациентов с ММ II стадии, чем у больных с III стадией (183 против 143 мг/л; $p = 0,045$). По содержанию альбумина в крови группы не различались ($p = 0,050$).

Не было статистически значимых различий и в необходимости проведения искусственной вентиляции легких или вазопрессорной поддержки между пациентами со II и III стадией ММ (9,1 против 7,9%; $p = 0,300$).

Смертность от пневмонии за 30 сут наблюдения составила 8,5% (умерли 4 больных ММ), из них доля больных ММ II стадии составила 5,26%, III стадии — 10,7%.

При оценке клеточного звена иммунитета на II стадии ММ с инфекционными осложнениями наблюдали значимое уменьшение относительного и абсолютного числа $CD3^+$ и $CD4^+$ клеток ($p = 0,045$), абсолютного числа $CD16^+$ клеток ($p = 0,001$), относительного числа $CD8^+$ и $CD19^+$ клеток ($p = 0,045$), а также статистически значимое уменьшение соотношения $CD4^+ / CD8^+$ относительно группы больных без инфекционных осложнений ($p < 0,001$). На III стадии ММ с инфекционными осложнениями наблюдали аналогичные изменения, при этом общее число $CD3^+$ клеток было резко снижено ($p = 0,001$). При оценке гуморального звена иммунитета у больных ММ с инфекционными осложнениями независимо от стадии заболевания статистически значимо увеличивались содержание IgG ($p = 0,010$) и показатель соотношения IgG / $CD19^+$ ($p = 0,010$), при этом концентрация оставшихся иммуноглобулинов и показатели их относительного синтеза значимо снижались ($p < 0,050$).

При оценке неспецифического звена иммунитета у больных с инфекционными осложнениями на II стадии ММ происходили однонаправленные механизмы активации НГ. Интенсивность хемилюминесценции, площадь кривой, а также индекс активации при спонтанной и индуцированной хемилюминесцентной активности статистически значимо повышались ($p = 0,045$). Повышенная индуцированная хемилюминесцентная активность фагоцитов обусловлена их активным участием в противобактериальном и противоопухолевом иммунитете организма. На III стадии ММ происходили разнонаправленные механизмы активации НГ. Интенсивность хемилюминесценции ($p = 0,045$), площадь под кривой ($p = 0,045$), а также индекс активации ($p = 0,045$) при спонтанной и индуцированной хемилюминесценции статистически значимо повышались, при этом параметры индуцированной хемилюминесценции НГ были значимо ниже, чем при спонтанной ($p = 0,045$).

При изучении особенностей цитокиновой регуляции у больных ММ при развитии инфекционных осложнений значимо увеличивалось содержание ФНО α ($p < 0,001$) и ИЛ 2 ($p = 0,001$), резко снижалась концентрация ИЛ 4 ($p = 0,001$), что позволило выявить дисбаланс цитокинов, преобладание провоспалительных цитокинов над противовоспалительными и нарушение цитокиновой регуляции в виде девиации клеточного иммунного ответа по T_{H1} -типу.

Установлено, что линейная дискриминантная функция состоит из 6 переменных (λ Уилкса = 0,062; $p < 0,005$). Величины и статистическая достоверность уилксовой и частичной λ представлены в табл. 1.

Из 40 возможных маркеров инфекционных осложнений при ММ с помощью дискриминантного анализа были отобраны 6 наиболее информативных, которые могут использоваться в дальнейшем во врачебной практике. Наиболее значимыми параметрами дискриминантной

Таблица 1. Величины уилксовой и частичной λ

Показатели (n = 101)	Уилксова λ	Частичная λ
ИЛ 4 (пг/мл) — X1	0,073	0,857
$CD4^+$ абс — X2	0,076	0,827
$CD19^+$ абс — X3	0,072	0,870
ФНО α (пг/мл) — X4	0,074	0,847
ИЛ 2 (пг/мл) — X5	0,081	0,773
IgG (г/л) — X6	0,080	0,784

Таблица 2. Величины и статистическая достоверность F-критерия Фишера для иммунологических параметров дискриминантной модели больных множественной миеломой с наличием и без инфекционных осложнений

Показатели (n=101)	p	F-критерий Фишера
ИЛ 4 (пг/мл) — X1	0,027	3,271
CD4+ (абс) — X2	0,0105	4,117
CD19+ (абс) — X3	0,040	2,943
ФНО α (пг/мл) — X4	0,020	3,554
ИЛ 2 (пг/мл) — X5	0,002	5,777
IgG (г/л) — X6	0,002	5,429

модели являются содержание ИЛ 2 и 4, IgG, ФНО α, а также абсолютное число CD4+ и CD19+ клеток. Значения коэффициентов и константы линейных дискриминантных функций представлены в табл. 2.

Полученное уравнение канонической величины для больных ММ с инфекционными осложнениями и без инфекционных осложнений имеет следующий вид:

$$\begin{aligned}
 F1 &= -26,58 + 0,01 \times X1 + 0,19 \times X2 - 1,17 \times X3 + 0,15 \times X4 + 0,36 \times X5 - 0,03 \times X6, \\
 F2 &= -29,82 + 0,01 \times X1 + 0,26 \times X2 + 0,01 \times X3 + 0,15 \times X4 + 0,3 \times X5 - 0,025 \times X6, \\
 F3 &= -29,27 + 0,01 \times X1 + 0,27 \times X2 + 0,25 \times X3 + 0,19 \times X4 + 0,2 \times X5 + 0,08 \times X6, \\
 F4 &= -27,53 + 0,01 \times X1 + 0,23 \times X2 + 3,98 \times X3 + 0,08 \times X4 + 0,28 \times X5 + 0,09 \times X6,
 \end{aligned}$$

где X1–X6 — список наиболее информативных составляющих для дискриминации больных ММ с инфекционными осложнениями и таковых (см. табл. 2).

Значения переменных X1–X6 стандартизованы. Больные ММ на II стадии будут относиться к группе с инфекционными осложнениями заболевания при $F2 > F1$, при $F1 > F2$ они будут относиться к группе больных ММ на II стадии без инфекционных осложнений. Соответственно, больные ММ на III стадии будут относиться к группе с инфекционными осложнениями заболевания при $F4 > F3$, а при $F3 > F4$ — к группе больных ММ на III стадии без инфекционных осложнений.

Расстояние Махаланобиса составило 5,01 ($p < 0,001$), что свидетельствует о значимом различии между группами.

Точность диагностики в среднем имеет достоверность 89,1%.

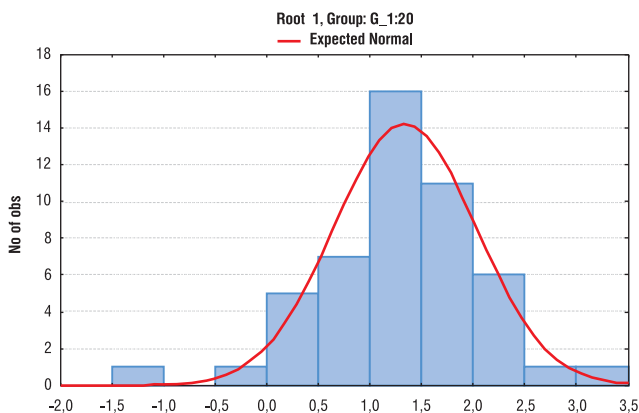


Рис. 1. Распределение больных множественной миеломой на II стадии заболевания без инфекционных осложнений по рассчитанной канонической переменной для каждого больного.

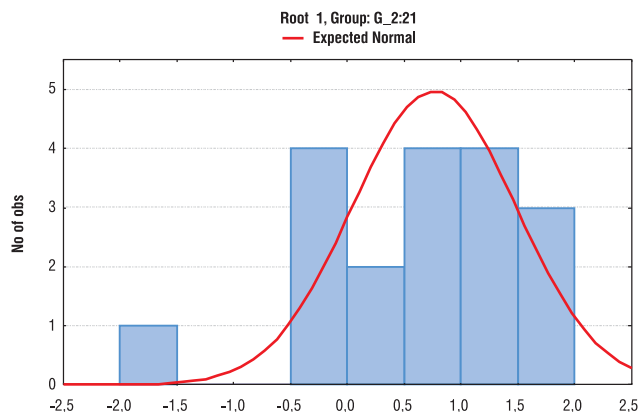


Рис. 2. Распределение больных множественной миеломой на II стадии заболевания с инфекционными осложнениями по рассчитанной канонической переменной для каждого больного.

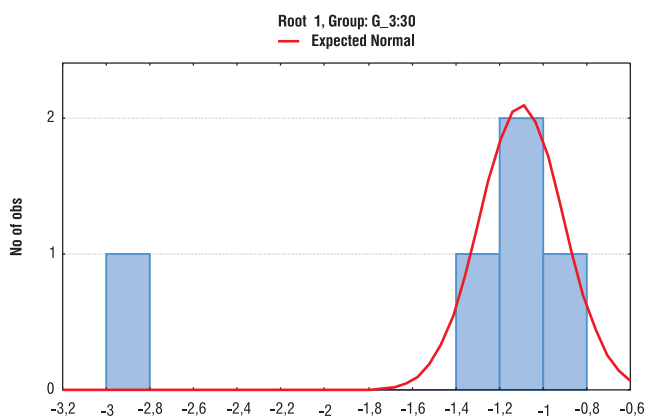


Рис. 3. Распределение больных множественной миеломой на III стадии заболевания без инфекционных осложнений по рассчитанной канонической переменной для каждого больного.

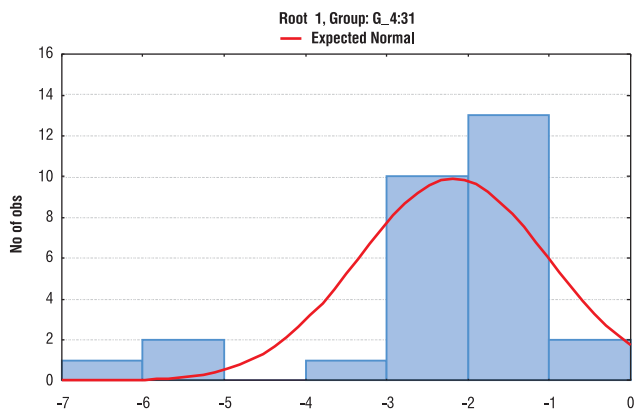


Рис. 4. Распределение больных множественной миеломой на III стадии заболевания с инфекционными осложнениями по рассчитанной канонической переменной для каждого больного.

Уровень значимости $F(48,244) = 4,638$ ($p < 0,001$) позволяет делать вывод об адекватности построенной модели реальному процессу (рис. 1–4).

Наиболее значимые показатели, выявленные с помощью дискриминантного анализа, у больных ММ с инфекционными осложнениями следующие: содержание ИЛ 2 и 4, IgG, ФНО α, абсолютное число CD4+ и CD19+ клеток (% правильной классификации — 82%). Вывод об адекватности построенной модели реальному процессу исходит из уровня значимости $F(48,244) = 4,6378$ ($p < 0,001$). Таким образом, мы можем использовать полученные параметры для прогнозирования инфекционных осложнений при ММ.

Обсуждение

По данным литературы, при гемобластозах имеют место значительные иммунные нарушения [9, 10], и ММ не стала исключением. У больных ММ, особенно при возникновении инфекционных осложнений, наблюдаются значимые изменения в относительном и абсолютном числе зрелых Т лимфоцитов, CD4⁺ клеток, естественных киллеров, что свидетельствует о глубоких нарушениях в клеточном звене иммунитета, затрагивающих и врожденный сегмент. Параллельно усугубляются изменения в гуморальном звене, увеличивается содержание патогномоничного иммунохимического варианту ММ иммуноглобулина, при этом содержание оставшихся антител резко уменьшается. При изучении хемилуминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов нами обнаружены разнонаправленные нарушения, зависящие от стадии заболевания. Так, если на ранних стадиях ММ активность НГ возрастает, и они осуществляют противоопухолевую деятельность, направленную на деструкцию опухоли, то на последней стадии активность снижается, что не исключает их собственной роли в прогрессировании и распространении онкологического заболевания. Патогенетическая роль цитокинов (ИЛ 6) в прогрессировании ММ доказана многими авторами [17–21]. При возникновении инфекционных осложнений содержание провоспалительных цитокинов (ИЛ 2, ИЛ 8, ФНО α, ИФН γ) преобладает над противовоспалительными (ИЛ 4), при этом отмечается девиация иммунного ответа по T_{H1}-типу, а следовательно, особенности цитокиновой регуляции организма направлены на активацию клеточного звена иммунитета.

Возникновение ММ — сложный патогенетический процесс, отражающий взаимодействие организма с опухолью. Несостоятельность противоопухолевой защиты организма зависит от работы всех звеньев, принимающих в этом участие. Дисфункция регуляторного звена иммунной системы усугубляет течение заболевания, вызывая его прогрессирование. Цитокины как регуляторы межклеточных взаимодействий в иммунной системе способствуют активации противоопухолевого иммунного ответа, а также служат связующим звеном между иммунной и другими системами организма [17, 19, 20]. Гуморальная регуляция межклеточных взаимодействий в иммунной системе опосредуется через цитокины, кроме того, многие из них сами по себе являются эффекторами иммунного ответа при опухолевых заболеваниях, воспалительных процессах и т.д. Именно поэтому становится возможным использовать цитокины в качестве показателей, регули-

рующих иммунный ответ, у больных ММ в прогнозировании инфекционных осложнений.

Основным инфекционным осложнением, регистрируемым при ММ, была острая пневмония. Пневмония характеризуется воспалительным поражением легочной ткани в ответ на инфекционный агент с последующим системным и локальным выбросом цитокинов (ФНО α, ИЛ 6, 8 и 1β) и активным вовлечением в воспалительный процесс клеток врожденного иммунитета — НГ [17]. Избыточная продукция цитокинов способствует развитию системной воспалительной реакции с возникновением полиорганной недостаточности и гибелью больного.

Заключение

Изучены особенности клинических и иммунологических проявлений инфекционных осложнений у больных при множественной миеломе для поиска наиболее информативных показателей в их прогнозировании. Обнаружено развитие комбинированного вторичного Т- и В-клеточного иммунодефицита. Изменения в неспецифическом звене иммунитета зависели от стадии заболевания, обнаруживались однонаправленные нарушения в спонтанной и индуцированной хемилуминесцентной активности нейтрофильных гранулоцитов на II стадии заболевания и разнонаправленные — на III стадии. Установлены преобладание содержания провоспалительных цитокинов над противовоспалительными и девиация иммунного ответа по T_{H1}-типу. Совокупность 6 информативных показателей у больных множественной миеломой на разных стадиях заболевания с инфекционными осложнениями и без них (концентрация ИЛ 2, 4, IgG, ФНО α, абсолютное число CD4⁺ и CD19⁺ клеток) имеет практическую значимость и дает возможность разработки способа прогнозирования инфекционных осложнений.

539

Источник финансирования

Исследование выполнено при финансовой поддержке НИИ медицинских проблем Севера.

Конфликт интересов

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

ЛИТЕРАТУРА

1. Вотякова О.М. Множественная миелома. Клиническая онкогематология. Под ред. М.А. Волковой. М. 2007. С. 847–871.
2. Богданов А.Н., Мазуров В.И. Клиническая гематология. СПб.: Фолиант. 2008. 484 с.
3. Давыдов М.И., Аксель Е.М. Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ. Вестник РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН. 2006; 17 (19 Прил. 1): 19–21.
4. Бессмельцев С.С., Абдулкадыров К.М. Множественная миелома. СПб.: Диалект. 2004. 446 с.
5. Войцеховский В.В., Ландышев Ю.С., Григоренко А.А., Савинова Т.А., Ландышев С.Ю., Горячева С.А., Мишук В.П. Особенности диагностики и лечения пневмонии у больных множественной миеломой. Бюллетень физиологии и патологии дыхания. 2013; 50: 23–29.
6. Голенков А.К., Шабалин В.Н. Множественная миелома. СПб.: Гиппократ. 1995. 144 с.
7. Круглова Ю.Д. Трудности диагностики множественной миеломы. Бюллетень медицинских интернет-конференций. 2013; 3 (30): 764.
8. Манчук В.Т., Смирнова О.В. Особенности прогнозирования возникновения инфекционных осложнений после проведения химиотерапии у больных острыми лейкозами. Медицинская иммунология. 2012; 14 (4–5): 403–408.
9. Смирнова О.В. Хронический миелолейкоз: клинические и иммунологические особенности у взрослых больных. Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра СО РАМН. 2012; 3–2: 185–189.
10. Smirnova O.V., Manchouk V.T., Savchenko A.A. Immune status & enzymes activity in blood lymphocytes in adult patients at different

- stages of acute lymphoblastic leukaemia. *Indian J. Med. Res.* 2011; 133 (3): 280–286.
11. Faix J.D. Biomarkers of sepsis. *Crit. Rev Clin Lab Sci.* 2013; 50 (1): 23–36.
 12. Земсков А.М., Караулов А.В., Земсков В.М. Комбинированная иммунокоррекция. М.: Наука. 1994. 260 с.
 13. De Sole P., Lippa S., Lixharru G. Whole blood chemiluminescence: a new technical approach to assess oxygen-dependent microbial activity of granulocytes. *J. Clin. Lab. Autom.* 1983; 3: 391–400.
 14. Durie V.G., Harousseau J.L., Miguel J.S., Blade J., Barlogie B., Anderson K. et al. International uniform response criteria for multiple myeloma. *Leukemia.* 2006; 20: 1467–1473.
 15. Коды МКБ-10, электронная версия. URL: www.mkb10.ru (дата обращения к источнику: 26.10.2015 г.).
 16. British Thoracic Society Guidelines. *Thorax.* 2003; 58 (Suppl. II): 794.
 17. Кадагидзе З.Р. Цитокины. *Практическая онкология.* 2003; 4 (3): 2–9.
 18. Ševčíková S., Kubiczková L., Sedlářková L., Říhová L., Kryukov F., Szturz P., Hájek R. Cytokine profiles of multiple myeloma and Waldenström macroglobulinemia. *Klin. Onkol.* 2014; 27 (1): 18–23.
 19. Zheng M.M., Zhang Z., Belch A. R., Shively J.E., Pilarski L.M., Kirshner J. The systemic cytokine environment is permanently altered in multiple myeloma. *PLoS One.* 2013; 8 (3): 12–16.
 20. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины. М.: Фолиант. 2008. 552 с.
 21. Росси Ж.Ф. Интерлейкин-6 как терапевтическая мишень при иммунопатологии и онкологических заболеваниях. *Иммунология гемопоэза.* 2012; 10 (2): 8–34.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Смирнова Ольга Валентиновна, доктор медицинских наук, заведующая лабораторией клинической патофизиологии НИИ медицинских проблем Севера

Адрес: 660022, Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 3Г, тел.: +7 (391) 228-06-33, e-mail: ovsmirnova71@mail.ru

Манчук Валерий Тимофеевич, доктор медицинских наук, член-корреспондент РАН, профессор, научный руководитель НИИ медицинских проблем Севера

Адрес: 660022, Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 3Г, тел.: +7 (391) 228-06-33, e-mail: man417@rambler.ru

Агилова Юлия Николаевна, младший научный сотрудник лаборатории клинической патофизиологии НИИ медицинских проблем Севера

Адрес: 660022, Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 3Г, тел.: +7 (391) 228-06-33, e-mail: a_yulya@inbox.ru

DOI: 10.15690/vramn.v70.i5.1440

Т.А. Гребенникова, Ж.Е. Белая, Л.Я. Рожинская, Г.А. Мельниченко, И.И. Дедов

Эндокринологический научный центр, Москва, Российская Федерация

Эпигенетические аспекты остеопороза

Обсуждаются перспективы использования эпигенетических механизмов регуляции остеобласто- и остеокластогенеза в ранней диагностике и лечении остеопороза. Особое внимание уделено классу малых некодирующих регуляторных РНК — микроРНК (мкРНК), которые контролируют экспрессию генов на посттранскрипционном уровне, участвуя практически во всех биологических процессах в клетке, включая клеточную дифференцировку и апоптоз. Изучение роли мкРНК в регуляции костного обмена начаты относительно недавно, однако все более очевидно их участие в патогенезе остеопороза. В статье приведен профиль микроРНК, наиболее значимо влияющих на костный метаболизм. Устойчивость мкРНК к разрушению в периферической крови дает возможность рассматривать некоторые специфичные для костной ткани мкРНК в качестве потенциальных диагностических маркеров костного ремоделирования и остеопороза.

Ключевые слова: остеопороз, микроРНК, эпигенетика кости, остеобластогенез.

(Для цитирования: Гребенникова Т.А., Белая Ж.Е., Рожинская Л.Я., Мельниченко Г.А., Дедов И.И. Эпигенетические аспекты остеопороза. *Вестник РАМН.* 2015; 70 (5): 541–548. Doi: 10.15690/vramn.v70.i5.1440)

Введение

Остеопороз — это системное заболевание скелета, характеризующееся снижением костной массы, нарушением микроархитектоники костной ткани и, как следствие, повышением хрупкости скелета и переломами при минимальной травме, в частности при падении с высоты собственного роста, неловком движении, кашле, чихании, объятиях и вообще без видимого травматического вмешательства [1]. Так, переломы тел позвонков в ряде случаев длительное время остаются недиагностированными именно из-за отсутствия даже минимальной травмы при их возникновении.

Значительная распространенность остеопороза и тяжелые последствия низкотравматичных переломов — повышение летальности, стойкая инвалидизация пациентов, необходимость в постороннем уходе — привлекают пристальное внимание к данной проблеме во всем мире [2]. Согласно данным Международного фонда остеопороза, более 200 млн человек в мире страдают от остеопороза. В России число больных остеопорозом составляет порядка 14 млн человек [3]. Тенденция к увеличению продолжительности жизни населения приводит к увеличению заболеваемости остеопорозом у женщин в постменопаузе и мужчин старшей возрастной категории. Таким образом, наряду с развитием вторичного остеопороза, по мнению практикующих эндокринологов, ревматологов, гастроэнтерологов, неврологов и многих других узких специалистов, каждой 3-й женщине и

каждому 5-му мужчине старше 50 лет угрожает низкотравматичный перелом в течение оставшегося периода жизни. Вместе с тем существующие методы ранней диагностики остеопороза, такие как двухэнергетическая рентгеновская остеоденситометрия, оставляют недиагностированными до 50% пациентов [1]. С другой стороны, эффективность современных препаратов для лечения остеопороза и предупреждения низкотравматичных переломов позволяет уменьшить риск переломов различной локализации примерно на 50% с максимальным эффектом для предупреждения переломов тел позвонков (до 70%), но худшими результатами в отношении внепозвоночных переломов (до 25%) [4, 5]. Именно поэтому необходимы дальнейшие исследования с целью поиска новых диагностических тестов и новых методов лечения этого социально значимого заболевания.

Основы регуляции костного ремоделирования и эпигенетики

В большинстве случаев остеопороз развивается вследствие нарушений костного ремоделирования: взаимодействий костеобразующих (osteoblastов) и разрушающих (osteoclastов) костную ткань клеток. Костное ремоделирование позволяет поддерживать прочность и адаптивность скелета человека в течение всей жизни, однако в постменопаузе у женщин и в старшей возрастной группе у мужчин имеется тенденция к отрицательному балансу с

541

T.A. Grebennikova, Zh.E. Belaya, L.Ya. Rozhinskaya, G.A. Mel'nichenko, I.I. Dedov

National Endocrine Research Centre, Moscow, Russian Federation

Epigenetic Aspects of Osteoporosis

This review describes the epigenetic regulation of osteoblastogenesis and osteoclastogenesis and its future implementation in the diagnosis and treatment of osteoporosis. A considerable part of the review is dedicated to the microRNAs (miRNAs). miRNAs are small regulatory factors that regulate gene expression, by post-transcriptional regulation of genes playing an important role in numerous cellular processes, including cell differentiation and apoptosis. Recently, a number of studies have revealed that miRNAs participate in bone homeostasis and their role in the pathogenesis of osteoporosis is practically evident. In this review, we highlight the miRNAs involved in bone remodelling and their roles in osteoporosis. miRNAs are stable molecules which make them promising potential markers for bone remodeling and osteoporosis.

Key words: osteoporosis, miRNA, bone epigenetic, osteoblastogenesis.

(For citation: Grebennikova T.A., Belaya Zh.E., Rozhinskaya L.Ya., Mel'nichenko G.A., Dedov I.I. Epigenetic Aspects of Osteoporosis. *Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2015; 70 (5): 541–548. Doi: 10.15690/vramn.v70.i5.1440)

прогрессивной потерей костной ткани и нарушением ее внутренней микроархитектоники.

Современный взгляд на процесс ремоделирования костной ткани затрагивает эпигенетические механизмы регуляции [6]. Эпигенетика представляет собой изучение изменения активности генов, при которых структура ДНК остается прежней. К эпигенетическим механизмам контроля экспрессии генов относят посттрансляционные модификации гистонов, метилирование ДНК, изменения экспрессии микроРНК (мкРНК) опосредованное транскрипционное регулирование.

Перечисленные эпигенетические изменения изучают, прежде всего, в аспекте их влияния на основные сигнальные пути остеокласто- и остеобластогенеза, к которым относятся система рецептора ядерного фактора κ B (RANK), лиганд рецептора ядерного фактора κ B (RANKL), остеопротегерин (OPG) и Wnt/ β -катенин-сигнальный путь (рис.).

Система RANK / RANKL / OPG — важный регулятор костной резорбции. RANKL экспрессируется остеобластами, что позволяет остеобластам влиять и на процессы костной резорбции. Связывание RANK с RANKL на поверхности остеокласта приводит к активации факторов транскрипции (NF- κ B и NFATC1) и дифференцировке клетки-предшественника остеокласта в зрелый остеокласт. По мере созревания остеобласты начинают экспрессировать OPG, который, связывая RANKL, останавливает остеокластогенез. Ингибирование RANKL способствует подавлению костной резорбции и поддержанию костной массы, что послужило предпосылкой к созданию антирезорбтивного препарата деносумаба, который представляет собой человеческое антитело к RANKL и активно используется в клинической практике [7].

Ключевую роль в регуляции остеобластогенеза играет канонический Wnt-сигнал, активация которого происходит путем связывания Wnt (винглес)-белка с рецептором фризельда (ФР3) и его корецептором — белком, связанным с липопротеидом низкой плотности 5 и 6 (LRP5, 6). Данное взаимодействие способствует переходу β -катенина в ядро клетки, активируя факторы транскрипции TCF / LEF, что в конечном итоге приводит к дифференцировке мезенхимальной стволовой клетки в остеобласт, а также к выживанию и продолжению дифференцировки преостеобластов в зрелые клетки с последующим увеличением интенсивности костеобразования. Регуляция активности Wnt-сигнального пути осуществляется несколькими антагонистами, которые нейтрализуют Wnt-белок: Wnt-ингибирующий фактор 1 (ВИФ-1) и секреторные белки, связанные с фризельдом (сФР3), или его корецепторы — склеростин и белки семейства Диккопф (Dickkopf, Дкк). В качестве одной из перспективных целей терапевтического вмешательства рассматривают склеростин, блокирование которого моноклональными антителами оказывает анаболический эффект на костную ткань [8, 9]. Активация Wnt-сигнального пути регулирует не только остеобласто-, но и остеокластогенез.

Дифференцировка клеток-предшественников в зрелые остеобласты приводит к изменению соотношения RANK / RANKL / OPG в пользу остеопротегерина и снижению остеокластогенеза [10].

Описанные сигнальные пути участвуют в костном ремоделировании, воздействуя на экспрессию генов-мишеней. Посттрансляционные модификации гистонов, метилирование ДНК, мкРНК также влияют на экспрессию генов, тем самым вмешиваясь в процесс поддержания костного гомеостаза.

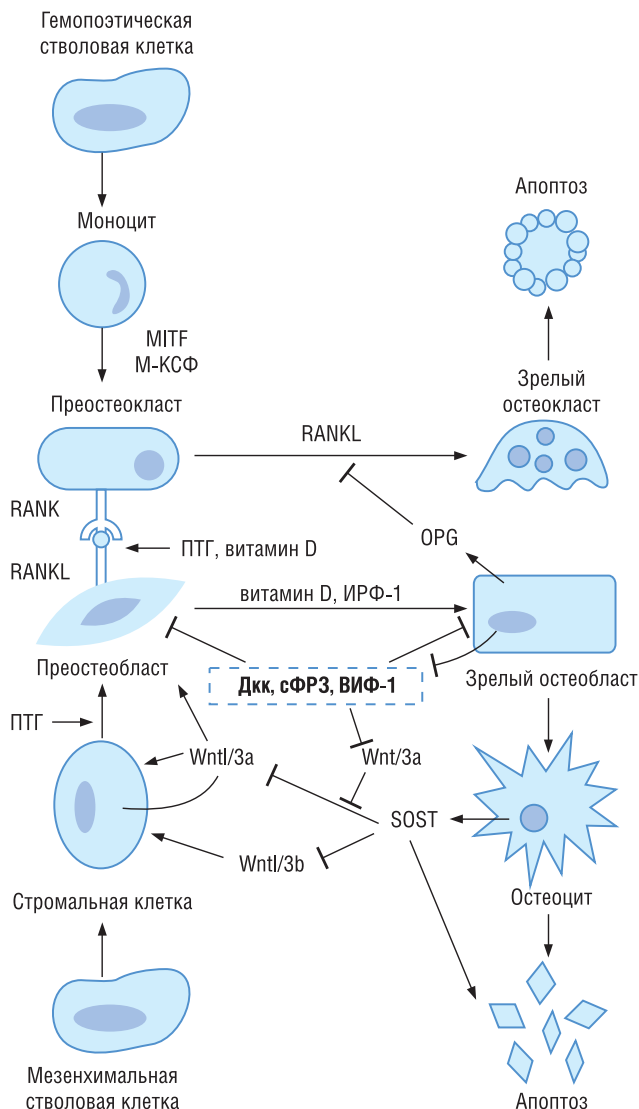


Рис. Регуляция остеобласто- и остеокластогенеза.

Примечание. Показаны стадии дифференциации остеобластов и остеокластов, начиная с мезенхимальной и гемопоэтической стволовых клеток, соответственно. Регуляция остеокластогенеза осуществляется через сигнальную систему рецептора ядерного фактора κ B (RANK) / лиганда рецептора ядерного фактора κ B (RANKL) / остеопротегерина (OPG). Регуляция остеобластогенеза происходит за счет Wnt-сигнального пути. MITF — ассоциированный с микрофальмией фактор транскрипции, M-КСФ — макрофагальный колониестимулирующий фактор, Дкк — Диккопф, сФР3 — секреторный белок, связанный с фризельдом, ВИФ-1 — Wnt-ингибирующий фактор 1, SOST — склеростин, Wnt 1/3a, 3a, 10b — винглес-белки, PTH — паратгормон, IGF-1 — инсулиноподобный фактор роста 1.

Эпигенетические механизмы контроля экспрессии генов

Посттрансляционные модификации гистонов

Нить ДНК накручена на белковый комплекс, называемый нуклесомой. В свою очередь, нуклеосома состоит из 4 типов ядерных белков — гистонов H2A, H2B, H3, H4. В состав гистонов входят положительно заряженные аминокислоты (лизин и аргинин), которые сосредоточены в их концевых участках. Такие гистоновые концевые фрагменты (главным образом N-терминальный участок) участвуют в контроле генной экспрессии. Выделяют несколько механизмов посттрансляционной модификации

гистонов, однако в костном ремоделировании наиболее важным является ацетилирование гистонов [6].

В нескольких исследованиях изучали влияние ингибиторов трансфераз, отвечающих за деацетилирование гистонов (HDAC), на дифференцировку остеобластов и экспрессию генов. Исследования *in vitro* показали, что ингибирование HDAC ускоряет остеобластогенез и экспрессию генов, отвечающих за дифференцировку остеобластов (таких как остеокальцин, RUNX2 и др.). Ранние изменения в экспрессии генов затрагивают также 2 рецепторных гена Wnt-пути — ФРЗ 1 и 4. Отмечено, что экспрессия RANKL усиливается при ацетилировании гистонов H3 и H4 в промоторе RANKL [11, 12].

HDAC 1, 3, 4, 5 являются важными факторами в регуляции остеобластогенеза. Доказано, что блокирование HDAC1 способствует экспрессии генов, стимулируя остеогенез [13]. Наиболее изученным из группы HDAC является сиртуин 1 (sirtuin 1, SIRT1). SIRT1, способствуя деацетилированию гистонов промотора склеростина, ингибирует его экспрессию и предотвращает негативное влияние на активность остеобластов. Необходимо отметить, что действие SIRT1 не ограничивается эпигенетическими механизмами [14]. Так, к примеру, SIRT1 способствует активации RUNX2 и подавляет NF-κB, стимулируя тем самым остеобластогенез и подавляя остеокластогенез. Таким образом, SIRT1 играет важную роль в формировании костной ткани [15–17].

При исследовании влияния ацетилирования гистонов на остеокластогенез было установлено, что снижение интенсивности экспрессии HDAC1, HDAC2, HDAC3 замедляет дифференцировку остеокластов *in vitro*. HDAC5 и HDAC6 деацетилируют NFATC1, также замедляя дифференцировку остеокластов. Напротив, супрессия HDAC7 стимулирует остеокластогенез за счет деацетилирования [18–20]. Дальнейшее изучение роли модификации гистонов в ремоделировании костной ткани потенциально может быть использовано в разработке новых подходов к лечению остеопороза.

Метилирование ДНК

Метилирование ДНК приводит к образованию модифицированной молекулы ДНК без изменения нуклеотидной последовательности, не нарушает ее способность к комплементарному взаимодействию, стабилизирует двойную спираль и является одним из ключевых механизмов клеточной дифференцировки. Процесс метилирования ДНК является обратимым и заключается в присоединении метильной группы к цитозину в положении C₅ с образованием 5-метил-цитозина. В соматических клетках метилирование происходит в CpG-островках (участок ДНК с высоким содержанием цитозин–гуанин динуклеотидов), которые имеются в 70% генов. Метилированный цитозин подвергается дезаминированию с образованием тимина, что может привести к мутации, закрепленной при репликации ДНК, или окисляется и деметилируется обратно в цитозин. Между процессами метилирования и деметилирования поддерживается равновесие. Выделяют 2 вида метилирования: *de novo*, когда возникают новые элементы метилирования, и поддерживающий процесс, который обеспечивает сохранение уже сформированного профиля [21].

Процесс метилирования осуществляется с помощью ферментов ДНК-метилтрансфераз (ДНМТ) — DNMT1, DNMT3a и DNMT3b. DNMT1 обеспечивает поддерживающее метилирование, т.е. копирование метилированной нити ДНК во время репликации, однако может вносить и некоторые новые элементы изменчивости в профиль

метилирования. DNMT3a и DNMT3b в основном ответственны за возникновение новых метилированных CpG в соматических и эмбриональных клетках, но могут участвовать в поддерживающем метилировании ДНК. Процесс деметилирования может происходить как пассивно, так и активно, однако механизм последнего на молекулярном уровне изучен недостаточно [6, 22, 23]. Биологическая роль метилирования ДНК заключается в поддержании стабильности хромосом, тканеспецифичном ненаследуемом долговременном подавлении экспрессии генов на уровне транскрипции, однако влияние данного процесса на уровень экспрессии генов не всегда однозначно.

Метилирование ДНК в настоящее время рассматривают в качестве многообещающей адъювантной терапии некоторых злокачественных новообразований. Метилирование ДНК участвует в регуляции экспрессии генов в клетках костной ткани, среди которых склеростин [24], остеооптин [25], остеопротегерин [26], RANKL [26–28] и др. [6]. Метилирование ДНК участвует в регуляции остеокластогенеза, в основном за счет влияния на экспрессию гена RANKL, подавляя его транскрипционную активность. ДНК-метилирование RANKL относится к поддерживающему типу метилирования, и его профиль не меняется в процессе дифференцировки остеобластов.

Метилирование ДНК — важный корегулятор костного гомеостаза, и изучение данного процесса может открыть новые перспективы в диагностике и лечении нарушений костного обмена. Особенно перспективным представляется изучение метилирования ДНК в концепции создания новых биомаркеров, обладающих рядом преимуществ перед рутинными исследованиями, такими как малоинвазивное выделение (можно использовать сыворотку крови, плазму, слюну) и стабильность молекулы ДНК [29].

мкРНК

мкРНК представляют собой группу некодирующих молекул рибонуклеиновой кислоты (РНК), состоящих из 20–24 нуклеотидов, которые негативно регулируют экспрессию генов. мкРНК связываются с комплементарными последовательностями в 3'-нетранслируемом участке матричной РНК (мРНК) и блокируют трансляцию белка. Биогенез мкРНК происходит в ядре при участии рибонуклеазы типа III (Drosha), после чего образуется предварительная мкРНК (пре-мкРНК). В цитоплазме пре-мкРНК обрабатывается рибонуклеазой типа II (Dicer), превращаясь в двухцепочечную мкРНК. РНК-индуцируемый комплекс выключения гена (RNA-induced silencing complex, RISC), в состав которого входит один из белков семейства Argonaut, преобразует пре-мкРНК в зрелую мкРНК [6].

Известно, что мкРНК участвуют в остеогенезе, начиная с эмбрионального периода, регулируют рост, дифференцировку и функциональную активность клеток, составляющих костную ткань. Участие мкРНК в костном ремоделировании является ключевым в эпигенетическом контроле экспрессии генов. Исследования последних лет позволили выделить мкРНК, специфичные для различных тканей [30–32]. Некоторые мкРНК контролируют клеточный цикл и апоптоз и являются маркерами заболеваний [33–35], например, лейкемии [22], глиом [36]. Вместе с тем большинство изученных мкРНК воздействуют на несколько мРНК, а мРНК может иметь несколько участков для связывания различных мкРНК. Таким образом, мкРНК способны контролировать экспрессию нескольких генов одновременно, что требует более детального изучения.

Таблица 1. мкРНК, регулирующие остеобластогенез

мкРНК	Таргетная молекула	Источник
<i>мкРНК, стимулирующие дифференцировку остеобластов</i>		
мкРНК27, микроРНК142-3р	APC	[51, 52]
мкРНК29а	Дкк1, KREMEN2, сФР32, SPARC	[48, 54]
мкРНК29b	COL1A1, COL5A3, COL4A2, HDAC4, ТФРβ3, ACVR2A, CTNBP1, DUSP2	[55]
мкРНК218	SOST, Дкк2, сФР32	[49]
мкРНК335-5р	Дкк1	[50]
<i>мкРНК, блокирующие дифференцировку остеобластов</i>		
мкРНК23а	RUNX2, SATB2	[37, 43, 44]
мкРНК30а-d	RUNX2, SMAD1	[38, 43, 44]
мкРНК34с, мкРНК133а, мкРНК137, мкРНК204, мкРНК205, мкРНК211, мкРНК217, мкРНК335, мкРНК338, мкРНК433, мкРНК3077-5р	RUNX2	[39-44, 53]
мкРНК93	OSX	[47]
мкРНК135а	RUNX2, SMAD5	[39, 43, 44]
мкРНК155	SOCS1	[56]

Примечание. APC — аденоматозная полипозная палочка; Дкк1 и 2 — Диккопф 1 и 2; KREMEN2 — кринглсодержащий трансмембранный белок; сФР32 — секреторный белок, связанный с фризельдом 2; SPARC — секретируемый белок, кислый, богатый цистеином (остеонектин); COL1A1 — коллаген, тип I, α 1; COL5A3 — коллаген, тип V, α 3; COL4A2 — коллаген, тип IV, α 2; HDAC4 — гистондеацетилаза 4; ТФРβ₃ — трансформирующий фактор роста β₃; ACVR2A — рецептор типа 2A к активину A; CTNBP1 — белок, взаимодействующий с β-катенином, 1; DUSP2 — фосфатаза двойной специфичности, тип 2; SOST — склеростин; RUNX2 — фактор транскрипции 2, содержащий домен Runt; SATB2 — ДНК-связывающий белок; SMAD1 и 5 — семейство SMAD тип 1 и 5; OSX — остерикс; SOCS1 — супрессор цитокиновых сигналов 1.

544

Роль мкРНК в костном ремоделировании

Влияние мкРНК на остеобластогенез опосредовано воздействием на различные регуляторные молекулы. Наиболее изучено влияние мкРНК на транскрипционный фактор, участвующий в регулировании остеобластогенеза, RUNX2 (фактор транскрипции 2, содержащий домен Runt). К группе мкРНК, блокирующих дифференцировку остеобластов посредством влияния на RUNX2, относятся мкРНК23а [37], мкРНК30а-d [38], мкРНК135а [39], мкРНК204 [40], мкРНК335 [41], мкРНК433 [42], мкРНК34с, мкРНК133а, мкРНК137, мкРНК205, мкРНК211, мкРНК217 [43, 44]. Некоторые мкРНК со схожими функциями образуют кластеры: например, кластер мкРНК23а-27а-24-2, который является одним из основных в регуляции остеобластогенеза. Экспрессия кластера подавляется RUNX2 в остеобластах. мкРНК2861 и мкРНК-3960, наоборот, опосредованно стимулируют экспрессию RUNX2, подавляя его ингибиторы HDAC5 и HOXA2 и, соответственно, тем самым способствуя дифференцировке остеобластов [45, 46].

В определенной степени, остерикс (OSX) — транскрипционный фактор, необходимый для формирования костной ткани, находится под контролем мкРНК, образуя уникальную ауторегуляторную петлю обратной связи с мкРНК93. мкРНК93 ингибирует минерализацию, воздействуя на OSX [47]. Wnt-сигнальный путь также нахо-

дится под контролем определенных мкРНК. мкРНК29а, мкРНК218 и мкРНК335-5р препятствуют действию известных Wnt-антагонистов (например, Дкк1, Дкк2, сФР32 и склеростина), тем самым усиливая дифференциацию остеобластов [48–50]. Активации Wnt-сигнального пути способствуют мкРНК27 и мкРНК142-3р [51, 52].

В табл. 1 представлены некоторые мкРНК, оказывающие влияние на остеобластогенез.

Костное ремоделирование является непрерывным процессом, требующим физиологического взаимодействия между процессами резорбции и формирования костной ткани.

В исследованиях на грызунах было показано, что отсутствие мкРНК в преостеокластах и зрелых остеокластах приводит к увеличению костной плотности за счет уменьшения числа и активности остеокластов [57, 58]. Кроме того, остеокластогенез был невозможен при подавлении ферментного комплекса Drossha, инициирующего биосинтез мкРНК, или комплекса RISK, который отвечает за связывание мкРНК с таргетной молекулой [59]. Результаты этих экспериментов подтверждают, что снижение активности мкРНК в клетках-предшественниках остеокластов блокирует остеокластогенез [60]. Участие мкРНК в остеокластогенезе менее изучено по сравнению с остеобластогенезом (табл. 2).

Таблица 2. мкРНК, регулирующие остеокластогенез

мкРНК	Таргетная молекула	Источник
<i>мкРНК, стимулирующие дифференцировку остеокластов</i>		
мкРНК133а	CXCL11, CXCR3, SLC39A1	[61]
мкРНК148а	MAFB	[62]
мкРНК223	NFI-A	[58]
<i>мкРНК, блокирующие дифференцировку остеокластов</i>		
мкРНК155	MITF	[63]
мкРНК233	NFI-A	[57]
мкРНК503	RANK	[64]

Примечание. CXCL11 — CXC-хемокин 11; CXCR3 — хемокиновый рецептор; SLC39A1 — растворимый носитель семейства 39 (транспортер цинка), тип 1; MAFB — гомолог В онкогена мышечно-апоневротической саркомы; NFI-A — ядерный фактор I-A, MITF — ассоциированный с микрофальмией фактор транскрипции; RANK — рецептор ядерного фактора κВ.

Стимулирующим эффектом на остеокластогенез обладают только несколько мкРНК, среди которых мкРНК127, мкРНК136, мкРНК133а, мкРНК148а [61, 62]. мкРНК21 также способствует дифференцировке остеокластов, блокируя ингибитор макрофагального колониестимулирующего фактора (М-КСФ), вследствие чего повышается интенсивность экспрессии рецептора М-КСФ, необходимая для остеокластогенеза [58]. Некоторые мкРНК способны подавлять остеокластогенез. Например, мкРНК155 подавляет один из факторов транскрипции — MITF (ассоциированный с микрофтальмией), блокируя образование клеток-предшественников остеокластов из гемопоэтических клеток [63].

мкРНК, ассоциированные с остеопорозом

мкРНК играют важную биологическую роль в нормальном развитии и функционировании остеобластов и остеокластов, поэтому активно исследуется их патологическая роль в дегенерации костной ткани за счет влияния на остеобласто- и остеокластогенез. С точки зрения создания новых терапевтических препаратов, особое внимание привлекают мкРНК, которые действуют на предшественники остеобластов (например, мкРНК218, регулирующая Wnt-сигнальный путь) и остеокластов (например, мкРНК148а), стимулируя образование костной ткани или снижая ее резорбцию, соответственно.

Анализ костной ткани и мезенхимальных стволовых клеток костного мозга у мышей после овариэктомии показал увеличение интенсивности экспрессии мкРНК127, мкРНК133а, мкРНК133б, мкРНК136, мкРНК206 и мкРНК378а вместе со снижением уровня экспрессии мкРНК204 в костной ткани, в то время как в мезенхимальных стволовых клетках повысилась экспрессия мкРНК705 и мкРНК3077-5р и снизилась экспрессия мкРНК-21 [53, 65].

При изучении клинического случая редкой формы семейного остеопороза у 2 пациентов подросткового возраста была выявлена мутация мкРНК2861 [45]. Увеличение интенсивности экспрессии мкРНК2861 блокирует эпигенетический регулятор HDAC5, который посредством деацетилирования гистонов ингибирует остеобластогенез. Однако данная мутация мкРНК2861 является чрезвычайно редкой и маловероятно ассоциирована с развитием постменопаузального остеопороза.

В другом исследовании была установлена корреляция между высоким уровнем экспрессии мкРНК214 и снижением образования костной ткани. мкРНК214 подавляет активность остеобластов за счет воздействия на активатор фактора транскрипции 4. При блокировании мкРНК214 в эксперименте на мышах улучшалось костеобразование и увеличивалась минеральная плотность костной ткани [66].

В связи с хорошим кровоснабжением костной ткани исследование экспрессии мкРНК в плазме, сыворотке крови потенциально может выявить новые биомаркеры костных нарушений [67]. мкРНК, в отличие от мРНК, не подвергаются разрушению обычными РНКазами в периферической крови и поэтому могут рассматриваться в качестве потенциальных биомаркеров [68]. При сравнении профиля экспрессии мкРНК у женщин в постменопаузе с высокой и низкой минеральной плотностью костной ткани было отмечено увеличение экспрессии мкРНК133а и снижение уровня мкРНК503 у женщин с остеопорозом [61]. Ингибирование мкРНК503 приводит к увеличению экспрессии RANK, стимулируя остеокластогенез и резорбцию костной ткани *in vivo* и в экспериментах на мышинной модели. В исследованиях мкРНК148а и мкРНК133а также

способствуют развитию остеопороза за счет стимуляции дифференцировки остеокластов [61, 62]. Кроме того, содержание 9 свободных мкРНК (мкРНК21, 23а, 24, 93, 100, 122а, 124а, 125b и 148а) было увеличено у 60 женщин в постменопаузе, перенесших перелом бедра, по сравнению с 60 женщинами того же возраста без переломов и с нормальной минеральной плотностью кости. Из этих 9 экспрессия 5 мкРНК была увеличена в образцах костной ткани (мкРНК21, 23а, 24, 100, 125b) у женщин с переломами [69]. В другой работе экспрессия 4 мкРНК из 153 была увеличена у пациентов с сахарным диабетом и остеопорозом по сравнению с пациентами без диабета и с диабетом, но без остеопороза. При этом мкРНК155-5р (известна как инициатор остеокластогенеза) и мкРНК96-5р являются негативными маркерами функции остеоцитов, а функция 2 других мкРНК (мкРНК188-3р и мкРНК203а) пока неизвестна. Кумулятивный анализ 4 мкРНК показал их высокую диагностическую ценность с площадью под кривой операционных характеристик AUC 0,978 для выявления пациентов с сахарным диабетом и остеопорозом [70].

мкРНК, попадая в циркуляцию, могут влиять на другие, в том числе соседние, клетки и ткани: следовательно, воздействие на мкРНК обладает терапевтическим потенциалом. Вместе с тем для использования мкРНК в лечении остеопороза необходимо понимание точного механизма регуляции костного ремоделирования посредством этих субстанций. В экспериментах внутривенное введение мкРНК133а, мкРНК141, мкРНК190 и мкРНК219 снижало активность остеокластов на мышинной модели [71]. Однако в связи с широким спектром действия отдельно взятой мкРНК требуется создание высокоспецифичных систем доставки препарата. Проводились исследования различных биоматериалов для восстановления целостности костей, которые содержали в своем составе мкРНК. Для увеличения эффективности трансфекции мкРНК используют микропористую поверхность оксида титана с мкРНК29b/анти-мкРНК138 или 2000-мкРНК148b/анти-мкРНК148b с высокой остеогенной активностью [72, 73]. Исследовалась также доставка мкРНК с использованием серебряных наночастиц, содержащих мкРНК148b [74]. Однако перспективы этих методов пока не ясны.

Заключение

Использование механизмов регуляции экспрессии генов для диагностических и терапевтических целей является важной составляющей персонализированной медицины будущего, в т.ч. и для диагностики и лечения дегенеративных заболеваний, таких как постменопаузальный и сенильный остеопороз, а также вторичного остеопороза на фоне других заболеваний. Исследования в области регуляции экспрессии генов могут позволить вмешиваться в большинство патологических процессов без изменения структуры ДНК, контролируя процессы клеточной дифференцировки, старения и апоптоза, создавая большие перспективы в биологической терапии многих неинфекционных заболеваний человека.

Источник финансирования

Грант Российского научного фонда (проект № 15-15-30032).

Конфликт интересов

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

ЛИТЕРАТУРА

1. Kanis J., McCloskey E., Johansson H., Cooper C., Rizzoli R., Reginster J. European guidance for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women. *Osteoporosis Int.* 2013; 24 (1): 23–57. DOI:10.1007/s00198-012-2074-y.
2. Дедов И.И., Мельниченко Г.А., Белая Ж.Е., Рожинская Л.Я. Остеопороз — от редкого симптома эндокринных болезней до безмолвной эпидемии XX–XXI вв. *Проблемы эндокринологии.* 2011; 57 (1): 35–45. DOI:10.14341/probl201157135-45.
3. Лесняк О.М., Беневоленская Л.И. Остеопороз в Российской Федерации: проблемы и перспективы. *Научно-практическая ревматология.* 2010; 5: 14. DOI:10.14412/1995-4484-2010-725.
4. Белая Ж.Е., Рожинская Л.Я. Бисфосфонаты: мифы и реальность. *Эффективная фармакотерапия в эндокринологии.* 2010; 38: 52–58.
5. Белая Ж.Е., Рожинская Л.Я. Падения — важная социальная проблема пожилых людей. Основные механизмы развития и пути предупреждения. *Русский медицинский журнал.* 2009; 17 (24): 1614–1619.
6. Vrtačnik P., Marc J., Ostanek B. Epigenetic mechanisms in bone. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2014; 52 (5): 589–608. DOI: 10.1515/cclm-2013-0770.
7. Белая Ж.Е., Рожинская Л.Я. Новые направления в терапии остеопороза — применение моноклональных человеческих тел к RANKL (деносумаб). *Остеопороз и остеопатии.* 2011; 2: 23–26.
8. Padhi D., Jang G., Stouch B., Fang L., Posvar E. Single dose, placebo controlled, randomized study of AMG 785, a sclerostin monoclonal antibody. *J. Bone Miner Res.* 2010; 26 (1): 19–26. DOI:10.1002/jbmr.173.
9. Lewiecki E., Shah A., Shoback D. Sclerostin inhibition: a novel therapeutic approach in the treatment of osteoporosis. *Int. J. Womens Health.* 2015; 7: 565. DOI:10.2147/ijwh.s73244.
10. Belaya Z.E., Rozhinskaya L.Y., Melnichenko G.A., Solodovnikov A.G., Dragunova N.V., Iljin A.V., Dzeranova L.K., Dedov I.I. Serum extracellular secreted antagonists of the canonical Wnt/ β catenin signaling pathway in patients with Cushing's syndrome. *Osteoporosis Int.* 2013; 24 (8): 2191–2199. DOI:10.1007/s00198-013-2268-y.
11. Schroeder T., Nair A., Staggs R., Lamblin A., Westendorf J. Gene profile analysis of osteoblast genes differentially regulated by histone deacetylase inhibitors. *BMC Genomics.* 2007; 8 (1): 362. DOI:10.1186/1471-2164-8-362.
12. Schroeder T., Westendorf J. Histone deacetylase inhibitors promote osteoblast maturation. *J. Bone Miner Res.* 2005; 20 (12): 2254–2263. DOI:10.1359/jbmr.050813.
13. Lee H., Suh J., Kim A., Lee Y., Park S., Kim J. Histone deacetylase-1 mediated histone modification regulates osteoblast differentiation. *Mol. Endocrinol.* 2006; 20 (10): 2432–2443. doi:10.1210/me.2006-0061.
14. Fusco S, Maulucci G., Pani G. Sirt1: Defeating senescence? *Cell. Cycle.* 2012; 11 (22): 4135–4146. DOI:10.4161/cc.22074.
15. Tseng P., Hou S., Chen R., Peng H., Hsieh C., Kuo M., Yen M. Resveratrol promotes osteogenesis of human mesenchymal stem cells by upregulating RUNX2 gene expression via the SIRT1/FOXO3a axis. *J. Bone Miner. Res.* 2011; 26 (10): 2552–2563. DOI:10.1002/jbmr.460.
16. Shakibaei M., Buhmann C., Mobasheri A. Resveratrol mediated SIRT-1 interactions with p300 modulate receptor activator of NF- κ B Ligand (RANKL) activation of NF- κ B signaling and inhibit osteoclastogenesis in bone derived cells. *J. Biol. Chem.* 2011; 286 (13): 11492–11505. DOI:10.1074/jbc.m110.198713.
17. Edwards J., Perrien D., Fleming N., Nyman J., Ono K., Connelly L., Moore M., Lwin S., Yui F., Mundy G., Elefteriou F. Silent information regulator (Sir)T1 inhibits NF- κ B signaling to maintain normal skeletal remodeling. *J. Bone Miner Res.* 2013; 28 (4): 960–969. DOI:10.1002/jbmr.1824.
18. Nakamura T., Kukita T., Shobuie T., Nagata K., Wu Z., Ogawa K., Hotokebuchi T., Kohashi O., Kukita A. Inhibition of histone deacetylase suppresses osteoclastogenesis and bone destruction by inducing IFN production. *J. Immunol.* 2005; 175 (9): 5809–5816. DOI:10.4049/jimmunol.175.9.5809.
19. Takada Y. Suberoylanilide Hydroxamic acid potentiates apoptosis, inhibits invasion, and abolishes osteoclastogenesis by suppressing nuclear factor B activation. *J. Biol. Chem.* 2005; 281 (9): 5612–5622. DOI:10.1074/jbc.m507213200.
20. Kim H., Lee J., Jin W., Ko S., Jung K., Ha H., Lee Z. MS-275, a benzamide histone deacetylase inhibitor, prevents osteoclastogenesis by down-regulating c-Fos expression and suppresses bone loss in mice. *Eur. J. Pharmacol.* 2012; 691 (1–3): 69–76. DOI:10.1016/j.ejphar.2012.07.034.
21. Delgado-Calle J., Riancho J. The role of DNA methylation in common skeletal disorders. *Biology.* 2012; 1 (3): 698–713. doi:10.3390/biology1030698.
22. Gibney E., Nolan C. Epigenetics and gene expression. *Heredity.* 2010; 105 (1): 4–13. DOI:10.1038/hdy.2010.54.
23. Portela A., Esteller M. Epigenetic modifications and human disease. *Nat. Biotechnol.* 2010; 28 (10): 1057–1068. DOI:10.1038/nbt.1685.
24. Delgado-Calle J., Sañudo C., Bolado A., Fernandez A., Arozanaena J., Pascual-Carra M., Radriguez-Rey J., Fraga M., Bonewald L., Riancho J. DNA methylation contributes to the regulation of sclerostin expression in human osteocytes. *J. Bone Miner Res.* 2012; 27 (4): 926–937. DOI:10.1002/jbmr.1491.
25. Arnsdorf E., Tummala P., Castillo A., Zhang F., Jacobs C. The epigenetic mechanism of mechanically induced osteogenic differentiation. *J. Biomech.* 2010; 43 (15): 2881–2886. DOI:10.1016/j.jbiomech.2010.07.033.
26. Delgado-Calle J., Sañudo C., Fernández A., García-Renedo R., Fraga M., Riancho J. Role of DNA methylation in the regulation of the RANKL–OPG system in human bone. *Epigenetics.* 2012; 7 (1): 83–91. DOI:10.4161/epi.7.1.18753.
27. Kitazawa S., Kitazawa R. Epigenetic control of mouse receptor activator of NF- κ B ligand gene expression. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2002; 293 (1): 126–131. DOI:10.1016/S0006-291X(02)00189-4.
28. Kitazawa R., Kitazawa S. Methylation status of a single CpG locus 3 bases upstream of TATA box of receptor activator of nuclear factor κ B ligand (RANKL) gene promoter modulates cell and tissue specific RANKL expression and osteoclastogenesis. *Mol. Endocrinol.* 2007; 21 (1): 148–158. DOI:10.1210/me.2006-0205.
29. Markopoulou S., Nikolaidis G., Liloglou T. DNA methylation biomarkers in biological fluids for early detection of respiratory tract cancer. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2012; 50 (10). doi:10.1515/cclm-2012-0124.
30. Lacey D., Boyle W., Simonet W., Kostenuik P., Dougall W., Sullivan J., San Martin J., Dansey R. Bench to bedside: elucidation of the OPG–RANK–RANKL pathway and the development of denosumab. *Nat. Rev. Drug. Discov.* 2012; 11 (5): 401–419. DOI:10.1038/nrd3705.
31. Monroe D., McGee-Lawrence M., Oursler M., Westendorf J. Update on Wnt signaling in bone cell biology and bone disease. *Gene.* 2012; 492 (1): 1–18. DOI:10.1016/j.gene.2011.10.044.
32. Li X., Ominsky M.S., Warmington K.S., Morony S., Gong J., Cao J., Gao Y., Shalhoub V., Tipton B., Haldankar R., Chen Q., Winters A., Boone T., Geng Z., Niu Q.T., Ke H.Z., Kostenuik P.J., Simonet W.S., Lacey D.L., Paszty C. Sclerostin Antibody treatment increases bone formation, bone mass, and bone strength in a rat model of postmenopausal osteoporosis. *J. Bone Miner Res.* 2009; 24 (4): 578–588. DOI:10.1359/jbmr.081206.
33. Centrella M., McCarthy T. Estrogen receptor dependent gene expression by osteoblasts — direct, indirect, circumspect, and speculative effects. *Steroids.* 2012; 77 (3): 174–184. DOI:10.1016/j.steroids.2011.10.016.

34. Burgers T., Williams B. Regulation of Wnt/ β -catenin signaling within and from osteocytes. *Bone*. 2013; 54 (2): 244–249. DOI:10.1016/j.bone.2013.02.022.
35. Diarra D., Stolina M., Polzer K., Zwerina J., Ominsky M.S., Dwyer D., Korb A., Smolen J., Hoffmann M., Scheinecker C., van der Heide D., Landewe R., Lacey D., Richards W., Schett G. Dickkopf-1 is a master regulator of joint remodeling. *Nat. Med.* 2007; 13 (2): 156–163. DOI:10.1038/nm1538.
36. Semenova E., Filatov M. Genetic and epigenetic markers of gliomas. *Cell. Tiss. Biol.* 2013; 7 (4): 303–313. DOI:10.1134/s1990519x13040123.
37. Hassan M., Gordon J., Beloti M., Croce C.M., van Wijnen A.J., Stein J.L., Stein G.S., Lian J.B. A network connecting Runx2, SATB2, and the miR-23a 27a 24-2 cluster regulates the osteoblast differentiation program. *Proc. Natl. Acad. Sci USA*. 2010; 107 (46): 19879–19884. DOI:10.1073/pnas.1007698107.
38. Wu T., Zhou H., Hong Y., Li J., Jiang X., Huang H. MiR-30 family members negatively regulate osteoblast differentiation. *J. Biol. Chem.* 2012; 287 (10): 7503–7511. DOI:10.1074/jbc.m111.292722.
39. Li Z., Hassan M.Q., Volinia S., van Wijnen A.J., Stein J.L., Croce C.M., Lian J.B., Stein G.S. A microRNA signature for a BMP2 induced osteoblast lineage commitment program. *Proc. Natl. Acad. Sci USA*. 2008; 105 (37): 13906–13911. DOI:10.1073/pnas.0804438105.
40. Huang J., Zhao L., Xing L., Chen D. MicroRNA-204 regulates Runx2 protein expression and mesenchymal progenitor cell differentiation. *Stem. Cells*. 2010; 28 (2): 357–364. DOI:10.1002/stem.288.
41. Tomé M., López-Romero P., Albo C., Sepúlveda J.C., Fernández-Gutiérrez B., Dopazo A., Bernad A., González M.A. miR-335 orchestrates cell proliferation, migration and differentiation in human mesenchymal stem cells. *Cell Death Differ.* 2010; 18 (6): 985–995. DOI:10.1038/cdd.2010.167.
42. Kim E., Kang I., Lee J., Jang W., Koh J. MiR-433 mediates $ERR\gamma$ suppressed osteoblast differentiation via direct targeting to Runx2 mRNA in C3H10T1/2 cells. *Life Sci.* 2013; 92 (10): 562–568. DOI:10.1016/j.lfs.2013.01.015.
43. Zhang Y., Xie R.L., Croce C.M., Stein J.L., Lian J.B., van Wijnen A.J., Stein G.S. A program of microRNAs controls osteogenic lineage progression by targeting transcription factor Runx2. *Proc. Natl. Acad. Sci USA*. 2011; 108 (24): 9863–9868. DOI:10.1073/pnas.1018493108.
44. Zhang Y., Xie R., Gordon J., LeBlanc K., Stein J.L., Lian J.B., van Wijnen A.J., Stein G.S. Control of mesenchymal lineage progression by MicroRNAs targeting skeletal gene regulators Trps1 and Runx2. *J. Biol. Chem.* 2012; 287 (26): 21926–21935. DOI:10.1074/jbc.m112.340398.
45. Li H., Xie H., Liu W., Hu R., Huang B., Tan Y.F., Xu K., Sheng Z.F., Zhou H.D., Wu X.P., Luo X.H. A novel microRNA targeting HDAC5 regulates osteoblast differentiation in mice and contributes to primary osteoporosis in humans. *J. Clin. Invest.* 2009; 119 (12): 3666–3677. DOI:10.1172/jci39832.
46. Hu R., Liu W., Li H., Yang L., Chen C., Xia Z.Y., Guo L.J., Xie H., Zhou H.D., Wu X.P., Luo X.H. A Runx2/miR-3960/miR-2861 regulatory feedback loop during mouse osteoblast differentiation. *J. Biol. Chem.* 2011; 286 (14): 12328–12339. DOI:10.1074/jbc.m110.176099.
47. Yang L., Cheng P., Chen C., He H.B., Xie G.Q., Zhou H.D., Xie H., Wu X.P., Luo X.H. miR-93/Sp7 function loop mediates osteoblast mineralization. *J. Bone Miner. Res.* 2012; 27 (7): 1598–1606. DOI:10.1002/jbmr.1621.
48. Kapinas K., Kessler C., Ricks T., Gronowicz G., Delany A. MiR-29 modulates Wnt signaling in human osteoblasts through a positive feedback loop. *J. Biol. Chem.* 2010; 285 (33): 25221–25231. DOI:10.1074/jbc.m110.116137.
49. Hassan M., Maeda Y., Taipaleenmaki H., Zhang W., Jafferji M., Gordon J.A., Li Z., Croce C.M., van Wijnen A.J., Stein J.L., Stein G.S., Lian J.B. MiR-218 directs a Wnt signaling circuit to promote differentiation of osteoblasts and osteomimicry of metastatic cancer cells. *J. Biol. Chem.* 2012; 287 (50): 42084–42092. DOI:10.1074/jbc.m112.377515.
50. Zhang J., Tu Q., Bonewald L., He X., Stein G., Lian J., Chen J.. Effects of miR-335-5p in modulating osteogenic differentiation by specifically down regulating Wnt antagonist DKK1. *J. Bone Miner. Res.* 2011; 26 (8): 1953–1963. DOI:10.1002/jbmr.377.
51. Wang T., Xu Z. MiR-27 promotes osteoblast differentiation by modulating Wnt signaling. *Biochem Biophys Res Commun.* 2010; 402 (2): 186–189. DOI:10.1016/j.bbrc.2010.08.031.
52. Hu W., Ye Y., Zhang W., Wang J., Chen A., Guo F. MiR-142 3p promotes osteoblast differentiation by modulating Wnt signaling. *Mol. Med. Rep.* 2013; 7 (2):689-93. DOI:10.3892/mmr.2012.1207.
53. Liao L, Yang X, Su X, Hu C, Zhu X, Yang N, Chen X, Shi S, Shi S, Jin Y. Redundant miR-3077-5p and miR-705 mediate the shift of mesenchymal stem cell lineage commitment to adipocyte in osteoporosis bone marrow. *Cell Death Dis.* 2013;4(4):e600. doi:10.1038/cddis.2013.130.
54. Kapinas K., Kessler C., Delany A. MiR-29 suppression of osteonectin in osteoblasts: Regulation during differentiation and by canonical Wnt signaling. *J. Cell. Biochem.* 2009; 108 (1): 216–224. DOI:10.1002/jcb.22243.
55. Li Z., Hassan M., Jafferji M., Aqeilan R.I., Garzon R., Croce C.M., van Wijnen A.J., Stein J.L., Stein G.S., Lian J.B. Biological functions of miR-29b contribute to positive regulation of osteoblast differentiation. *J. Biol. Chem.* 2009; 284 (23): 15676–15684. DOI:10.1074/jbc.m809787200.
56. Wu T., Xie M., Wang X., Jiang X., Li J., Huang H. miR-155 modulates TNF- α inhibited osteogenic differentiation by targeting SOCS1 expression. *Bone*. 2012; 51 (3): 498–505. doi:10.1016/j.bone.2012.05.013.
57. Mizoguchi F., Izu Y., Hayata T., Hemmi H., Nakashima K., Nakamura T., Kato S., Miyasaka N., Ezura Y., Noda M. Osteoclast specific Dicer gene deficiency suppresses osteoclastic bone resorption. *J. Cell Biochem.* 2010; 109(5): 866–875. DOI:10.1002/jcb.22228.
58. Sugatani T., Hruska K. Impaired Micro-RNA Pathways diminish osteoclast differentiation and function. *J. Biol. Chem.* 2008; 284 (7): 4667–4678. DOI:10.1074/jbc.m805777200.
59. Sugatani T., Hruska K. MicroRNA-223 is a key factor in osteoclast differentiation. *J. Cell Biochem.* 2007; 101 (4): 996–999. DOI:10.1002/jcb.21335.
60. Lian J., Stein G., van Wijnen A., Stein J.L., Hassan M.Q., Gaur T., Zhang Y. MicroRNA control of bone formation and homeostasis. *Nat. Rev. Endocrinol.* 2012; 8 (4): 212–227. DOI:10.1038/nrendo.2011.234.
61. Wang Y., Li L., Moore B., Peng X.H., Fang X., Lappe J.M., Recker R.R., Xiao P. MiR-133a in human circulating monocytes: a potential biomarker associated with postmenopausal osteoporosis. *PLoS ONE*. 2012; 7 (4): 34641. DOI:10.1371/journal.pone.0034641.
62. Cheng P., Chen C., He H., Hu R., Zhou H.D., Xie H., Zhu W., Dai R.C., Wu X.P., Liao E.Y., Luo X.H. miR-148 a regulates osteoclastogenesis by targeting V-maf musculoaponeurotic fibrosarcoma oncogene homolog B. *J. Bone Miner Res.* 2013; 28 (5): 1180–1190. DOI:10.1002/jbmr.1845.
63. Mann M., Barad O., Agami R., Geiger B., Hornstein E. MiRNA based mechanism for the commitment of multipotent progenitors to a single cellular fate. *Proc. Natl. Acad. Sci USA*. 2010; 107 (36): 15804–15809. DOI:10.1073/pnas.0915022107.
64. Chen C., Cheng P., Xie H., Zhou H.D., Wu X.P., Liao E.Y., Luo X.H. MiR-503 Regulates Osteoclastogenesis via Targeting RANK. *J. Bone Miner Res.* 2014; 29 (2): 338–347. DOI:10.1002/jbmr.2032.
65. Yang N., Wang G., Hu C., Shi Y., Liao L., Shi S., Cai Y., Cheng S., Wang X., Liu Y., Tang L., Ding Y., Jin Y. Tumor necrosis factor α suppresses the mesenchymal stem cell osteogenesis promoter miR-

- 21 in estrogen deficiency induced osteoporosis. *J. Bone Miner. Res.* 2013; 28 (3): 559–573. DOI:10.1002/jbmr.1798.
66. Wang X., Guo B., Li Q., Peng J., Yang Z., Wang A., Li D., Hou Z., Lv K., Kan G., Cao H., Wu H., Song J., Pan X., Sun Q., Ling S., Li Y., Zhu M., Zhang P., Peng S., Xie X., Tang T., Hong A., Bian Z., Bai Y., Lu A., Li Y., He F., Zhang G., Li Y. MiR-214 targets ATF4 to inhibit bone formation. *Nat. Med.* 2012; 19 (1): 93–100. DOI:10.1038/nm.3026.
67. Weber J., Baxter D., Zhang S., Huang D.Y., Huang K.H., Lee M.J., Galas D.J., Wang K. The MicroRNA Spectrum in 12 Body Fluids. *Clin. Chem.* 2010; 56 (11): 1733–1741. doi:10.1373/clinchem.2010.147405.
68. Gilad S., Meiri E., Yogeve Y., Benjamin S., Lebanony D., Yerushalmi N., Benjamin H., Kushnir M., Cholakh H., Melamed N., Bentwich Z., Hod M., Goren Y., Chajut A. Serum MicroRNAs are promising novel biomarkers. *PLoS ONE.* 2008; 3 (9): 3148. DOI:10.1371/journal.pone.0003148.
69. Seeliger C., Karpinski K., Haug A., Vester H., Schmitt A., Bauer J.S., van Griensven M. Five freely circulating miRNAs and bone tissue miRNAs are associated with osteoporotic fractures. *J. Bone Miner. Res.* 2014; 29 (8): 1718–1728. DOI:10.1002/jbmr.2175.
70. Heilmeyer U., Hackl M., Skalicky S., Schroeder F., Vierlinger K., Burghardt A., Schwartz A., Grillari J., Link T. Blood circulating miRNAs are indicative of skeletal fractures in postmenopausal women with and without type 2 diabetes and may be promising candidates for general fracture risk prediction. Paper presented at: 4th Joint meeting of ECTS and IBMS. April 25–28, 2015. *Netherlands, Rotterdam.* URL: <http://abstracts.ectsibms2015.org/ectsibms/0001/ectsibms0001OC6.6.htm> (Available: 01.09.2015).
71. Ell B., Mercatali L., Ibrahim T., Campbell N., Schwarzenbach H., Pantel K., Amadori D., Kang Y. Tumor induced osteoclast miRNA changes as regulators and biomarkers of osteolytic bone metastasis. *Cancer Cell.* 2013; 24 (4): 542–556. DOI:10.1016/j.ccr.2013.09.008.
72. Wu K., Song W., Zhao L., Liu M., Yan J., Andersen M., Kjems J., Gao S., Zhang Y. MicroRNA functionalized microporous titanium oxide surface by lyophilization with enhanced osteogenic activity. *ACS Appl. Mater Interfaces.* 2013; 5 (7): 2733–2744. DOI:10.1021/am400374c.
73. Wu K., Xu J., Liu M., Song W., Yan J., Gao S., Zhao L., Zhang Y. Induction of osteogenic differentiation of stem cells via a lyophilized microRNA reverse transfection formulation on a tissue culture plate. *Int. J. Nanomedicine.* 2013; 8: 1595. DOI:10.2147/ijn.s43244.
74. Jing D., Hao J., Shen Y., Tang G., Li M.L., Huang S.H., Zhao Z.H. The role of microRNAs in bone remodeling. *Int. J. Oral. Sci.* 2015; 7: 131–143. DOI:10.1038/ijos.2015.22.

548

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Гребенникова Татьяна Алексеевна, ординатор отделения нейроэндокринологии и остеопатий ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России

Адрес: 117036, Москва, ул. Дмитрия Ульянова, д. 11, e-mail: grebennikova@hotmail.com

Белая Жанна Евгеньевна, доктор медицинских наук, главный научный сотрудник, заведующая отделением нейроэндокринологии и остеопатий ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России

Адрес: 117036, Москва, ул. Дмитрия Ульянова, д. 11, тел.: +7 (495) 668-20-79, e-mail: jannabelaya@gmail.com

Рожинская Людмила Яковлевна, доктор медицинских наук, главный научный сотрудник отделения нейроэндокринологии и остеопатий ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России

Адрес: 117036, Москва, ул. Дмитрия Ульянова, д. 11, тел.: +7 (495) 668-20-79, e-mail: rozhinskaya@rambler.ru

Мельниченко Галина Афанасьевна, заместитель директора по научной работе, директор института клинической эндокринологии ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России, академик РАН

Адрес: 117036, Москва, ул. Дмитрия Ульянова, д. 11, тел.: +7 (499) 124-43-00, e-mail: teofrast2000@mail.ru

Дедов Иван Иванович, директор ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России, академик РАН, Президент Российской ассоциации эндокринологов

Адрес: 117036, Москва, ул. Дмитрия Ульянова, д. 11, тел.: +7 (499) 124-43-00, e-mail: dedov@endocrincentr.ru

DOI: 10.15690/vramn.v70.i5.1441

В.А. Карпельев¹, Ю.И. Филиппов¹, Ю.В. Тарасов¹, М.Д. Боярский¹,
А.Ю. Майоров^{1,2}, М.В. Шестакова^{1,2}, И.И. Дедов¹

¹ Эндокринологический научный центр, Москва, Российская Федерация

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

Математическое моделирование системы регуляции гликемии у пациентов с сахарным диабетом

В обзоре представлены основные математические модели биологической системы управления концентрацией глюкозы в плазме крови (упрощенно — система инсулин–глюкоза). Рассмотрено 2 крупных класса математических моделей: эмпирические и теоретические. Эмпирические модели построены на результатах обработки массивов входных данных с целью определения некоторых закономерностей и их использования для предсказания значений параметров модели в будущем (в частности, концентрации глюкозы в плазме крови) без учета законов физиологии. Теоретические модели физиологически обоснованы и условно делятся на 2 подгруппы — смешанные и полные. Смешанные модели описывают лишь ключевые физиологические закономерности, однако сохраняют способность предсказывать значения критически важных параметров системы регуляции углеводного обмена. Параметры смешанных моделей определяются на основании результатов клинических тестов. Полные модели учитывают и позволяют математически описать все доступные знания о регуляции углеводного обмена и способны моделировать систему инсулин–глюкоза при сахарном диабете. Успехи в области математического моделирования во многом определяют дальнейшее развитие медицинских технологий лечения сахарного диабета в целом и создание искусственной поджелудочной железы в частности.

Ключевые слова: сахарный диабет, математическое моделирование, система инсулин–глюкоза, искусственная поджелудочная железа, углеводный обмен.

(Для цитирования: Карпельев В.А., Филиппов Ю.И., Тарасов Ю.В., Боярский М.Д., Майоров А.Ю., Шестакова М.В., Дедов И.И. Математическое моделирование системы регуляции гликемии у пациентов с сахарным диабетом. *Вестник РАМН*. 2015; 70 (5): 549–560. Doi: 10.15690/vramn.v70.i5.1441)

549

Введение

Математическое моделирование биологических процессов (в частности, острых и хронических заболеваний человека) представляет глубокую фундаментальную проблему, стоящую на стыке медицины, биологии и математики. От разработки адекватных математических моделей заболевания во многом зависят глобальные успехи в его

лечении, профилактике и организации системы оказания медицинской помощи.

Сахарный диабет (СД) как глобальная медико-социальная проблема современности крайне подробно рассматривается с позиции математического моделирования уже много десятилетий. Основные подходы к моделированию взаимодействий основных компонентов системы регуляции углеводного обмена в норме и при СД были

V.A. Karpel'ev¹, Yu.I. Filippov¹, Yu.V. Tarasov¹, M.D. Boyarsky¹,
A.Yu. Mayorov^{1,2}, M.V. Shestakova^{1,2}, I.I. Dedov¹

¹ Endocrinology Research Centre, Moscow, Russian Federation

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

Mathematical Modeling of the Blood Glucose Regulation System in Diabetes Mellitus Patients

Interest in the mathematical modeling of the carbohydrate metabolism regulation system increases in recent years. This is associated with a «closed loop» insulin pump development (it controls an insulin infusion depending on the blood glucose level). To create an algorithm for the automatic control of insulin (and other hormones) infusion using an insulin pump it is necessary to accurately predict glycaemia level. So, the primary objective of mathematical modeling is to predict the blood glucose level changes, caused by the wide range of external factors. This review discusses the main mathematical models of blood glucose level control physiological system (simplified insulin–glucose system). The two major classes of models — empirical and theoretical — are described in detail. The ideal mathematical model of carbohydrate metabolism regulatory system is absent. However, the success in the field of blood glucose level control modeling and simulating is essential for the further development of diabetes prevention and treatment technologies, and creating an artificial pancreas in particular.

Key words: diabetes mellitus, mathematical modeling, insulin–glucose system, artificial pancreas, carbohydrate metabolism.

(For citation: Karpel'ev V.A., Filippov Yu.I., Tarasov Yu.V., Boyarsky M.D., Mayorov A.Yu., Shestakova M.V., Dedov I.I. Mathematical Modeling of the Blood Glucose Regulation System in Diabetes Mellitus Patients. *Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2015; 70 (5): 549–560. Doi: 10.15690/vramn.v70.i5.1441)

сформулированы еще во второй половине прошлого века. Однако исследования и разработки, направленные на совершенствование и создание новых математических моделей как самого заболевания, так и его лечения, не только продолжаются до настоящего времени, но и становятся все более востребованными.

Так, все принципы интенсифицированной инсулинотерапии (наиболее эффективного режима лечения пациентов с СД, которым необходим инсулин [1]) ориентированы на эффективное прогнозирование и управление концентрацией глюкозы в крови (ГК). Современные технологические достижения (непрерывное мониторирование гликемии в режиме реального времени, сверхточное дозирование инсулина инсулиновой помпой), а также успехи в области математического моделирования и созданные с его помощью алгоритмы автоматического управления инфузией инсулина (глюкагона, глюкозы) открывают реальную возможность для создания так называемой искусственной поджелудочной железы — инсулиновой помпы, самостоятельно управляющей введением инсулина с учетом изменений гликемии в режиме реального времени по принципу «замкнутого контура». Реализация этой крайне перспективной задачи современной медицинской инженерии и кибернетики неразрывно связана с использованием математического моделирования и компьютерной симуляции.

Начав свое развитие в 60-х гг. прошлого века с простой модели системы инсулин—глюкоза, моделирование углеводного обмена и его нарушений сегодня представлено чрезвычайно многообразными подходами и решениями. В своей статье мы попытались осветить основные направления в математическом моделировании системы инсулин—глюкоза.

Классификация моделей

С математической точки зрения, биологические функциональные системы рассматривают как стохастические нелинейные системы с мультикомпарментными взаимодействиями [2]. К таким функциональным биологическим системам относится и система регуляции концентрации ГК. Эта система включает в себя взаимодействия множества компонентов на органном, тканевом, клеточном и субклеточном уровне, основанные на динамических изменениях концентрации глюкозы и инсулина в плазме крови. В литературе математические модели биологической системы управления концентрацией глюкозы в крови упрощенно называют системой инсулин—глюкоза.

Существует 2 основных класса математических моделей, разработанных для предсказания значения концентрации ГК и управления ею [3]:

- на основе фактических данных (эмпирические модели);
- на основе физиологических и патофизиологических принципов (теоретические модели).

Эмпирические модели созданы на основе анализа данных, вводимых в систему и получаемых на выходе из нее, при этом физиологические механизмы практически не учитываются. Обычно на выходе этих моделей получают концентрацию ГК, а входными данными могут служить как множество ранее измеренных значений ГК, так и другая информация (питание, физическая активность, инсулинотерапия, температура тела и т.д.). С другой стороны, априорное знание физиологических закономерностей регуляции системы инсулин—глюкоза

является основой для создания теоретических моделей. Некоторые модели этого класса содержат минимальное число уравнений, которые сосредоточены только на основных физиологических аспектах, в то время как другие модели (с большим числом уравнений) детально отражают физиологические закономерности регуляции системы инсулин—глюкоза. Кроме того, для пациентов с СД смоделировать систему инсулин—глюкоза без учета таких параметров, как доза вводимого инсулина, приемы пищи и влияние физической нагрузки, практически невозможно. Разработаны математические модели, характеризующие скорость всасывания глюкозы из пищи в плазму крови, описывающие фармакокинетику и фармакодинамику инсулина, а также учитывающие влияние физических нагрузок. Развитие математических моделей обеспечило эволюцию виртуальных алгоритмов контроля концентрации ГК. Во многих исследованиях, посвященных контролю гликемии при СД, использовали математические модели для предварительного тестирования разработанных алгоритмов наблюдения и ведения пациентов.

Ниже более подробно рассмотрены основные математические модели динамики инсулин—глюкоза, сведения о которых опубликованы в научной литературе [4–6]. Из-за громоздкости формул мы не размещаем в сообщении математическое описание моделей. Его можно найти или в оригинальных публикациях, ссылки на которые мы приводим, или в специализированных обзорах [7, 8].

Эмпирические модели

Эмпирические модели — модели «черного ящика», связывающие входные данные пациента с выходными, которыми обычно является концентрация ГК. В этих моделях будущие значения ГК пациента предсказываются с использованием значений, измеренных ранее, и других входных данных, которые могут влиять на концентрацию ГК. Самый привлекательный аспект этих моделей состоит в том, что они просты и могут быть разработаны за короткий промежуток времени. Однако данные модели не могут обеспечить понимания процесса изменения концентрации ГК и инсулина в различных тканях и органах, поскольку они не учитывают его физиологию. Кроме того, эти модели зачастую требуют новых данных (введение в потоковом режиме) от объекта, чтобы предсказать изменения концентрации ГК в ближайшем будущем.

Модели временных рядов

Это одна из категорий эмпирических моделей, которые можно применять для создания линейных и нелинейных динамических моделей, связывая данные ввода и вывода. Под временным рядом подразумевают измеренные через некоторые промежутки времени данные, описывающие изучаемый объект. Проводя анализ временных рядов, возможно построить прогноз будущих событий, основываясь на известных событиях из прошлого. Предсказание будущих данных временного ряда будет получено до того момента времени, как они будут измерены.

T. Vremer и соавт. [9] оценили способность разработанных линейных моделей авторегрессии (autoregression, AR), построенных на временном ряде эмпирических данных концентрации ГК (получен с использованием функции автокорреляции — autocorrelation function, ACF), предсказать будущие значения концентрации ГК. Результаты исследования показали, что линейные модели были в состоянии предсказать концентрацию ГК на коротком

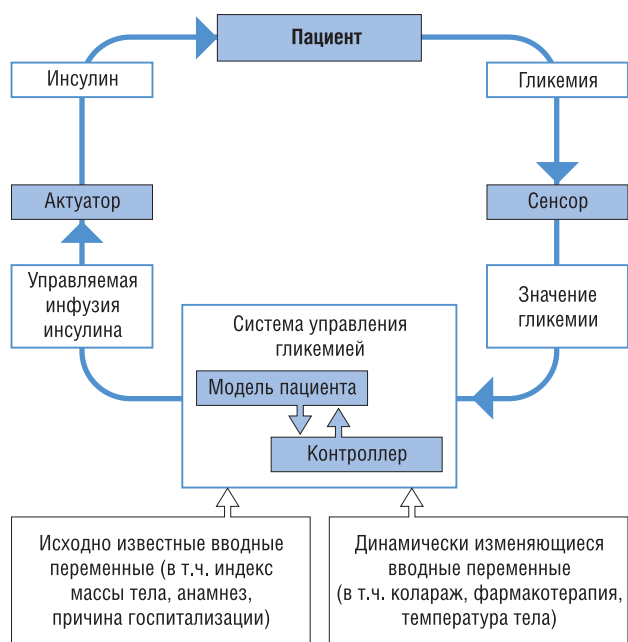


Рис. 1. Полуавтоматизированная система управления гликемией в отделении интенсивной терапии (публикуется с разрешения правообладателя — IOP Publishing — из [13]. Copyright © 2006 Institute of Physics and Engineering in Medicine).

промежутке времени (до 30 мин) от предыдущих данных у пациентов с СД 1-го типа и у пациентов без СД. В дальнейшем J. Reifman и соавт. [10] и G. Sparacino и соавт. [11] разработали модели AR для предсказания концентрации ГК для различных временных горизонтов прогноза, построенных на основе данных непрерывного мониторинга глюкозы у 15 и 28 субъектов с СД 1-го типа, соответственно.

В модели временного ряда, разработанной T. Van Nегре и соавт. на основе данных 41 пациента с СД (наблюдавшихся в отделении интенсивной терапии), показано, что оптимальным для расчетов является второй порядок авторегрессии (ARX) [12]. В последующей работе авторы использовали данные других 15 пациентов отделения интенсивной терапии, чтобы на основе предшествующей разработки создать адаптивную модель временного ряда [13]. Схема модели представлена на рис. 1. Применяли 2 различных подхода проверки правильности (адаптивный и неадаптивный) прогнозируемых значений ГК. Адаптивный подход позволял обновить коэффициенты исходной модели, используя весовые характеристики наименьших квадратов. Коэффициенты модели сохранялись постоянными для неадаптивного подхода. В результате прогноз адаптивной модели превосходил прогноз исходной по точности. Кроме того, новая модель была в состоянии прогнозировать изменения концентрации ГК на 4 ч вперед.

Позже были разработаны модели AR, ARX и авторегрессионного скользящего среднего значения (ARMAX) с использованием данных непрерывного мониторинга гликемии двух пациентов с СД 1-го типа в амбулаторном режиме [14]. В этой работе также была создана математическая модель прогнозирования концентрации ГК в ходе симуляции СД 1-го типа по нелинейной физиологической модели [15, 16] с возмущениями на основе данных о введении инсулина и приемах пищи на входе. Результаты исследования показывают, что модели AR или ARX наиболее эффективны для прогнозирования изменений ГК в амбулаторных условиях, а модель ARMAX — для симули-

руемых данных. Позже M. Egen-Oruklu и соавт. разработали авторегрессионные AR и авторегрессионные рекурсивные алгоритмы скользящего среднего (autoregressive moving average, ARMA) для моделей временных рядов, предсказывающих концентрацию ГК [17, 18].

На основе AR Y. Kazama и соавт. [19] разработали модель определения показателя чувствительности к инсулину, используя набор данных перорального теста толерантности к глюкозе 115 различных пациентов, которые были разделены на 3 группы: здоровые субъекты, пациенты со сниженной толерантностью к глюкозе и пациенты с СД 2-го типа. Новый способ вычисления показателя чувствительности к инсулину (широко используемому в рутинной клинической практике при лечении больных СД) в последующем был проверен на точность путем сопоставления результатов с полученными в ходе эугликемического гиперинсулинемического клэмп-теста.

В 2010 г. были опубликованы результаты исследования, в котором авторы проверяли возможность развития универсальных эмпирических моделей временных рядов для предсказания концентрации ГК в ходе непрерывного мониторинга гликемии с подкожным расположением сенсора глюкозы у пациентов с СД 1-го и 2-го типа. В этом исследовании разработаны AR-модели 30-го порядка, позволяющие сделать кратковременный прогноз концентрации ГК (на 30 мин вперед) [20].

Помимо вышеупомянутых линейных эмпирических моделей, также разработаны некоторые нелинейные модели. Так, G.D. Mitsis и соавт. [21] создали эмпирические нелинейные динамические модели типа Вольтерра с данными, полученными путем симуляции по минимальной модели (см. ниже) [22]. Кроме того, на основе данных внутривенного теста толерантности к глюкозе (ВТТГ) разработана модель нелинейной авторегрессии с внешним входом (nonlinear autoregressive with exogenous input, NARX) для расчета показателя чувствительности к инсулину [23]. Полученные с помощью этой модели показатели чувствительности к инсулину совпадают с вычисленными по минимальной модели для пациентов без СД.

D.K. Rollins и соавт. [24, 25] внесли значительный вклад в развитие нелинейных, ориентируемых на блок Вайнера моделей для пациентов с СД 2-го типа. Эта группа ученых применила методологию моделирования блока Вайнера, чтобы предсказывать концентрацию ГК у пациентов с СД 2-го типа, используя большой набор строго коррелирующих «неинвазивных» входных данных (почти 35 наборов входных переменных, связанных со стрессом, активностью и пищей). В указанной работе также сообщается, что этот вид методологии моделирования был испытан клинически с участием 1 пациента с СД 1-го типа (количество вводимого инсулина было известно). Исследование показало высокую корреляцию предсказываемых моделью значений ГК с реальными изменениями гликемии у пациента ($r=0,96$).

Искусственные нейронные сети

Искусственная нейронная сеть (artificial neural network, ANN) — математическая модель (а также ее реализация — программные или аппаратные средства), организованная и функционирующая аналогично сетям нервных клеток живого организма. Нейронные сети позволяют осуществлять прогнозирование путем обобщения и выделения скрытых зависимостей между входными и выходными данными. Нейронная сеть способна предсказать будущее значение некоей последовательности (после «обучения») на основе нескольких предыдущих значений и/или каких-то существующих в настоящий момент факторов.

Теоретические модели

В работе W.A. Sandham и соавт. [26] исследовали возможность точного предсказания концентрации ГК у 2 пациентов с СД 1-го типа с помощью рекуррентной нейронной сети (recurrent artificial neural network, RANN). Предыдущие значения ГК использовали в модели для того, чтобы предсказать текущую или будущую концентрацию ГК. Входной спектр данных, используемый для предсказания концентрации ГК у пациентов с СД 1-го типа, включал инсулин (доза, тип, время и место инъекции), диету (полное количество углеводов, время приема пищи), физическую нагрузку (продолжительность, интенсивность, время начала), значение ГК и другие параметры (стресс, болезнь и т.п.). Результаты прогноза модели ANN оказались очень близки к реальным значениям ГК у обоих пациентов. V. Tresp и соавт. [27] показали, что RANN в комбинации с линейной моделью ошибок (разработанной, чтобы учитывать неопределенность в системе и восполнять недостающие значения ГК во входных данных) дает еще более точные прогнозы концентрации ГК у пациентов с СД 1-го типа.

N. Ghevondian и соавт. [28] использовали обучаемый алгоритм ANN с обратной связью для предсказания концентрации ГК у получавших инсулинотерапию пациентов с СД. В качестве входных данных помимо стандартных применяли неинвазивно измеренные физиологические параметры, такие как сопротивление кожи и частота сердечных сокращений. Результаты показали, что погрешность предсказаний данной модели может быть <10%.

S.G. Mougiakakou и соавт. [29] представили 2 комбинации компартментарных моделей и ANN для моделирования системы инсулин–глюкоза на основе данных 4 детей с СД 1-го типа. Фармакокинетика инсулина и кинетика всасывания глюкозы из кишечника были описаны в форме компартментарных моделей, в то время как динамика изменений концентрации глюкозы в крови была дана в ANN. В одной модели применяли прямую связь ANN (FFANN), в другой — обучаемую RANN с рекуррентным алгоритмом обучения в реальном времени. Выходные данные из компартментарных моделей брали в качестве входных данных для моделей ANN. Результаты показали превосходную точность работы RANN на данных всех 4 пациентов.

В различных работах рассмотренные выше ANN-модели использовали наборы данных небольшого числа пациентов (от 1 до 4) для предсказания изменений концентрации ГК. Хотя исследователи и добились значительных успехов, о дальнейшем применении ANN-моделей в исследованиях с большим числом субъектов до настоящего времени не сообщалось.

Алгоритм универсального процесса моделирования

Для предсказания значений ГК Р. Kotanko и соавт. [30] применяли эмпирическую технику моделирования, названную алгоритмом универсального процесса моделирования (universal process modeling algorithm, UPMA), и использовали данные 2 получавших инсулин пациентов с СД за 700 дней. Эти данные включали информацию о ежедневной инсулинотерапии, измерениях ГК, физической активности и питании пациентов. UPMA использовал данные предыдущего месяца как «библиотеку ссылок» для прогнозирования ГК в следующем месяце. Прогнозы UPMA сравнили с прогнозами 2 опытных врачей. Результаты показали, что значения ГК, предсказанные UPMA, обладали значительной корреляцией с наблюдаемыми значениями ГК (r от 0,45 до 0,73), тогда как прогнозы врачей существенно отличались от реальных значений (r от 0,05 до 0,10).

Теоретические модели системы глюкоза–инсулин учитывают физиологические взаимодействия на органном, тканевом, клеточном и субклеточном уровне, связанные с метаболизмом глюкозы. Для разработки таких моделей требуются значительно большие усилия по сравнению с таковыми для создания эмпирических моделей. Теоретические модели можно подразделить на смешанные (полуэмпирические) и полные теоретические.

- Смешанные модели обладают ограниченным числом динамических уравнений, в которых функции различных органов или тканей тела смешиваются в один или более компартментов (например, вне- и внутриклеточные компартменты). Параметры и многие коэффициенты смешанных моделей определяются на основе результатов клинических тестов и исследований (таких как внутривенный или оральный тест на толерантность к глюкозе и т.д.), что и обуславливает их полуэмпирический характер.
- В разработке полных теоретических моделей рассматривают детализированную физиологию. Распределение и динамические изменения концентрации глюкозы и инсулина в различных органах и тканях смоделированы отдельно, при помощи доступных экспериментальных данных. Взаимодействие между этими органами также описывается этими моделями. Полные теоретические модели очень сложны и требуют большего количества времени для разработки, чем смешанные.

Смешанные модели

Пионером в развитии математических моделей, базирующихся на основных физиологических закономерностях регуляции углеводного обмена, был V.W. Bolie. В 1961 г. он предложил линейную модель, основанную на собственной теории [31], с двумя обыкновенными дифференциальными уравнениями (ОДУ), описывающими закономерности изменений концентрации ГК и инсулина. Эта теория предполагала, что печень, поджелудочная железа и периферические ткани находятся в связи друг с другом посредством единственного компартмента, в котором изменения концентрации глюкозы и инсулина происходят быстро и однородно. Однако эта модель не рассматривала действие почек, а также внутри- и внесудистые различия в концентрациях инсулина и глюкозы. Подобная модель для описания кинетики глюкозы и инсулина с двумя ОДУ была разработана E. Askerman в 1965 г. [32].

Минимальная модель, или модель Бергмана (R.N. Bergman)

Наиболее популярной моделью в исследованиях диабета является минимальная модель, предложенная R.N. Bergman и соавт. [22]. Она была разработана после сложного статистического и физиологического анализа закономерностей утилизации глюкозы у собак [33]. Модель была также проверена на людях с целью определения таких важных физиологических параметров, как гликемический индекс глюкозы (степень повышения концентрации ГК при введении глюкозы в организм тем или иным путем), чувствительность инсулина и реактивность поджелудочной железы [34, 35]. Минимальная модель включает 3 ОДУ, описывающие изменения концентрации ГК и инсулина в плазме, а также элиминацию инсулина в организме (не рассматривая внешних воздействий).

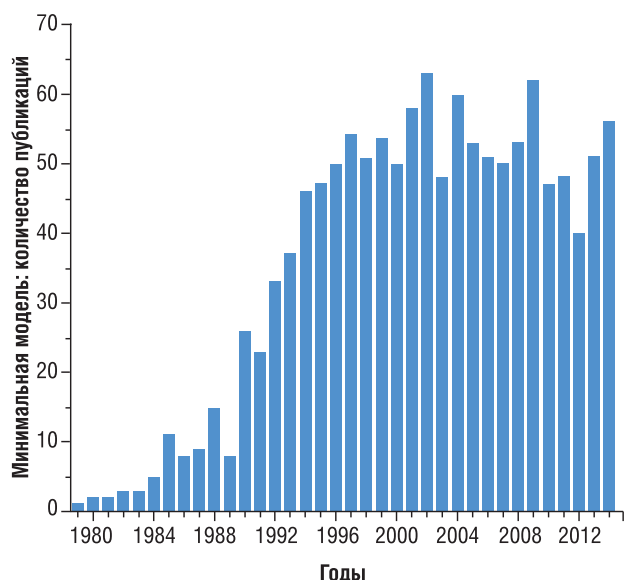


Рис. 2. Исследования с использованием минимальной модели с 1979 по 2014 г., по оценкам PubMed.

Главные преимущества этой модели — ее структурная простота и способность рассчитать важные физиологические параметры, используя значения концентрации ГК и инсулина в плазме, полученные из клинических тестов.

Минимальная модель использована в сотнях исследований [36], и число работ продолжает расти (рис. 2).

Впоследствии минимальная модель претерпела множество модификаций, которые главным образом вводили условия СД в оригинальную минимальную модель, разработанную на основе данных ВТТГ, полученных у здоровых субъектов. S.M. Furler и соавт. [37] предложили модифицировать минимальную модель с целью управления концентрацией ГК у пациентов с СД, введя функцию экзогенно доставляемого инсулина. R.L. Ollerton [38] и M.E. Fisher [39] изменили минимальную модель, максимально приблизив ее к условиям СД 1-го типа: добавили функцию экзогенного поступления глюкозы в уравнение динамики глюкозы и, исключив функцию панкреатической секреции инсулина, ввели функцию экзогенно доставляемого инсулина в компартменте инсулина плазмы. В 2002 г. модель M.E. Fisher была изменена: S.M. Lynch

и соавт. [40] включили в нее новое уравнение, которое связало содержание глюкозы в крови и подкожной жировой клетчатке. В 2006 г. в работе T. Van Herpe и соавт. [41] была предложена модифицированная минимальная модель для управления концентрацией ГК пациентов в отделении интенсивной терапии. A. Roy и R.S. Parker [42] развили расширенную минимальную модель, введя в нее новую функцию, отражающую влияние свободных жирных кислот на метаболизм глюкозы. Эта модель включила новое ОДУ, описывающее динамику содержания свободных жирных кислот в плазме. Позднее A. Roy и R.S. Parker [43] разработали расширенную минимальную модель, учитывающую влияние физической нагрузки на систему глюкоза—инсулин.

Несмотря на популярность, у минимальной модели Бергмана есть существенные недостатки. В исследованиях показано, что в минимальной модели применяется завышенное значение гликемического индекса глюкозы [44] и заниженное — показателя чувствительности к инсулину [45]. С. Cobelli и соавт. [46] сформировали новую двухкомпарментарную минимальную модель для описания кинетики глюкозы с использованием байесовского подхода. Эта модель разработана на основе данных стандартного ВТТГ здоровых субъектов. Она отличается более точными показателями гликемического эффекта глюкозы и чувствительности к инсулину по сравнению с оригинальной минимальной моделью. A. Caumo и соавт. [47] показали, что причиной сверх- и недооценки является однокомпарментарное приближение системы глюкоза—инсулин в оригинальной минимальной модели; они предложили двухкомпарментарную модель для системы глюкозы (ввели в модель «доступные» и «недоступные» компартменты), которая смогла дать точные значения показателя гликемического эффекта глюкозы и чувствительности к инсулину.

Модель Леманна (E.D. Lehmann)

В 1989 г. M. Berger и D. Rodbard [48] предложили компьютерную программу, основанную на фармакокинетико-фармакодинамической модели, для моделирования динамики содержания инсулина и глюкозы после подкожной инъекции инсулина. Фармакокинетическую модель действия инсулина можно было использовать для вычисления концентрации инсулина

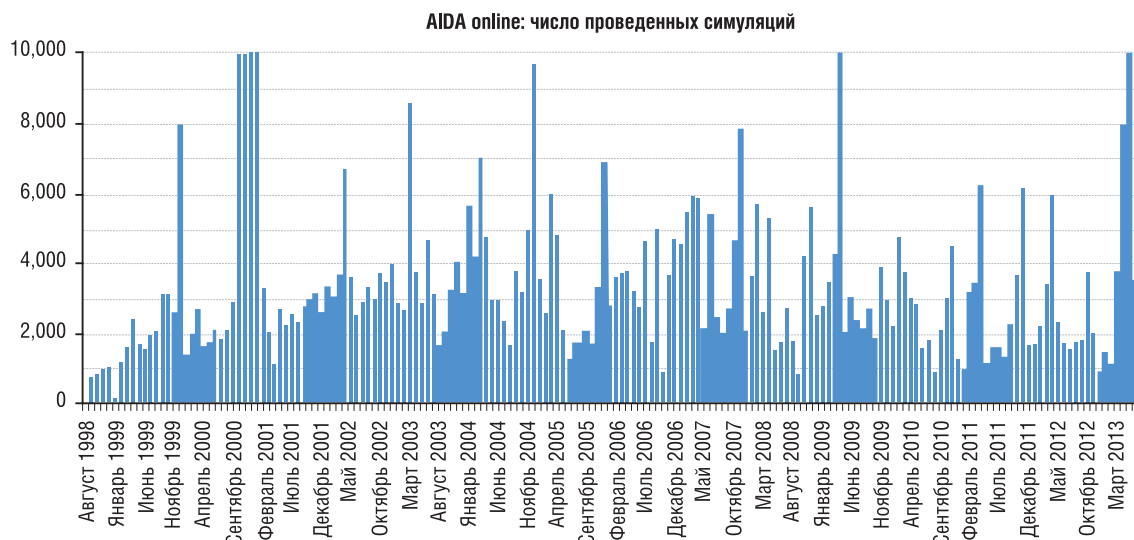


Рис. 3. Число онлайн-симуляций с использованием симулятора АИДА в месяц. Более чем 68 тыс. симуляций за время существования АИДА (публикуется с разрешения правообладателя по открытой лицензии Creative Commons Attribution License из [51]. Copyright © 2014 Eldon D. Lehmann et al.).

в плазме крови при различных вариантах состава раствора вводимого инсулина, в то время как фармакодинамическая модель изменения концентрации глюкозы могла быть использована для предсказания ожидаемого значения ГК в ответ на потребление объектом углеводов и введение инсулина.

Е.Д. Lehmann и Т. Deutsch [49] разработали новую полуэмпирическую модель системы инсулин–глюкоза у больных СД 1-го типа. В ней использована фармакокинетическая модель действия инсулина М. Berger и D. Rodbard с фармакодинамической моделью глюкозы J.R. Gupton и соавт. [50]. Единственный компартмент модели Леманна учитывает поступление в организм глюкозы через абсорбцию из кишечника и общий печеночный баланс (учитывается фоновый гликогенолиз, гликогенез и глюконеогенез), а вывод — через периферическую и инсулиннезависимую утилизацию глюкозы и почечную экскрецию. Самая значительная часть модели — описание количества глюкозы, поступающей из кишечника после приема пищи. На основе этой математической модели создана обучающая компьютерная программа — симулятор АИДА (automated insulin dosage advisor, AIDA) [49], которая в интерактивном режиме позволяет получать значения концентрации инсулина плазмы и ГК у пациентов с СД 1-го типа (рис. 3).

554

Модель Стариса (J. Sturis)

J. Sturis и соавт. [52] на основе данных клинических исследований, демонстрирующих, что секреция инсулина в поджелудочной железе следует колебательному поведению с быстрой малой амплитудой и более медленной большой амплитудой в зависимости от инфузии глюкозы, разработали модель, состоящую из 6 ОДУ и 5 нелинейных уравнений. Первые 3 дифференциальных уравнения этой модели описывают концентрацию инсулина плазмы, межклеточного инсулина и глюкозы плазмы, соответственно. Следующие 3 дифференциальных уравнения моделируют физиологическую задержку инсулина плазмы, чтобы ингибировать производство глюкозы печенью. Пять нелинейных уравнений этой модели характеризуют панкреатическую секрецию инсулина, утилизацию глюкозы (мозгом, жировой тканью

и клетками мышц) и физиологическую задержку. Схема модели приведена на рис. 4.

I.M. Tolic и соавт. [53] в 2000 г. расширили модель Стариса, дополнив ее двумя детальными моделями динамики рецептора инсулина. В модели, предложенной J. Li и соавт. [54], введены 2 функции задержки динамики инсулина и глюкозы во времени в ОДУ. Однако эти модели не были проверены на достоверность клиническими исследованиями. В 2010 г. С.-L. Chen и соавт. [55] немного изменили модель J. Li и успешно проверили ее на экспериментальных данных 56 пациентов с СД.

Модель Новорки (R. Novorka)

В 2002 г. R. Novorka и соавт. [15] вывели новую полуэмпирическую модель динамики ГК. Она разработана на основе клинических данных (ВТТГ 6 субъектов) с использованием двойного трекового метода. Двойной трековый метод применяли с целью оценки действия инсулина на фармакокинетику глюкозы, ее метаболизм и эндогенную продукцию. Структурно эта модель включает 2 компартмента для описания фармакокинетики глюкозы и 1 — для описания фармакодинамики инсулина. При этом для каждой описываемой функции (поглощение глюкозы, ее распределение и использование) было введено свое ОДУ. Необходимо отметить, что подсистема динамики инсулина включала двухкомпаратментную цепь, последовательно описывающую сначала абсорбцию инсулина из места введения, а затем его распределение в плазме и дальнейшую фармакодинамику.

Чуть позднее, в работах М.Е. Wilinska и соавт. [56] с использованием экспериментальных клинических данных 7 пациентов с СД 1-го типа были введены уточнения в модель R. Novorka. Изменения касались функций, описывающих кинетику генно-инженерных аналогов инсулина (на примере инсулина лизпро), вводимых подкожно путем постоянной инфузии (с помощью инсулиновой помпы). Так были выведены уравнения 2 путей абсорбции инсулина из места инъекции (быстрого и медленного), а также введена поправка на феномен локальной биодegradации инсулина в месте инфузии. Обобщенная модель рассматривается в более поздних работах под названием «модель Novorka–Wilinska» (рис. 5).

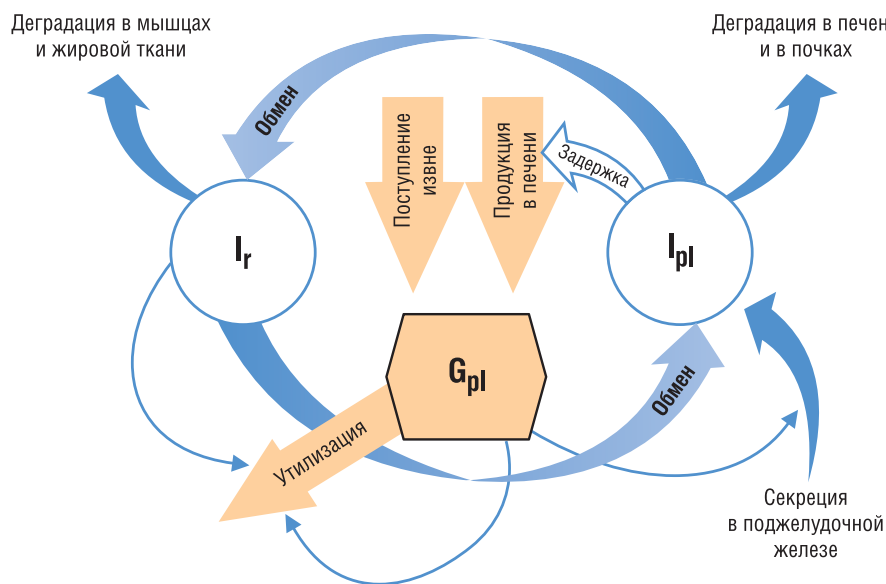


Рис. 4. Блок-схема модели Стариса (адаптировано из [52]).

Примечание. Главные переменные: G_{pl} — глюкоза плазмы, I_r — инсулин в тканях, I_{pl} — инсулин в плазме. Толстыми стрелками отмечены фармакокинетические пути; тонкие стрелки обозначают функциональные отношения.

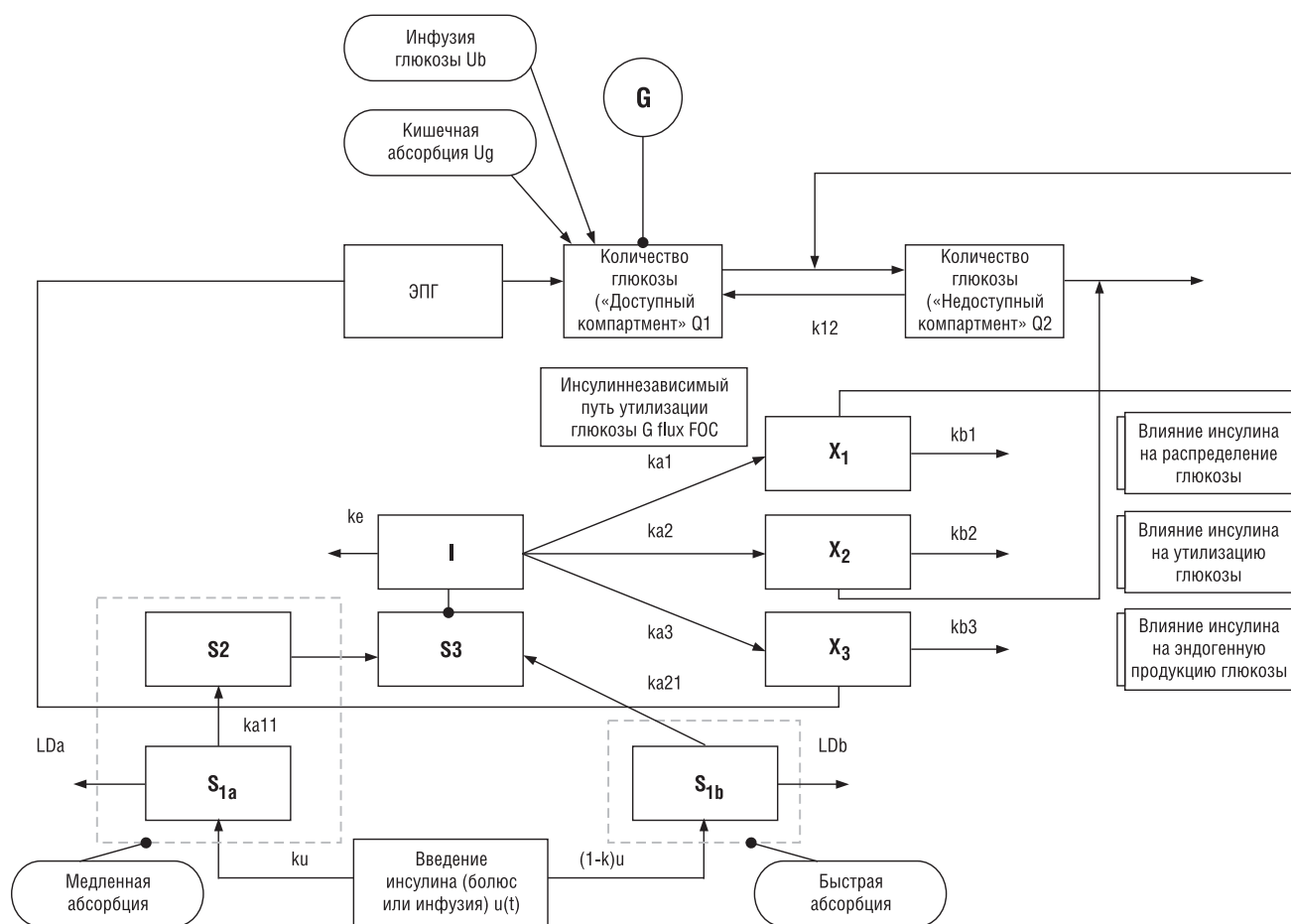


Рис. 5. Блок-схема модели Novorka–Wilinska (публикуется с разрешения правообладателя из [57]. Copyright ©2009 American Chemical Society).

Примечание. Компартаментами S1a, S2 и S1b представлена подсистема абсорбции инсулина. Компартимент динамики инсулина (I) определяет воздействие на компартменты глюкозы («доступный» для прямого действия инсулина — Q1, «недоступный» — Q2) через трехкомпартиментную подсистему, характеризующую распределение глюкозы в тканях и плазме, ее утилизацию и эндогенную продукцию (ЭПГ). В модели предусмотрен путь утилизации глюкозы по инсулиннезависимому пути. Функции LD (LDa, LDb) описывают локальную биodeградацию инсулина в месте инъекции или инфузии. Входящими данными для математической модели являются дозы вводимого инсулина, на выходе система предсказывает концентрацию глюкозы в крови (G).

Модель Фабьетти (P. Fabietti)

Р. Fabietti и соавт. [58] разработали математическую модель системы инсулин–глюкоза у больных СД 1-го типа с целью проектирования алгоритмов контроля подачи инсулина в искусственной поджелудочной железе. Эта модель состоит из 2 главных подсистем, описывающих динамику содержания инсулина и глюкозы. Подсистема глюкозы включает 2 компартмента — кровь и межтканевую жидкость (тканевой компартмент) [59], а также учитывает наличие инсулинзависимого и инсулиннезависимого пути утилизации глюкозы. Кроме того, модель предусматривает ряд переменных для описания зависимости динамики концентрации ГК от пути ее поступления: при абсорбции в кишечнике, в результате печеночной продукции или внутривенного введения [60]. Подсистема инсулина включает 3 компартмента, описывающих концентрацию инсулина в месте введения, содержание инсулина в плазме и процесс элиминации инсулина из организма, соответственно. В более поздней работе с использованием экспериментальных данных Р. Fabietti и соавт. [61] успешно подтвердили, что предложенная модель с достаточной точностью описывает изменения ГК как при подкожной, так и при внутривенной инфузии инсулина.

Модель Далла Ман (C. Dalla Man)

В 2007 г. С. Dalla Man и соавт. [62] представили новую математическую модель физиологических изменений организма человека на фоне приема пищи. Подсистема глюкозы включала 2 компартментарные структуры (по одному ОДУ для каждого компартмента). Их разделение было сделано на основе данных о том, что выравнивание концентрации глюкозы в межтканевой жидкости и крови занимает принципиально разное время в различных тканях, что связано со строением капилляров и наличием и свойствами гистогематических барьеров. Таким образом, одно ОДУ описывало количество глюкозы в плазме и в «быстро уравнивающимися» тканях, а другое — динамику глюкозы в «медленно уравнивающимися» тканях. Подсистема инсулина была также представлена 2 компартментарными структурами с 2 ОДУ, описывающими динамику содержания инсулина в плазме и эффект инсулина на печень. Обобщенная модель С. Dalla Man включает 4 описанных ранее с математической точки зрения элементарных физиологических процесса:

- эндогенная продукция глюкозы (количественно учитывается влияние инсулина и глюкозы на подавление продукции глюкозы) [63];
- всасывание глюкозы через стенки кишечника [64];

- утилизация глюкозы инсулинзависимыми и независимыми (мозг и эритроциты) тканями и клетками на фоне приема пищи [46, 65, 66];
- эндогенная секреция инсулина, зависящая от концентрации ГК [67, 68].

С. Dalla Man и соавт. [62] определили параметры и подобрали эмпирические коэффициенты для обобщенной модели на большой базе данных субъектов без диабета и пациентов с СД 2-го типа. На основе этой модели было разработано новое программное обеспечение для симуляции динамики инсулин–глюкоза, позволяющее моделировать процессы у здоровых людей и пациентов с СД 1-го и 2-го типа [69]. Для адаптации модели Далла Ман к особенностям СД 1-го типа в нее было введено условие отсутствия панкреатической секреции инсулина и включена система уравнений, описывающих кинетику инсулина, введенного подкожно [70].

В 2009 г. В. Kovatchev и соавт. [71] на основе модели Далла Ман [62, 69] разработали симулятор (известный как UVA / PADOVA S2008 [72]) для проведения доклинических испытаний (исследования *in silico*) и моделирования эффектов предлагаемых методов лечения и лекарственных препаратов у пациентов с СД 1-го типа. Принцип работы симулятора схематично представлен на рис. 6 (белые и голубые блоки). Управление по контролю качества пищевых продуктов и лекарственных препаратов (Food and Drug Administration, FDA) позднее одобрило проведение доклинических испытаний *in silico* с использованием симулятора UVA / PADOVA как альтернативу исследованиям на лабораторных животных, в т.ч. для тестирования стратегий автоматического управления подачей инсулина инсулиновыми помпами с обратной связью. В настоящее время симуляторы на основе S2008 успешно используются 32 научно-исследовательскими группами и компаниями [72].

Появление новых функций в симуляторе UVA / PADOVA S2013 позволяет тестировать алгоритмы

автоматического контроля ГК у пациентов с СД с использованием бигормональных инсулиновых помп. Симулятор UVA / PADOVA S2013 представлен на рассмотрение в FDA в апреле 2013 г.

Полные модели

В отличие от смешанных полные модели рассчитаны на полный учет всех доступных знаний о механизмах регуляции метаболизма глюкозы в большой нелинейной модели высокого порядка с большим числом параметров. Однако без значительного объема экспериментальных данных об организме человека невозможно связать изменения содержания веществ в крови в динамике с конкретными изменениями параметров комплексной модели. Это означает, что эти модели, как правило, не являются полезными для количественного определения конкретных метаболических отношений. Их польза заключается в возможности моделирования системы.

Моделирование — это мощный исследовательский инструмент, особенно в инженерных дисциплинах, где структура и функции системы обычно известны, и уравнения могут быть написаны на основе «первых принципов»¹. В отличие от этого физиологическая система в значительной степени неизвестна с точки зрения структуры и функций, т.е. уравнения всегда можно записать, но проблема заключается в том, будет ли действовать модель. Хотя стратегии проверки сложных моделей уже были предложены [65], трудности в решении этой проблемы остаются.

J. Tigan и соавт. разработали детализированные физиологические модели для описания динамики содер-

1 «Первые принципы» — естественные законы природы, позволяющие обосновать какое-либо явление без привлечения дополнительных эмпирических предположений или специальных моделей (URL: https://ru.wikipedia.org/wiki/Ab_initio).

556

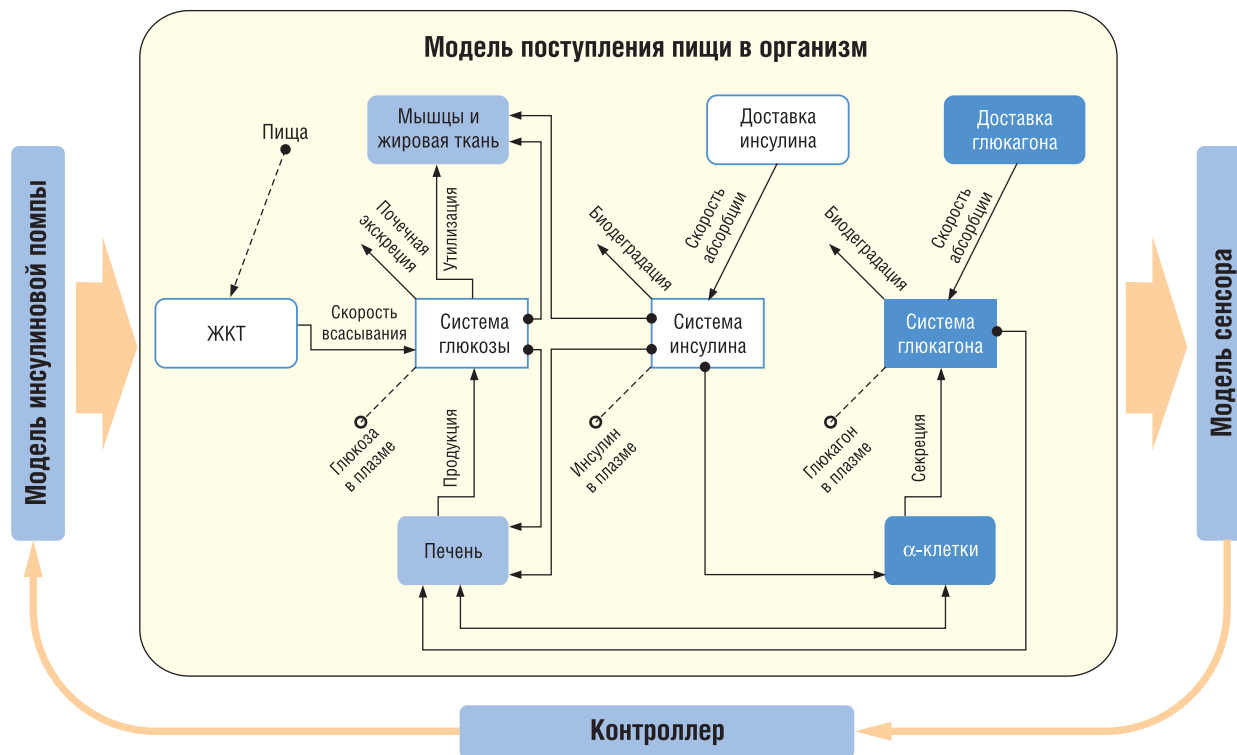


Рис. 6. Схема математической модели системы инсулин–глюкоза, лежащей в основе симулятора UVA / PADOVA (адаптировано из [72, 73]). *Примечание.* Белые блоки — процессы S2008 (желудочно-кишечный тракт, система глюкозы и система инсулина); голубые блоки — обновлены в S2013 для учета контррегуляторных механизмов (печень, мышцы и жировая ткань); синие блоки — новые блоки S2013 (α-клетки поджелудочной железы, система глюкагона и его доставка).

жания глюкозы и инсулина, основанные на физиологических параметрах, включающих скорости кровотока и пути циркуляции в тканях и органах. В 1975 г. эта группа ученых создала модель циркуляции для описания динамики содержания глюкозы [74], включив в нее функции основных участвующих в метаболизме глюкозы и инсулина органов и тканей (кишечник, почки, мозг, сердце, легкие, мышечная и жировая ткань) как нескольких компартментов. Спустя 4 года J. Tigan и соавт. [75] разработали математическую модель органов и кровообращения для описания динамики содержания инсулина (COMID), основанную на таковой для глюкозы [74]. Однако корректность этих моделей была проверена только на собаках с диабетом, но не на людях.

В 1978 г. J.R. Guyton и соавт. [50] представили полную математическую модель метаболизма глюкозы у здорового человека, основанную на законах физиологии. Эта модель разделила человеческое тело на 6 компартментов, описывающих метаболизм глюкозы и фармакокинетику и фармакодинамику инсулина в печени, мозге, поджелудочной железе, почках, периферических тканях и в крови. Структура модели отработана на данных более 100 ВТТГ с привлечением данных литературы, доступной на тот период времени. В 1985 г. в работе J.T. Sorensen [76] была опубликована обновленная модель J.R. Guyton, с более сложным математическим описанием. R.S. Parker и соавт. [77, 78] дополнили модель J.T. Sorensen включением поправок на общие нарушения приема пищи и параметров для анализа неопределенностей. Итоговая физиологическая модель включает 19 ОДУ, характеризующих подсистемы глюкозы, инсулина и глюкагона. Подсистема глюкозы состоит из 6 компартментов (мозг, сердце, легкие, кишечник, печень, почки и периферические ткани — скелетные мышцы и жировая клетчатка). В таких компартментах, как сердце, легкие, почки, печень и кишечник, концентрацию глюкозы рассматривали единой (одинаковой во всем объеме соответствующей ткани), поскольку у них имеется единое пространство хорошо перемешивающейся межтканевой жидкости, и отсутствуют внутриорганные тканевые барьеры. Для мозга и периферических тканей уравнения учитывали наличие 2 хорошо смешиваемых пространств (с однородной концентрацией глюкозы в каждом из них), что обусловлено существованием гематоэнцефалического барьера и определенных ограничений в скорости проникновения глюкозы через капиллярную сеть в мышцах и жировой ткани. Для подсистемы инсулина также была введена подобная структура (для мозга, поскольку в отношении инсулина в нем есть только одно хорошо смешиваемое пространство, т.к. гематоэнцефалический барьер для инсулина непроницаем). Для каждого описываемого компартмента артериальная кровь была описана как источник вводных данных, а венозная — как источник вывода.

В начале 80-х гг. XX в. С. Cobelli и соавт. [46, 65] разработали другую детальную физиологическую модель динамики глюкозы, инсулина и глюкагона. Подсистема глюкозы включала один компартмент, описывающий «общий печеночный баланс», почечную экскрецию глюкозы и инсулинзависимую и независимую утилизацию глюкозы. Общий печеночный баланс описывал результат 3 взаимосвязанных процессов, происходящих в печени:

- глюконеогенеза и гликогенолиза, обуславливающих продукцию глюкозы в кровь;
- гликогенеза, определяющего процесс поглощения глюкозы печенью из крови.

Подсистема инсулина включала 5 компартментов. Это инсулин:

- синтезируемый и накапливающийся в поджелудочной железе;
- быстро выделяемый поджелудочной железой;
- циркулирующий в плазме крови;
- оказывающий непосредственное влияние на печень (влияющий на общий печеночный баланс);
- в интерстициальной жидкости инсулинзависимых тканей.

Подсистема глюкагона описана 1 компартментом, учитывающим количество глюкагона в плазме и интерстициальной жидкости. В результирующую модель включено 7 нелинейных функций, описывающих продукцию и поглощение глюкозы печенью, почечную экскрецию глюкозы и периферическую инсулинзависимую и независимую утилизацию глюкозы.

D.M. Eddy и L. Schlessinger в 2003 г. представили новую математическую модель СД «Архимед» (Archimedes) [79]. Модель учитывает более 50 постоянно взаимодействующих биологических переменных, а также данные о факторах, влияющих или связанных с метаболизмом глюкозы и СД. Модель непрерывна во времени и представляет биологические переменные постоянно. Она успешно проверена на достоверность компьютерной симуляцией 18 клинических испытаний (коэффициент корреляции результатов контрольной и моделируемой группы 0,97) [80].

Заключение

Учитывая высочайшую социальную значимость сахарного диабета и обманчивую потенциальную простоту математического описания системы из 2 переменных, система инсулин–глюкоза в последние 50 лет была одной из наиболее детально смоделированных биомедицинских проблем. Однако до настоящего времени предпринимаются попытки обобщить главные особенности модели системы, чтобы улучшить точность описания вовлеченных механизмов, сделать более надежным прогноз определяемых показателей для каждого пациента. Смешанные теоретические модели получили наибольшее практическое развитие и на сегодня являются наиболее перспективными для моделирования углеводного обмена *in silico*. Также смешанные модели служат основой и базовой тестовой площадкой для разработок алгоритмов автоматического управления введением инсулина дозаторами с «замкнутым контуром».

Таким образом, математическое моделирование крайне необходимо для повышения эффективности как первичной, так и вторичной профилактики сахарного диабета, а также для разработки и оценки эффективности лекарственных средств и процедур. Дальнейшее развитие математического моделирования системы инсулин–глюкоза, очевидно, позволит создать безопасные устройства для автоматического поддержания заданной концентрации глюкозы в плазме крови у пациентов с сахарным диабетом, тем самым воплотив идею искусственной поджелудочной железы.

Источник финансирования

Аналитическая работа по подготовке статьи проведена в рамках реализации научной программы Института диабета ФГБУ «Эндокринологический научный центр», поддержанной грантом Российского научного фонда (№ 14-25-00181).

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие иных конфликтов интересов, о которых необходимо сообщить.

ЛИТЕРАТУРА

1. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long term complications in insulin dependent diabetes mellitus. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. *N. Engl. J. Med.* 1993; 329 (14): 977–986. DOI: 10.1056/NEJM199309303291401.
2. Doyle F.J., Jovanovic L., Seborg D.E., Parker R.S., Bequette B.W. A tutorial on biomedical process control. *J. Process Control.* 2007; 17: 571–572. DOI: 10.1016/j.jprocont.2007.01.012.
3. Balakrishnan N.P., Rangaiah G.P., Samavedham L. Review and analysis of blood glucose (BG) models for type 1 diabetic patients. *Ind. Eng. Chem. Res.* 2011; 50 (21): 12041–12066. DOI: 10.1021/ie2004779.
4. Boutayeb A., Chetouani A. A critical review of mathematical models and data used in diabetology. *Biomed. Engineer. Online.* 2006; 5: 43. DOI: 10.1186/1475-925X-5-43.
5. Makroglou A., Li J., Kuang Y. Mathematical models and software tools for the glucose-insulin regulatory system and diabetes: an overview. *Appl. Num. Math.* 2006; 56: 559–573. DOI: 10.1016/j.apnum.2005.04.023.
6. Cobelli C., Dalla Man C., Sparacino G., Magni L., De Nicolao G., Kovatchev B. Diabetes: models, signals and control. *IEEE Rev. Biomed. Engineer.* 2009; 2: 54–96. DOI: 10.1109/RBME.2009.2036073.
7. Гоменюк С.М., Емельянов А.О., Карпенко А.П., Чернецов С.А. Обзор методов и систем прогнозирования оптимальных доз инсулина для больных сахарным диабетом 1 типа. *Информационные технологии.* 2010; (3): 48–57.
8. Palumbo P., Ditlevsen S., Bertuzzi A., De Gaetano A. Mathematical modeling of the glucose insulin system: a review. *Math. Biosci.* 2013; 244 (2): 69–81. DOI: 10.1016/j.mbs.2013.05.006.
9. Bremer T., Gough D.A. Is blood glucose predictable from previous values? A solicitation for data. *Diabetes.* 1999; 48: 445–451. DOI: 10.2337/diabetes.48.3.445.
10. Reifman J., Rajaraman S., Gribok A., Ward W.K. Predictive monitoring for improved management of glucose levels. *J. Diabet. Sci Technol.* 2007; 1 (4): 478–486.
11. Sparacino G., Zanderigo F., Corazza S., Maran A., Facchinetti A., and Cobelli C. Glucose concentration can be predicted ahead in time from continuous glucose monitoring sensor time series. *IEEE Transact. Biomed. Engineer.* 2007; 54 (5): 931–937. DOI: 10.1109/TBME.2006.889774.
12. Van Herpe T., Espinoza M., Pluymers B., Wouters P., De Smet F., Van Berghe G., et al. Development of a critically ill patient input output model. *Proceedings 14th IFAC Symposium on System Identification (SYSID 2006). Newcastle. Australia.* 2006: 481–486. DOI: 10.3182/20060329-3-AU-2901.00073.
13. Van Herpe T., Espinoza M., Pluymers B., Goethals I., Wouters P., Van den Berghe G., and De Moor B. An adaptive input output modeling approach for predicting the glycemia of critically ill patients. *Physiol. Meas.* 2006; 27 (11): 1057–1069. DOI: 10.1088/0967-3334/27/11/001.
14. Finan D.A., Doyle F.J., Palerm C.C., Bevier W.C., Zisser H.C. Experimental evaluation of a recursive model identification technique for type 1 diabetes. *J. Diabetes Sci Technol.* 2009; 3 (5): 1192–1202. DOI: 10.1177/193229680900300526.
15. Hovorka R., Shojaee-Moradie F., Carroll P.V., Chassin L.J., Gowrie I.J., Jackson N.C. Partitioning glucose distribution/transport, disposal, and endogenous production during IVGTT. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metabol.* 2002; 282 (5): E992–1007. DOI: 10.1152/ajpendo.00304.2001.
16. Hovorka R., Canonico V., Chassin L.J., Haueter U., Massi-Benedetti M., Orsini F.M. Nonlinear model predictive control of glucose concentration in subjects with type 1 diabetes. *Physiol. Meas.* 2004; 25 (4): 905–920. DOI: 10.1088/0967-3334/25/4/010.
17. Eren-Oruklu M., Cinar A., Quinn L., Smith D. Adaptive control strategy for regulation of blood glucose levels in patients with type 1 diabetes. *J. Process. Control.* 2009; 19: 1333–1346. DOI: 10.1016/j.jprocont.2009.04.004.
18. Eren-Oruklu M., Cinar A., Quinn L. Hypoglycemia prediction with subject-specific recursive time-series models. *J. Diabet. Sci Technol.* 2010; 4 (1): 25–33. DOI: 10.1177/193229681000400104.
19. Kazama Y., Takamura T., Sakurai M., Shindo H., Ohkubo E., Aida K., Harii N., Taki K., Kaneshige M., Kobayashi T. New insulin sensitivity index from the oral glucose tolerance test. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 2008; 79 (1): 24–30. DOI: 10.1016/j.diabres.2007.05.005.
20. Gani A., Gribok A.V., Lu Y., Ward W.K., Vigersky R.A., Reifman J. Universal glucose models for predicting subcutaneous glucose concentration in humans. *IEEE Eng. Med. Biol. Soc.* 2010; 14 (1): 157–165. DOI: 10.1109/TITB.2009.2034141.
21. Mitsis G.D., Marmarelis V.Z. Nonlinear modeling of glucose metabolism: comparison of parametric vs. nonparametric methods. *Conf. Proc. IEEE Eng. Med. Biol. Soc.* 2007; 2007: 5968–5971. DOI: 10.1109/IEMBS.2007.4353707.
22. Bergman R.N., Ider Y.Z., Bowden C.R., Cobelli C. Quantitative estimation of insulin sensitivity. *Am. J. Physiol.* 1979; 236 (6): 667–677.
23. Ghosh S., Maka S. A NARX modeling based approach for evaluation of insulin sensitivity. *Biomed. Signal Processing and Control.* 2009; 4: 49–56. DOI: 10.1016/j.bspc.2008.08.002.
24. Rollins D.K., Bhandari N., Kotz K.R. Critical modeling issues for successful feedforward control of blood glucose in insulin dependent diabetics. *American Control Conference.* 2008. P. 832–837.
25. Rollins D.K., Bhandari N., Kleindler J., Kotz A., Strohhahn L., Boland M., Murphy D., Andre N., Vyas G., Welk W.E. Franke free living inferential modeling of blood glucose level using only noninvasive inputs. *J. Process Control.* 2010; 20 (1): 95–107. DOI: 10.1016/j.jprocont.2009.09.008.
26. Sandham W.A., Hamilton D.J., Japp A., Patterson K. Neural network and neuro-fuzzy systems for improving diabetes therapy. *IEEE Eng. Med. Biol. Soc.* 1998; 20: 1438–1441.
27. Tresp V., Briegel T., Moody J. Neural network models for the blood glucose metabolism of a diabetic. *IEEE transactions on neural networks / a publication of the IEEE Neural Networks Council.* 1999; 10 (5): 1204–1213. DOI: 10.1109/72.788659.
28. Ghevondian N., Nguyen H. Modelling of blood glucose profiles non invasively using a neural network algorithm. *Proceedings of the first Joint BMES/EMBS Conference, Serving Humanity, Advancing Technology.* 1999; 2: 928. DOI: 10.1109/IEMBS.1999.804082.
29. Mougiakakou S.G., Proutzou A., Iliopoulou D., Nikita K.S., Vazeou W. Neural network based glucose – insulin metabolism models for children with Type 1 diabetes. *IEEE Eng. Med. Biol. Soc.* 2006; 1: 3545–3548. DOI: 10.1109/IEMBS.2006.260640.
30. Kotanko P., Heissl H., Trajanoski Z., Wach P., Skrabal F. Blood glucose forecasting in patients with insulin dependent diabetes mellitus with the universal process modeling algorithm. *Proceed. Annu. Int. Conf. IEEE.* 1992: 898–899. DOI: 10.1109/IEMBS.1992.5761297.
31. Bolie V.W. Coefficients of normal blood glucose regulation. *J. Appl. Physiol.* 1961; 16: 783–788.
32. Ackerman E., Gatewood L.C., Rosevear J.W., Molnar G.D. Model studies of blood glucose regulation. *Bull. Math. Biophys.* 1965; 27: 21–37. DOI: 10.1007/BF02477259.
33. Toffolo G., Bergman R.N., Finegood D.T., Bowden C., Cobelli C. Quantitative estimation of beta cell sensitivity to glucose in the intact organism: a minimal model of insulin kinetics in the dog. *Diabetes.* 1980; 29 (12): 979–990.
34. Bergman R.N., Phillips L.S., Cobelli C. Physiologic evaluation of factors controlling glucose tolerance in man: measurement of

- insulin sensitivity and beta cell glucose sensitivity from the response to intravenous glucose. *J. Clin. Inv.* 1981; 68 (6): 1456–1467. DOI: 10.1172/JCI110398.
35. Pacini G., Bergman R.N. MINMOD: a computer program to calculate insulin sensitivity and pancreatic responsivity from the frequently sampled intravenous glucose tolerance test. *Comput. Methods Programs Biomed.* 1986; 23 (2): 113–122.
 36. Bergman R.N. Minimal model: perspective from 2005. *Horm. Res.* 2005; 64 (Suppl. 3): 8–15. DOI: 10.1159/000089312.
 37. Furler S.M., Kraegen E.W., Smallwood R.H., Chisholm D.J. Blood glucose control by intermittent loop closure in the basal mode: computer simulation studies with a diabetic model. *Diabet. Care.* 1985; 8 (6): 553–561. DOI: 10.2337/diacare.8.6.553.
 38. Ollerton R.L. Application of optimal control theory to diabetes mellitus. *Int. J. Control.* 1989; 50 (6): 2503–2522. DOI: 10.1080/00207178908953512.
 39. Fisher M.E. A semiclosed loop algorithm for the control of blood glucose levels in diabetics. *IEEE Transact. Biomed. Engineering.* 1991; 38 (1): 57–61. DOI: 10.1109/10.68209.
 40. Lynch S.M., Bequette B.W. Model predictive control of blood glucose in type I diabetics using subcutaneous glucose measurements. *Proceed. Am. Control Conf.* 2002; 5: 4039–4043. DOI: 10.1109/ACC.2002.1024561.
 41. Van Herpe T., Pluyms B., Espinoza M., Van den Berghe G., De Moor B. A minimal model for glycemia control in critically ill patients. *IEEE Eng. Med. Biol. Soc.* 2006; 1: 5432–5435. DOI: 10.1109/IEMBS.2006.260613.
 42. Roy A., Parker R.S. Dynamic modeling of free fatty acid, glucose, and insulin: an extended «minimal model». *Diabetes Technol. Ther.* 2006; 8 (6): 617–626. DOI: 10.1089/dia.2006.8.617.
 43. Roy A., Parker R.S. Dynamic modeling of exercise effects on plasma glucose and insulin levels. *J. Diabet. Sci Technol.* 2007; 1 (3): 338–347.
 44. Quon M.J., Cochran C., Taylor S.I., Eastman R.C. Non insulin mediated glucose disappearance in subjects with IDDM. Discordance between experimental results and minimal model analysis. *Diabetes.* 1994; 43: 890–896.
 45. Saad M.F., Anderson R.L., Laws A., Watanabe R.M., Kades W.W., Chen Y.D., Sands R.E. A comparison between the minimal model and the glucose clamp in the assessment of insulin sensitivity across the spectrum of glucose tolerance. Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *Diabetes.* 1994; 43: 1114–1121.
 46. Cobelli C., Federspil G., Pacini G., Salvan A., Scandellari C. An integrated mathematical model of the dynamics of blood glucose and its hormonal control. *Math. Biosci.* 1982; 58: 27–60. DOI: 10.1016/0025-5564(82)90050-5.
 47. Caumo A., Vicini P., Cobelli C. Is the minimal model too minimal? *Diabetologia.* 1996; 39: 997–1000. DOI: 10.1007/BF00403922.
 48. Berger M., Rodbard D. Computer simulation of plasma insulin and glucose dynamics after subcutaneous insulin injection. *Diabetes Care.* 1989; 12 (10): 725–736. DOI: 10.2337/diacare.12.10.725.
 49. Lehmann E.D., Deutsch T. A physiological model of glucose insulin interaction in type 1 diabetes mellitus. *J. Biomed. Eng.* 1992; 14 (3): 235–242. DOI: 10.1016/0141-5425(92)90058-S.
 50. Guyton J.R., Foster R.O., Soeldner J.S., Tan M.H., Kahn C.B., Koncz L., Gleason R.E. A model of glucose-insulin homeostasis in man that incorporates the heterogeneous fast pool theory of pancreatic insulin release. *Diabetes.* 1978; 27: 1027–1042. DOI: 10.2337/diab.27.10.1027.
 51. Lehmann E.D., Dewolf D.K., Novotny C.A., Reed K., Gotwals R.R. Dynamic interactive educational diabetes simulations using the World Wide Web: An experience of more than 15 years with AIDA online. *Int. J. Endocrinol.* 2014; 2014: 692893. DOI: 10.1155/2014/692893.
 52. Sturis J., Polonsky K.S., Mosekilde E., Van Cauter E. Computer model for mechanisms underlying ultradian oscillations of insulin and glucose. *Am. J. Physiol.* 1991; 260 (5 Pt 1): E801–809.
 53. Tolić I.M., Mosekilde E., Sturis J. Modeling the insulin glucose feedback system: the significance of pulsatile insulin secretion. *J. Theor. Biol.* 2000; 207 (3): 361–375. DOI: 10.1006/jtbi.2000.2180.
 54. Li J., Kuang Y., Mason C.C. Modeling the glucose-insulin regulatory system and ultradian insulin secretory oscillations with two explicit time delays. *J. Theor. Biol.* 2006; 242 (3): 722–735. DOI: 10.1016/j.jtbi.2006.04.002.
 55. Chen C.L., Tsai H.W. Modeling the physiological glucose insulin system on normal and diabetic subjects. *Comput. Methods Programs Biomed.* 2010; 97 (2): 130–140. DOI: 10.1016/j.cmpb.2009.06.005.
 56. Wilinska M.E., Chassin L.J., Schaller H.C., Schaupp L., Pieber T., Hovorka R. Insulin kinetics in type I diabetes: continuous and bolus delivery of rapid acting insulin. *IEEE Transact. Biomed. Engineering.* 2005; 52 (1): 3–12. DOI: 10.1109/TBME.2004.839639.
 57. Galvanin F., Barolo M., Macchietto S., Bezzi F. Optimal design of clinical tests for the identification of physiological models of type I diabetes. *Ind. Eng. Chem. Res.* 2009; 48: 1989–2002. DOI: 10.1021/ie801209g.
 58. Fabietti P.G., Canonico V., Federici M.O., Benedetti M.M., Sarti E. Control oriented model of insulin and glucose dynamics in type I diabetics. *Med. Biol. Eng. Comput.* 2006; 44 (1–2): 69–78. DOI: 10.1007/s11517-005-0012-2.
 59. Regittnig W., Trajanoski Z., Leis H.J., Ellmerer M., Wutte A., Sendlhofer G. Plasma and interstitial glucose dynamics after intravenous glucose injection: evaluation of the single compartment glucose distribution assumption in the minimal models. *Diabetes.* 1999; 48 (5): 1070–1081.
 60. Arleth T., Andreassen S., Federici M.O., Benedetti M.M. A model of the endogenous glucose balance incorporating the characteristics of glucose transporters. *Comput. Methods Programs Biomed.* 2000; 62 (3): 219–234. DOI: 10.1016/S0169-2607(00)00069-9.
 61. Fabietti P.G., Canonico V., Orsini-Federici M., Sarti E, Massi-Benedetti M. Clinical validation of a new control oriented model of insulin and glucose dynamics in subjects with type I diabetes. *Diabetes Technol. Ther.* 2007; 9 (4): 327–338. DOI: 10.1089/dia.2006.0030.
 62. Dalla Man C., Rizza R.A., Cobelli C. Meal simulation model of the glucose insulin system. *IEEE Transactions on Biomed. Engineer.* 2007; 54 (10): 1740–1749. DOI: 10.1109/TBME.2007.893506.
 63. Dalla Man C., Toffolo G., Basu R., Rizza R.A., Cobelli C. A model of glucose production during a meal. *IEEE Eng. in Med. Biol. Soc.* 2006; 1: 5647–5650. DOI: 10.1109/IEMBS.2006.260809.
 64. Dalla Man C., Camilleri M., Cobelli C. A system model of oral glucose absorption: validation on gold standard data. *IEEE Transactions on Biomed. Engineer.* 2006; 53 (12 Pt. 1): 2472–2478. DOI: 10.1109/TBME.2006.883792.
 65. Cobelli C., Mari A. Validation of mathematical models of complex endocrine-metabolic systems. A case study on a model of glucose regulation. *Med. Biol. Eng. Comput.* 1983; 21 (4): 390–399. DOI: 10.1007/BF02442625.
 66. Cobelli C., Ruggeri A. Evaluation of portal/peripheral route and of algorithms for insulin delivery in the closed loop control of glucose in diabetes a modeling study. *IEEE Transact. Biomed. Engineer.* 1983; 30 (2): 93–103. DOI: 10.1109/TBME.1983.325203.
 67. Breda E., Cavaghan M.K., Toffolo G., Polonsky K.S., Cobelli C. Oral glucose tolerance test minimal model indexes of beta cell function and insulin sensitivity. *Diabetes.* 2001; 50 (1): 150–158. DOI: 10.2337/diabetes.50.1.150.
 68. Toffolo G., Breda E., Cavaghan M.K., Polonsky K.S. Quantitative indexes of beta cell function during graded up&down glucose infusion from C-peptide minimal models. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metabol.* 2001; 280 (1): 2–10.
 69. Dalla Man C., Raimondo D.M., Rizza R.A., Cobelli C. GIM, simulation software of meal glucose insulin model. *J. Diabetes Sci. Technol.* 2007; 1 (3): 323–330. DOI: 10.1177/193229680700100303.
 70. Nucci G., Cobelli C. Models of subcutaneous insulin kinetics. A critical review. *Comput. Methods Programs Biomed.* 2000; 62 (3): 249–257.

71. Dalla Man C., Micheletto F., Lv D., Breton M., Kovatchev B., Cobelli C. The UVA/PADOVA type 1 diabetes simulator: new features. *J. Diabetes Sci. Technol.* 2014; 8 (1): 26–34. DOI: 10.1177/1932296813514502.
72. Kovatchev B.P., Breton M., Dalla Man C., Cobelli C. *In silico* preclinical trials: a proof of concept in closed-loop control of type 1 diabetes. *J. Diabetes Sci. Technol.* 2009; 3 (1): 44–55. DOI: 10.1177/193229680900300106.
73. Chan A., Heinemann L., Anderson S.M., Breton M.D., Kovatchev B.P. Nonlinear metabolic effect of insulin across the blood glucose range in patients with type 1 diabetes mellitus. *J. Diabetes Sci. Technol.* 2010; 4 (4): 873–881. DOI: 10.1177/193229681000400416.
74. Tiran J., Galle K.R., Porte D. A simulation model of extracellular glucose distribution in the human body. *Ann. Biomed. Eng.* 1975; 3 (1): 34–46.
75. Tiran J., Avruch L.I., Albisser A.M. A circulation and organs model for insulin dynamics. *Am. J. Physiol.* 1979; 237 (4): E331–339.
76. Sorensen J.T. A physiologic model of glucose metabolism in man and its use to design and assess improved insulin therapies for diabetes. Submitted to the Department of Chemical Engineering in partial fulfillment of the requirements for the Degree of Doctor of Science. *Massachusetts Institute of Technology. Massachusetts.* 1985. 556 p.
77. Parker R.S., Doyle F.J., Peppas N.A. A model based algorithm for blood glucose control in type I diabetic patients. *IEEE Transact. Biomed. Engineer.* 1999; 46 (2): 148–157. DOI: 10.1109/10.740877.
78. Parker R.S., Doyle F.J., Ward J.H., Peppas N.A. Robust H [infinity] glucose control in diabetes using a physiological model. *Am. Institute Chem. Engineers J.* 2000; 46: 2537–2549. DOI: 10.1002/aic.690461220.
79. Eddy D.M., Schlessinger L. Archimedes: a trial validated model of diabetes. *Diabetes Care.* 2003; 26 (11): 3093–3101. DOI: 10.2337/diacare.26.11.3093.
80. Eddy D.M., Schlessinger L. Validation of the archimedes diabetes model. *Diabetes Care.* 2003; 26 (11): 3102–3110. DOI: 10.2337/diacare.26.11.3102.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Карпельев Владимир Александрович, научный сотрудник Института диабета ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России

Адрес: 117036, Москва, ул. Дмитрия Ульянова, д. 11, e-mail: enprt@mail.ru

Филиппов Юрий Иванович, научный сотрудник отделения программного обучения и лечения Института диабета ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России

Адрес: 117036, Москва, ул. Дмитрия Ульянова, д. 11, тел.: +7 (926) 329-47-23, e-mail: yuriyivanovich@gmail.com

Тарасов Юрий Владимирович, научный сотрудник Института диабета ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России

Адрес: 117036, Москва, ул. Дмитрия Ульянова, д. 11, e-mail: yu.v.tarasov@gmail.com

Боярский Максим Дмитриевич, научный сотрудник Института диабета ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России

Адрес: 117036, Москва, ул. Дмитрия Ульянова, д. 11, e-mail: mia.letum@gmail.com

Майоров Александр Юрьевич, доктор медицинских наук, заведующий отделением программного обучения и лечения Института диабета ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России; доцент кафедры диабетологии и эндокринологии педиатрического факультета Первого МГМУ им. И.М. Сеченова

Адрес: 117036, Москва, ул. Дмитрия Ульянова, д. 11, тел.: +7 (499) 124-35-00, e-mail: education@endocrincentr.ru

Шестакова Марина Владимировна, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, директор Института диабета ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России, заведующая кафедрой эндокринологии и диабетологии педиатрического факультета Первого МГМУ им. И.М. Сеченова

Адрес: 117036, Москва, ул. Дмитрия Ульянова, д. 11, e-mail: nephro@endocrincentr.ru

Дедов Иван Иванович, академик РАН, директор ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России

Адрес: 117036, Москва, ул. Дмитрия Ульянова, д. 11, тел.: +7 (499) 124-43-00, e-mail: dedov@endocrincentr.ru

DOI: 10.15690/vramn.v70.i5.1442

Д.С. Барановский, А.В. Люндуп, В.Д. Паршин

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

Получение функционально-полноценного мерцательного эпителия *in vitro* для тканевой инженерии трахеи

*В настоящее время тканеинженерные трансплантаты трахеи не имеют мерцательного эпителия в своем просвете к моменту трансплантации реципиенту, а длительное отсутствие мукоцилиарного клиренса приводит к ухудшению качества жизни пациента в послеоперационном периоде, что диктует необходимость совершенствования методик культивирования мерцательного эпителия в условиях *in vitro*. Цель исследования: получить функционально полноценный пересеваемый мерцательный эпителий *in vitro*. Методы: в экспериментальном исследовании использовали мерцательный эпителий, выделенный из инцизионного биоптата трахеи человека и культивируемый в специальных условиях с последующей оценкой морфофункциональных характеристик получаемых культур. Результаты: получены культуры клеток мерцательного эпителия человека, характеризующиеся наличием активного синхронного пропульсивного мерцания ресничек, функциональные характеристики которого соответствуют таковым в здоровой слизистой оболочке дыхательных путей. Изучены основные параметры их активности. Заключение: результаты исследования позволили установить новые особенности культивирования мерцательного эпителия *in vitro*, разработать оптимальный способ получения данной ткани.*

Ключевые слова: тканевая инженерия трахеи, мерцательный эпителий трахеи, клеточная культура.

(Для цитирования: Барановский Д.С., Люндуп А.В., Паршин В.Д. Получение функционально-полноценного мерцательного эпителия *in vitro* для тканевой инженерии трахеи. *Вестник РАМН*. 2015; 70 (5): 561–567. Doi: 10.15690/vramn.v70.i5.1442)

561

Обоснование

Среди всех заболеваний трахеи наибольшее значение в последнее время придают локальным и протяженным рецидивирующим рубцовым стенозам. В последние годы их частота существенно возросла [1]. Предположительно, это связано с увеличением числа тяжелых больных с черепно-мозговой и комбинированной травмой, нуждающихся в проведении реанимационных мероприятий, сопровождающихся искусственной вентиляцией легких, и с увеличением возможностей реанимационно-анестезиологического пособия, позволяющего возвращать к жизни крайне тяжелых пациентов. По некоторым данным, до 79% пациентов, перенесших искусственную вентиляцию легких через интубационную или трахеостомическую

трубку, в последующем имеют стенотические поражения трахеи той или иной степени тяжести [1].

Эта проблема давно занимает внимание врачей, но, несмотря на значительное внимание, уделяемое ей со стороны торакальных хирургов и врачей-эндоскопистов, и большое число клинических исследований, окончательного решения пока не найдено.

Применение современных методов эндоскопической хирургии не позволило полностью решить проблему. Часто вслед за реканализацией рубцово-суженной трахеи и практически полным восстановлением ее проходности развивается рецидив стеноза, а циркулярные резекции трахеи возможны только в том случае, если патологические изменения затрагивают не более 50% длины органа [2].

D.S. Baranovsky, A.V. Lyundup, V.D. Parshin

Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation

In vitro Cultivation of Functioning Passaged Ciliated Epithelium for Trachea Tissue Engineering

Background: Currently all tissue engineered trachea transplants had no ciliated epithelium until transplantation, and long-term temporary lack of mucociliary clearance leads to patients' condition decline and reduced life quality in postoperative period. So, the need for a better cultivation method and studying ciliated epithelium growth characteristics in cell culture increased rapidly. **Objective:** The aim of our study was to investigate cultivation of functionally complete passaged ciliated epithelium for trachea tissue engineering. **Methods:** Human ciliated epithelium isolated from intraoperative biopate was used for culturing in the special complex medium with morphological and functional characteristics evaluation. **Results:** Ciliated epithelial cell-groups were obtained by culturing in the special complex medium. Generated cell-groups had ciliary activity and showed well-coordinated movement with functional characteristics similar to native epithelial tissue. The basic parameters of cell-activity were studied. **Conclusion:** Thus our study provides a new insight for the problem of ciliated epithelium *in vitro* culturing as well as developing the optimal laboratory method.

Key words: tracheal tissue engineering, tracheal ciliated epithelium, cell culture.

(For citation: Baranovsky D.S., Lyundup A.V., Parshin V.D. *In vitro* Cultivation of Functioning Passaged Ciliated Epithelium for Trachea Tissue Engineering. *Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2015; 70 (5): 561–567. Doi: 10.15690/vramn.v70.i5.1442)

Трансплантация трахеи от донора к реципиенту — крайне затруднительная и рискованная процедура в связи с опасностью отторжения трансплантата и необходимостью проведения постоянной интенсивной иммуносупрессии, на фоне которой возрастает риск развития тяжелых инфекционных и онкологических заболеваний органов дыхания.

Тканевая инженерия (ТИ) — одна из новых перспективных биомедицинских технологий, позволяющих индуцировать регенерацию поврежденных тканей, замещать целые органы или их отдельные дефекты биологическими протезами, представляющая альтернативу существующим подходам к лечению. При этом в основе ТИ лежит использование естественной способности организма пациента к восстановлению.

Основным преимуществом пересадки тканеинженерных органов или их частей перед любой другой трансплантацией является полное отсутствие необходимости иммуносупрессии в послеоперационном периоде и риска отторжения трансплантата.

В тканевой инженерии трахеи в настоящее время преимущественно используют кадаверные децеллюризованные аллотрансплантаты [3, 4]. Пересадка децеллюризованной трахеи, являясь на сегодняшний день относительно простым и хорошо изученным методом, тем не менее имеет ряд недостатков. С одной стороны, такие матриксы уже содержат необходимые белки и факторы роста для достаточной адгезии, пролиферации и клеточной дифференцировки, что создает готовые условия клеточной ниши для колонизации собственными эндогенными клетками [5]. С другой стороны, препятствием к их использованию является существующий дефицит донорских органов [6]. В большинстве случаев заселение скаффолда производится только мезенхимальными стволовыми клетками. Такой метод представляется наиболее простым и изученным. Однако, как известно, мезенхимальные стволовые клетки имеют ограниченный потенциал к дифференцировке и не могут являться прогениторными клетками эпителия и слизистых оболочек. Таким образом, такой трансплантат еще не имеет мерцательного эпителия в своем просвете ни к моменту трансплантации реципиенту, ни даже через несколько недель после операции.

Исследование биоптатов, полученных из пересаженной кадаверной трахеи, и оценка микрофотографий некоторыми независимыми экспертами показали наличие большого количества грануляционной ткани в зоне анастомозов и стенке тканеинженерного органа и признаков затяжного хронического воспаления с крайне небольшими и незначительными участками, занятыми мерцательным эпителием [7].

По данным одного пятилетнего наблюдения за таким пациентом, покрытие внутренней поверхности трансплантата мерцательным эпителием с восстановлением мукоцилиарного клиренса имело место только через 1 год после трансплантации [8].

Мукоцилиарный клиренс — один из основных механизмов, поддерживающих нормальное функционирование органов дыхательной системы, предотвращающий их колонизацию инфекционными агентами. Длительное временное отсутствие мукоцилиарного клиренса неизбежно приводит к ухудшению состояния и качества жизни пациента в послеоперационном периоде, требует постоянного выполнения повторных санаций бронхиального дерева, увеличивает стоимость его лечения. Фактически, трахея, лишенная активно функционирующей эпителиальной выстилки (мерцательного эпителия), не может считаться полноценным органом.

Создание трахеи с полноценным эпителиальным покрытием потенциально могло бы стать решением существующих проблем, что делает вопрос о разработке методики культивирования мерцательного эпителия *in vitro* в виде диссоциированных клеточных культур с возможностью его переноса на матрикс до пересадки трахеи реципиенту одним из основных в ТИ трахеи сегодня.

Ранее принято было считать, что культивирование мерцательного эпителия *in vitro*, как правило, приводит к росту функционально неполноценных клеток. Они плохо секретируют муцин, склонны к дегенерации и даже полной потере ресничек [9]. Ряд авторов в конце прошлого столетия полагали невозможным полноценное исследование функции клеток мерцательного эпителия *in vitro* именно по этой причине [10]. Позже было показано, что культивирование таких клеток на скаффолдах, содержащих белки естественного межклеточного матрикса (в т.ч. коллаген), с соблюдением условий двухфазной среды позволяет получить функционально полноценный мерцательный эпителий. Существующие методики предполагают также использование специального носителя для создания эффекта «клеточной ниши». Основной их сложностью является необходимость добиться функционального клеточного взаимодействия в рамках скаффолда [11].

Проводились экспериментальные исследования на животных и *in vitro* с самыми различными резорбируемыми и нерезорбируемыми материалами. Многие из них казались достаточно перспективными, однако использование нерезорбируемых материалов чаще всего завершалось неудачей [12, 13].

Культивирование эпителиальных клеток на начальном этапе эксперимента *in vitro* возможно на коллагеновом геле, который стратифицируется на коллагеновой губке, или на специальной коллагеновой пленке, или на базе коллагеновых дисков в двухфазной среде [14–16]. Выявлялось полное покрытие носителя эпителиальными клетками с наличием областей, занятых сформировавшимся мерцательным эпителием (имеющим реснички или микроворсинки). Однако доля таких клеток была все же несколько ниже, чем в нативной ткани носовой раковины [17]. Кроме того, применение подобных носителей технически усложняет методику культивирования, увеличивает ее стоимость. К настоящему моменту показано, что культивирование фибробластов вместе с эпителиальными клетками ускоряет рост, миграцию и дифференцировку последних, стимулирует образование базальной мембраны (между фибробластами и эпителиальными клетками), способствует более раннему появлению мерцательного эпителия и бокаловидных клеток, что, как следствие, приводит к ранней продукции муцина и секреции слизи [17, 18].

Таким образом, все вышеописанные методики представляют собой сложный многоэтапный дорогостоящий процесс, реализация которого возможна только в условиях отдельных экспериментальных исследований. Общим недостатком большинства опубликованных экспериментальных работ можно считать отсутствие объективной оценки двигательной активности цилиарного аппарата или частоты мерцания ресничек, в то время как данный показатель представляется значимым в оценке функциональной полноценности получаемой культуры.

Целью настоящего исследования была оптимизация условий и методики культивирования мерцательного эпителия *in vitro*, разработка наиболее простого и относительно недорогого метода получения клеточных культур, пригодных к заселению матриксов для последующей

трансплантации, разработка наиболее простой и недорогой объективной методики оценки функциональной полноценности получаемой культуры.

Методы

Дизайн исследования

Проведено экспериментальное исследование.

Критерии соответствия

Критерии включения: в исследовании использовали инцизионные биоптаты трахеи пациентов в возрасте от 18 до 55 лет, давших информированное добровольное согласие на использование их тканей в научно-исследовательских целях.

Критерии невключения: в исследовании не использовали ткани пациентов с диагнозом «Рубцовый стеноз трахеи», опухолевыми или инфекционными заболеваниями органов дыхания.

Клеточный источник

В качестве источника исследуемых клеток использовали инцизионный биоптат трахеи пациентов в возрасте от 18 до 55 лет. В исследовании не участвовали лица младше и старше указанного возраста, беременные, пациенты, которым был поставлен диагноз «Рубцовый стеноз трахеи».

Условия проведения

Исследование проведено на базе отдела биомедицинских исследований НИИ молекулярной медицины, Первого МГМУ им. И.М. Сеченова. Фрагмент трахеи доставляли в лабораторию в герметичном контейнере с транспортной питательной средой «Игла». Дальнейшие действия с образцом проводились в условиях специализированной лаборатории тканевой инженерии, помещении класса «А» с соблюдением всех правил асептики.

Продолжительность исследования

Общая продолжительность исследования составила 15 сут.

Описание эксперимента

Подготовка образцов

Образец трехкратно отмывали в растворе фосфатного буфера (PBS) и однократно — в растворе хлоргексидина биглюконата 0,05% в течение 1 мин. В результате отмывки происходит удаление слизи с внутреннего просвета трахеи, эритроцитов и большей части бактериальных клеток, составляющих микрофлору верхних дыхательных путей. Обработка хлоргексидином представляется значимой для предотвращения бактериальной контаминации последующих клеточных культур в связи с тем, что большинство пациентов, перенесших хирургические операции на трахее, могли ранее длительное время находиться на искусственной вентиляции легких и являться носителями полирезистентной внутрибольничной микрофлоры. Вместе с тем кратковременная обработка хлоргексидином не оказала существенного повреждающего влияния на эпителиальную ткань.

Подготовленный образец трахеи после отмывки приобретает белую или светло-розовую окраску.

Выделение и культивирование эпителиальных клеток

Выделение клеток производили по стандартному протоколу с некоторыми модификациями. Подготовленный образец трахеи с целью проведения изоляции эпите-

лиальных клеток помещали в раствор диспазы в транспортном среде (3 Ед/мл) и инкубировали в течение 1 ч при 37 °С. После ферментативной обработки образец приобретает белый цвет, а его внутренняя поверхность — рыхлую структуру.

Механическое отделение эпителиальных клеток от базальной мембраны производили в полнокомпонентной питательной среде Eagles в модификации Дульбекко: HAMS-F12 — 50% об/об (DMEM/HAMS-F12; Biochrome, Германия) с добавлением 10% эмбриональной телячьей сыворотки (FCS; Biochrome, Германия), пенициллина, стрептомицина l-глутамин (PAA Laboratories, Австрия), незаменимых аминокислот, инсулина, трансферрина, селена (Sigma, США), в общей сложности 1% об/об.

Раствор абсорбировали и центрифугировали (1300 об./мин, 5 мин), полученный осадок ресуспендировали в питательной среде Eagles в модификации Дульбекко (см. выше).

Полученную суспензию высевали в 12-луночный планшет. В 6 лунок устанавливали цилиндрические вставки диаметром 5 мм с микропористым дном. К каждой лунке добавляли полнокомпонентную питательную среду Eagles в модификации Дульбекко (см. выше) и ретинола (1000 Ед/мл). Вставки заполняли кондиционированной средой фибробластов линии 3T3.

В качестве контроля использовали аналогичные лунки без вставок с кондиционированной средой. Промаркированный планшет помещали в инкубатор, где проводилось культивирование в течение 5 сут при 37 °С, 95% влажности и 5% содержания CO₂ с заменой сред каждые 2-е сут.

На 5-е сут производилось снятие всех клеток со дна лунок раствором трипсина 0,25%, ресуспендирование и перемещение клеточной суспензии в новые аналогичные лунки с последующим культивированием в аналогичных условиях в течение 3 сут.

Методы регистрации результатов

Оценку клеточного роста осуществляли методом световой микроскопии с помощью микроскопа Nikon Eclipse TS100 (Япония). Производили морфологическую идентификацию полученных клеток, оценивали наличие единичных клеток мерцательного эпителия, колоний мерцающих клеток, синхронность и асинхронность биения ресничек, частоту их мерцания. С целью верификации синхронности и асинхронности колебательных движений, а также подсчета частоты мерцания ресничек выполняли высокоскоростную видеозапись колебательных движений (420 кадров/с) с помощью фото/видеокамеры Apple DNL 432 MKL A8 (Китай), позволяющей различить при просмотре отдельные маятникообразные движения с последующей их интерпретацией. Регистрировали частоту колебательных движений ресничек клеток мерцательного эпителия, расположенных на периферии колонии в многослойных первичных группах (ввиду технической невозможности визуализации движения ресничек над поверхностью многослойной колонии) и частоту колебательных движений ресничек всех клеток мерцательного эпителия в однослойных колониях различного размера.

Этическая экспертиза

Лица, биоптаты трахеи которых использовали в исследовании, предварительно дали на это информированное добровольное согласие.

Статистический анализ

Статистическую оценку частоты мерцания ресничек клеток в колониях мерцательного эпителия произво-

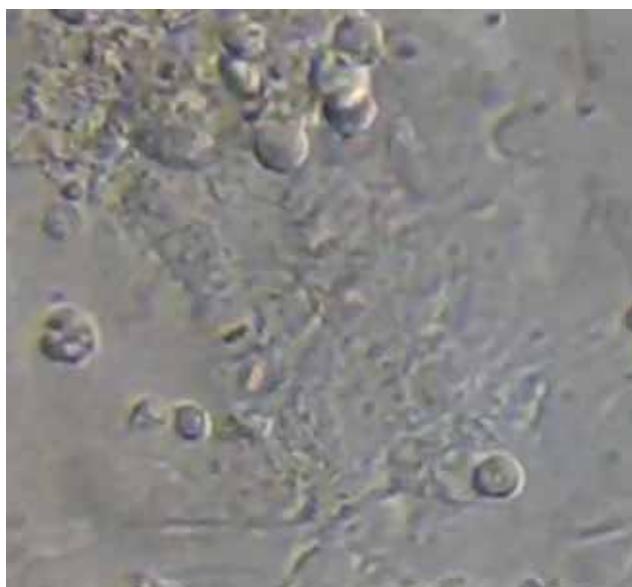


Рис. 1. Монослойные колонии клеток мерцательного эпителия трахеи человека в культуре. Ув. 200.

Примечание. На фотографии видны пучки ресничек на апикальной поверхности эпителиальных клеток в виде черных точек.

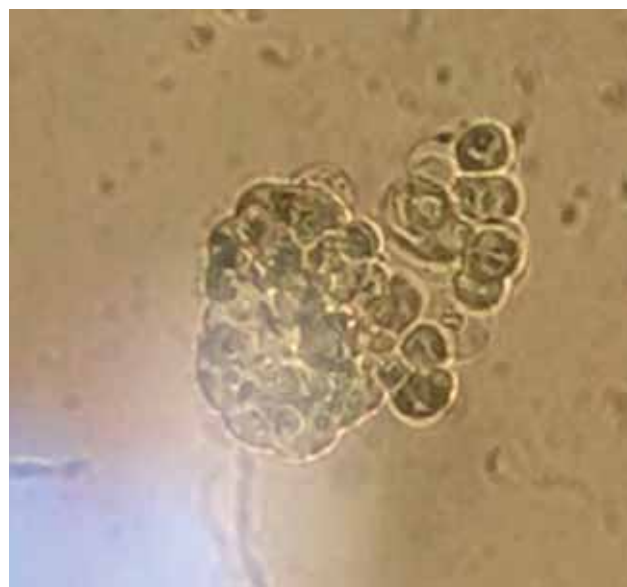


Рис. 2. Единичные многослойные группы клеток мерцательного эпителия в первичной культуре

Примечание. На фотографии вокруг колонии видны пучки ресничек на поверхности эпителиальных клеток в виде ореола. Ув. 200.

564

дили при помощи расчета показателей вариационного ряда и критерия Стьюдента в программном обеспечении Microsoft Excel 2013.

Результаты

Клеточная культура

Объектом исследования являлись культуры клеток мерцательного эпителия, выделенного из инцизионного биоптата трахеи человека.

Основные результаты исследования

При морфологической микроскопической оценке на 5-е сут культивирования во всех лунках обнаруживались клеточные культуры, представленные преимущественно фиксированными монослойными колониями клеток мерцательного эпителия и единичными первичными многослойными группами клеток (рис. 1, 2). В окружающем колонии монослое преобладали эпителиальные клетки без ресничек и фибробласты, однако отмечалось и наличие единичных мерцающих клеток. В течение последующих пяти суток наблюдался рост колоний мерцательного эпи-

телиа с тенденцией к слиянию. При анализе высокоскоростной видеозаписи в крупных колониях зафиксировано синхронное пропульсивное биение ресничек с возможностью продвижения по поверхности колонии микроскопических инородных тел, в то время как в мелких клеточных группах (около 10–15 клеток) движение ресничек, как правило, оказывалось асинхронным. Частота мерцания ресничек в крупных колониях составляла 10,16 (10,2±1,4) колебаний в секунду и оставалась стабильной на протяжении всего периода культивирования. Единичные, изолированно расположенные клетки значимо ($p = 0,050$) отличались по частоте колебаний ресничек, как правило, значительно более низкой, сильно варьирующей (от 2 до 9 колебаний в секунду, средняя величина 4,25). Сравнительные значения частоты колебательных движений ресничек мерцательного эпителия приведены в табл.

Контрольные лунки характеризовались значительно большим числом фибробластов в монослое, отличались более высокими темпами роста фибробластов и меньшими темпами роста колоний мерцательного эпителия.

При снятии клеточной культуры с последующим ресуспендированием и переносом клеточной суспензии в новые лунки в течение последующих 3 сут отмечалось

Таблица. Сравнительные функциональные характеристики мерцательного эпителия дыхательных путей человека

Характеристика колонии	Частота колебаний ресничек/с (Гц)	Источник
Нормальный мерцательный эпителий в биоптате нативной здоровой ткани	10–11	[19]
Мерцательный эпителий в биоптате при моделировании воспаления <i>in vitro</i>	4–6	[20]
Мерцательный эпителий при бронхиальной астме легкого течения	6–7	[21]
Мерцательный эпителий в биоптате при бронхиальной астме среднетяжелого течения	4–8	[21]
Культивированный мерцательный эпителий, первый пассаж	9–10	Собственные данные
Культивированный мерцательный эпителий, второй пассаж	8–10	Собственные данные



Рис. 3. Монослойные колонии клеток мерцательного эпителия трахеи человека, первый пассаж. Ув. 200.

образование аналогичных монослойных колоний мерцательного эпителия различного размера с наличием синхронного или асинхронного движения ресничек аналогичной частоты (рис. 3). Однако полученные колонии отличались меньшей скоростью роста.

Обсуждение

Полученные данные подтверждают возможность культивирования мерцательного эпителия человека *in vitro* с получением пассируемых клеточных культур, обладающих аналогичными морфофункциональными характеристиками с клетками, принимающими участие в образовании слизистой оболочки дыхательных путей, без использования сложных дорогостоящих носителей, помогают оптимизировать условия его культивирования, вносят дополнительный вклад в изучение механизмов воздействия клеточного микроокружения на мерцающие клетки слизистой оболочки.

Полученные в результате настоящего исследования культуры клеток отличаются высокой долей клеток мерцательного эпителия и его прогениторных клеток в монослое с минимально возможным числом фибробластов, сохраняя при этом максимально высокие темпы прироста эпителиальных клеток при относительной простоте культивирования. Культуры клеток обладают морфологическими и функциональными характеристиками, соответствующими таковым применительно к здоровой слизистой оболочке трахеи, что подтверждается результатами световой микроскопии и специального исследования активности клеточного цилиарного аппарата. Частота мерцания ресничек в полученных колониях соответствует таковой в здоровой слизистой оболочке трахеи и бронхиального дерева человека, что указывает на функциональную полноценность культивируемой ткани (см. табл.).

Между тем именно оценка функциональной активности мерцающих клеток в культуре позволяет выявить наиболее значимые ее особенности. К настоящему времени показано, что мерцательный эпителий отчетливо реагирует на патологические изменения микроокруже-

ния, условий клеточной ниши и снижение температуры окружающей среды снижением частоты мерцания ресничек [19]. Так, при возникновении воспалительного процесса слизистой оболочки или экспериментальном воздействии на клетки слизистой оболочки маркерами воспаления происходит снижение частоты биения ресничек с 10–11 до 4–6 Гц. Такое явление можно наблюдать, например, при изучении бронхиальных биоптатов, полученных от пациентов, страдающих бронхиальной астмой. Некоторым исследователям удалось установить наличие корреляции между тяжестью течения заболевания, активностью воспалительного процесса и степенью нарушения цилиарной активности и сделать обоснованное предположение о существенной роли снижения двигательной активности цилиарного аппарата в нарушении бронхиальной проходимости (см. табл.) [19–21].

Более активный рост колоний мерцательного эпителия в опытных лунках по сравнению с контрольными свидетельствует о непосредственном стимулирующем влиянии продуктов жизнедеятельности и клеточных факторов роста, содержащихся в кондиционированной среде фибробластов линии 3Т3, на прогениторные эпителиальные клетки.

Особенностью культивирования в данном случае становится значительно менее выраженная активность фибробластов в таких лунках что, по-видимому, является следствием реципрокного торможения деления фибробластов продуктами жизнедеятельности данной клеточной линии, в избытке содержащимися в кондиционированной среде. Значимость последнего наблюдения подчеркивается тем, что избыточное число фибробластов становится существенным недостатком в том случае, если культивируемый эпителий будет использоваться для последующей загрузки трахеальных матриксов и трансплантации, т.к. потенциально наличие излишнего числа фибробластов во внутреннем просвете трахеи с учетом их более интенсивной пролиферации и роста относительно эпителиальных клеток может приводить к образованию рубцовой ткани и рестенозированию просвета трахеи. Кроме того, образование многослойных колоний ухудшает визуализацию мерцательного эпителия.

Специальный микропористый фильтр в дне каждой вставки не позволяет питательным средам смешиваться, но вместе с тем продукты жизнедеятельности фибробластов, сигнальные молекулы и факторы роста, содержащиеся в кондиционированной среде, постепенно, дозированно проникают в лунку, оказывая стимулирующее воздействие на культивируемые эпителиальные клетки.

Использование кондиционированной среды, получаемой с использованием стандартной чистой культуры фибробластов клеточной линии 3Т3, позволяет достичь максимальной стандартизации состава применяемой для культивирования эпителиоцитов среды и дает уверенность в отсутствии в ней сигнальных молекул клеток других типов.

Таким образом, использование кондиционированной среды клеточной линии фибробластов 3Т3 при культивировании мерцательного эпителия позволяет создавать специфический эффект присутствия фибробластов в культуре и вносит существенный вклад в создание «клеточной ниши» для эпителиальных клеток, позволяя получать более крупные колонии мерцательного эпителия при подавлении роста фибробластов в окружающем монослое. Более интенсивный режим смены питательных сред относительно методик, применявшихся другими исследователями, обусловлен быстрым истощением кон-

диционированной среды ЗТЗ. Кроме того, частая замена питательных сред обеспечивает лучшую их оксигенацию в культуральной лунке.

Получение крупных колоний мерцательного эпителия представляет особенный интерес в связи с тем, что, как было показано, в основном именно они характеризуются наличием синхронного пропульсивного движения ресничек, что служит залогом функционирования полноценного мукоцилиарного клиренса в трахее человека. Таким образом, именно крупные колонии эпителиальной ткани дыхательных путей и их агрегации представляют интерес в дальнейшем для последующего нанесения в просвет тканеинженерных конструкций трахеи.

Постепенное снижение скорости роста эпителиальных клеток при длительном культивировании в условиях *in vivo* предположительно является следствием истощения потенциала прогениторных клеток.

Отсутствие сложной органической подложки или носителя удешевляет получение культуры и отчасти обеспечивает успешное перемещение клеточной культуры с последующим повторным образованием мерцающих колоний и клеточных групп, что позволяет сделать предположение о возможности переноса прекультивированного *in vitro* мерцательного эпителия на трахеальные матриксы с целью их последующей трансплантации животным в рамках доклинических исследований.

Наличие функционирующего мерцательного эпителия в просвете тканеинженерной трахеи, подлежащей пересадке реципиенту, может стать залогом раннего восстановления естественного мукоцилиарного клиренса, что в свою очередь поможет избежать многих существующих в настоящее время осложнений, зачастую угрожающих жизни пациента (таких, как обструкция просвета трахеи слизистыми пробками, стенозирование трансплантата). Исчезновение необходимости в проведении большого числа санационных бронхоскопий в отдаленном (а, возможно, и раннем) послеоперационном периоде существенно ускорит темпы реабилитации пациента, повысит качество его жизни и значительно снизит стоимость лечения, а также уменьшит сроки пребывания в стационаре на послеоперационном этапе. Необходимо подчеркнуть, что наличие прототипа функционирующей слизистой оболочки в трансплантате уже на момент операции может предупредить разрастание грануляционной и рубцовой ткани в его просвете, таким образом предотвратив наиболее грозное осложнение в виде стенозирования трахеи.

Дальнейшие исследования должны быть направлены в т.ч. на совершенствование методов верификации типов культивируемых клеток с целью определения наличия или отсутствия бокаловидных клеток, что будет более точно характеризовать потенциал получаемых клеточных культур в формировании прототипа слизистой оболочки дыхательных путей. Кроме того, в настоящее время проводятся исследования, направленные на оптимизацию методики культивирования с целью создания возможности последующей трансплантации получаемой ткани пациенту в составе сложной тканеинженерной конструкции, а также на увеличение возможных сроков культивирования мерцательного эпителия с предотвращением его преждевременной регрессии, совершенствование технологий его пассирования.

Таким образом, несмотря на сложность и неоднозначность существующих проблем тканевой инженерии трахеи, решение некоторых из них представляется возможным в самое ближайшее время, и можно с большой степенью вероятности утверждать, что в течение ближайшего десятилетия новые технологии в тканевой инженерии трахеи будут доведены до высокой степени совершенства и начнут широко внедряться в медицинскую практику.

Заключение

Результаты проведенного исследования позволяют по-новому взглянуть на проблему получения эпителия дыхательных путей для тканевой инженерии трахеи. Предложенная методика обеспечивает воспроизведение морфологически и функционально полноценного мерцающего эпителия, что позволяет сделать предположение о его способности обеспечить мукоцилиарный клиренс в условиях формирующейся слизистой оболочки трахеи в послеоперационном периоде. Дальнейшие исследования в данной области следует направить на совершенствование технологий пассирования получаемых клеток.

Конфликт интересов

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

ЛИТЕРАТУРА

- Stein A, Quebral R, Boba A, Landmesser C. Post Mortem Evaluation of Laryngotracheal Alterations Associated with Intubation. *Ann. Surg.* 1960;151(1):123–138.
- Berg M, Ejnell H, Kovács A, Nayakawde N, Patil PB, Joshi M, Aziz L, Rådberg G, Hajizadeh S, Olausson M, Sumitran-Holgersson S. Replacement of a tracheal stenosis with a tissue-engineered human trachea using autologous stem cells: a case report. *Tissue Eng Part A.* 2014;20(1–2):389–397.
- Jorissen M, van der Schueren B, van den Berghe H, Casserman JJ. Contribution of in vitro culture methods for respiratory epithelial cells to the study of the physiology of the respiratory tract. *Stem Cells Transl Med.* 2013;2(12):975–982.
- Lim M, Jungebluth P, Sjöqvist S, Nikdin H, Kjørtansdóttir KR, Unger C, Vassliev I, Macchiarini P. Decellularized feeders: an optimized method for culturing pluripotent cells. *Stem Cells Transl Med.* 2013;2(12):975–982.
- Brian W, Aigner J, Staudenmaier R, Lemparta K, Macka B, Happa T, Sittlinger M, Endres M, Naumanna A, Kastenbauer E, Rottera N. The characterisation of human respiratory epithelial cells cultured on resorbable scaffolds: first steps towards a tissue engineered tracheal replacement. *Biomaterials.* 2002;23(6):1425–1438.
- Gonfiotti A, Jaus M, Barale D, Baiguera S, Comin C, Lavorini F, Fontana G, Sibila O, Rombolà G, Jungebluth P, Macchiarini P. The first tissue engineered airway transplantation: 5 year follow up results. *Lancet.* 2014;383(9913):238–244.
- Delaere P, Van Raemdonck D. The trachea: the first tissue engineered organ? *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2014;147(4):1128–1132.
- Gonfiotti A, Jaus M, Barale D, Baiguera S, Comin C, Lavorini F, Fontana G, Sibila O, Rombolà G, Jungebluth P, Macchiarini P. The first tissue engineered airway transplantation: 5 year follow up results. *Lancet.* 2014;383(9913):238–244.

9. Jorissen M, Van der Schueren B, Van den Berghe H, Cassiman J. The preservation and regeneration of cilia on human nasal epithelial cells cultured in vitro. *Arch Otorhinolaryngol.* 1989;246:308–314.
10. Jorissen M, van der Schueren B, van den Berghe H, Casserman JJ. Contribution of in vitro culture methods for respiratory epithelial cells to the study of the physiology of the respiratory tract. *Eur Respir J.* 1991;2:210–7
11. Trump BF, Resau J, Barrett LA. Methods of organ culture for human bronchus. In: *Methods in Cell Biology.* CC Harris, BF Trump, GD Stoner (eds.). New York: Academic Press. 1980. P. 1–14.
12. Cull D, Lally K, Mair E, Diadone M, Parsons D. Tracheal reconstruction with polytetrafluoroethylene graft in dogs. *Ann Thorac Surg.* 1990;50:889–901;
13. Bottema J, Wildevuur C. Incorporation of microporous teflon tracheal prosthesis in rabbits: evaluation of surgical aspects. *J Surg Res.* 1986;41:16–23
14. Nomoto Y, Suzuki T, Tada Y, Kobayashi K, Miyake M, Hazama A, Wada I, Kanemaru S, Nakamura T, Omori K. Tissue engineering for regeneration of the tracheal epithelium. *Laryngorhinootologie.* 2000;79(3):160–164.
15. Bücheler M, Scheffler B, von Foerster U, Bruinink A, Bootz F, Wintermantel E. Growth of human respiratory epithelium on collagen foil. *Laryngorhinootologie.* 2000;79(3):160–164.
16. DeJong P, van Sterkenburg M, Hesseling S, Kepenaar J, Mulder A, Mommaas A, Dijkman J, Ponec M. Ciliogenesis in human bronchial epithelial cells cultured at the airliquid interface. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 1994;10:271–277.
17. Kobayashi K, Nomoto Y, Suzuki T, Tada Y, Miyake M, Hazama A, Kanemaru S, Nakamura T, Omori K. Effect of fibroblasts on tracheal epithelial regeneration in vitro. *Biomaterials.* 2010;31(18):4855–4863.
18. Kobayashi K, Suzuki T, Nomoto Y, Tada Y, Miyake M, Hazama A, Wada I, Nakamura T, Omori K. A tissue engineered trachea derived from a framed collagen scaffold, gingival fibroblasts and adipose derived stem cells. *Biomaterials.* 2010;31(18):4855–4863.
19. Yager J, Chen TM, Dulfano MJ. Measurement of frequency of ciliary beats of human respiratory epithelium. *Chest.* 1978;73:627–633.
20. Kirtsreesakul V., Somjareonwattana P., Ruttanaphol S. The correlation between nasal symptom and mucociliary clearance in allergic rhinitis. *Laryngoscope.* 2009;119(8):1458–1462.
21. Ошур ЛЮ. Мукоцилиарный клиренс и бронхиальная проходимость при стандартной базисной терапии у больных бронхиальной астмой. *Автореф. дис. ... канд. мед. наук.* Владивосток. 2004. 126 с.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Барановский Денис Станиславович, младший научный сотрудник НИИ молекулярной медицины Первого МГМУ им. И.М. Сеченова

Адрес: 119992, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2, **тел.:** +7 (495) 609-14-00, **e-mail:** dennissb@mail.com

Люндуп Алексей Валерьевич, кандидат медицинских наук, заведующий отделом биомедицинских исследований НИИ молекулярной медицины Первого МГМУ им. И.М. Сеченова

Адрес: 119992, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2, **тел.:** +7 (495) 609-14-00, **e-mail:** lyundup@gmail.com

Паршин Владимир Дмитриевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделением торакальной хирургии Университетской клинической больницы № 1 Первого МГМУ им. И.М. Сеченова

Адрес: 119992, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2, **тел.:** +7 (495) 609-14-00, **e-mail:** vdparshin@yandex.ru

Г.А. Бурнашева, Д.А. Напалков

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

Натрийуретические пептиды: использование в современной кардиологии

Натрийуретические пептиды были открыты в 50–70-е гг. XX в. Натрийуретический пептид типа В (BNP) оказался наиболее диагностически и прогностически значимым, поскольку он секретируется непосредственно в желудочках сердца и более точно отражает нагрузку на миокард. В ходе различных исследований была продемонстрирована высокая предсказательная значимость повышения содержания BNP при острой декомпенсации сердечной недостаточности, а также у пациентов с хронической сердечной недостаточностью в крупном исследовании Val-HeFT. Показано, что мониторинг уровня мозгового натрийуретического пептида (NT-proBNP) может быть использовано для подбора оптимальных лекарственных комбинаций в каждом отдельном случае и тем самым, поможет повлиять на течение и исход заболевания, а также снизить стоимость лечения. Следующим шагом в изучении BNP стали попытки использования его в лечении сердечной недостаточности. Длительная терапия BNP (препарат неситритид) улучшала ремоделирование левого желудочка у пациентов со стабильной сердечной недостаточностью. В настоящее время определение содержания BNP и NT-proBNP используют для диагностики и ведения пациентов с сердечной недостаточностью.

Ключевые слова: сердечная недостаточность, мозговой натрийуретический пептид, диагностика, лечение, неситритид.

(Для цитирования: Бурнашева Г.А., Напалков Д.А. Натрийуретические пептиды: использование в современной кардиологии *Вестник РАМН.* 2015; 70 (5): 568–572. Doi: 10.15690/vramn.v70.i5.1443)

568

История

История открытия натрийуретических пептидов началась в 50–70-е гг. XX в., когда В. Kisch, а затем J.P. Marie обнаружили в предсердиях морских свинок секреторные гранулы, которые формировались в ответ на водно-электролитные изменения в ткани [1, 2]. В 1956 г. физиологи J.P. Henry и J.W. Pearce в эксперименте продемонстрировали увеличение диуреза у собак после баллонной дилатации левого предсердия [3]. В 1981 г. A.J. de Bold установил, что инъекции гомогенизированных экстрактов ткани предсердий крысам способствуют повышенной экскреции натрия и воды и приводят к снижению системного артериального давления [4]. Уже через 3 года стало известно строение предсердного натрийуретического пептида (atrial natriuretic peptide, ANP), а спустя еще 4 года, в 1988 г., из мозга свиньи был получен другой натрийуретический пептид, названный мозговым (brain natriuretic peptide, BNP). Впоследствии стало известно, что его синтезируют в большей степени желудочки сердца [5–7].

Далее, в 1990 г., был выделен натрийуретический пептид С-типа (C-type natriuretic peptide, CNP), который отличается по своей структуре от ANP и BNP и в большей степени относится к центральной нервной системе и эндотелию сосудов (его также называют гиперполяризующий фактор эндогенного происхождения — endothelium-derived hyperpolarizing factor, EDHF) [8]. Предполагается, что CNP действует локально как паракринный / аутокринный регулятор, поскольку быстро выводится из кровотока и потому определяется в плазме в очень низких концентрациях [9]. Пептид С-типа не обладает таким мощным диуретическим эффектом, который наблюдают при действии ANP и BNP [9–11]; при этом установлено, что экзогенный CNP является сильным артериальным и венозным дилататором [8, 12, 13]. Структурный гомолог яда змеи — зеленой мамбы (*Dendroaspis angusticeps*) — натрийуретический пептид D-типа недавно обнаружен в плазме и предсердиях человека, но его происхождение и физиологическая роль до конца не известны [7, 14, 15].

G.A. Burnasheva, D.A. Napalkov

Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation

Natriuretic Peptides: Role in Current Cardiology

Natriuretic peptides were discovered in 50–70s of the XX century. BNP was more diagnostically and prognostically significant, as it is secreted directly into the ventricles of the heart. The studies demonstrated a high predictive value of increasing the level of BNP in acute decompensation of heart failure and in patients with chronic heart failure in a study of Val-HeFT. It was demonstrated that monitoring the level of NT-proBNP can be used for the selection of optimal therapy, affect the course and outcome of the disease, and reduce the cost of treatment. The next step in learning BNP was to undertake attempts of their use in the therapy of heart failure. Long-term therapy BNP (drug nesiritide) improved left ventricular remodelling in patients with stable heart failure. Currently the definition of the levels of BNP and NT-proBNP is used for the diagnosis and management of patients with heart failure.

Key words: heart failure, brain natriuretic peptide, diagnosis, treatment, nesiritide.

(For citation: Burnasheva G.A., Napalkov D.A. Natriuretic Peptides: Role in Current Cardiology. *Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2015; 70 (5): 568–572. Doi: 10.15690/vramn.v70.i5.1443)

**Диагностическая и прогностическая
значимость BNP
при сердечной недостаточности**

Первые случаи увеличения концентрации предсердного натрийуретического пептида у больных сердечной недостаточностью (СН) были зарегистрированы в 1986 г. [16]. В 1993 г. было отмечено повышение содержания как предсердного, так и мозгового натрийуретического пептида еще до появления клинической симптоматики при дисфункции левого желудочка (ЛЖ) [17, 18]. BNP выделяется непосредственно в желудочках сердца (основным пусковым механизмом этого процесса служит увеличение конечного диастолического давления), соответственно, более точно отражает нагрузку на миокард, в связи с чем он был признан более значимым для постановки диагноза и определения прогноза заболевания [19–21].

В 1997 г. М. Cowie и соавт. провели исследование (Hillingdon Heart Failure Study), участниками которого стали жители Лондона [22], страдающие хронической СН (ХСН). У всех пациентов определяли концентрации обоих натрийуретических пептидов и сравнивали их с клиническими показателями (данные объективного обследования, рентгенологического исследования органов грудной клетки, трансторакальной эхокардиографии). Диагноз подтвердился в 98% случаев при концентрации ANP более 18,1 нмоль/л (62,6 нг/мл) и BNP — более 22,2 нмоль/л (76,8 нг/мл). Специфичность теста составила 84%.

Т. Tsutamoto и соавт. [23] после проведения мультивариантного анализа установили, что уровень мозгового натрийуретического пептида выше 106 пг/мл у пациентов с ХСН связан с 80% вероятностью летального исхода в последующие 2 года, а при превышении порогового значения BNP плазмы в 21,2 пмоль/л (73 пг/мл) увеличение концентрации на каждые 2,9 пмоль/л (10 пг/мл) ассоциируется с возрастанием риска смерти от сердечно-сосудистых осложнений на 3%.

Следующий работой, в которой оценивали концентрацию BNP, было исследование MONICA, участниками которого стали 1678 пациентов [24]. Концентрация мозгового натрийуретического пептида была значимо выше у больных с систолической дисфункцией (76,2±23,2 нг/мл) и диастолической дисфункцией левого желудочка (20,3±4,7 нг/мл), гипертрофией ЛЖ (37,3±49,1 нг/мл) в сравнении с контрольной группой (9,6±0,5 нг/мл).

После проведения анализа множества клинических показателей больных ХСН авторами была установлена зависимость концентрации BNP от таких показателей, как возраст, фракция выброса, размер левого предсердия, степень дисфункции ЛЖ.

По данным V. Cheng и соавт., которые изучали динамику содержания BNP у 72 стационарных пациентов с декомпенсированной ХСН [25], в процессе лечения концентрация BNP нарастала (в среднем на 233 пг/мл) у больных с позднее зафиксированным летальным исходом ($n=9$); при этом у ответивших на терапию пациентов уровень BNP снизился в среднем на 215 пг/мл. Также было обнаружено соответствие между динамикой содержания BNP и изменением функционального класса СН. В результате исследования авторы выявили связь между концентрацией BNP и вероятностью повторной госпи-

тализации или сердечно-сосудистой смерти в ближайшие 30 сут. Так, 90% отрицательным прогностическим значением обладал уровень мозгового натрийуретического пептида перед выпиской менее 1220 пг/мл, 92% — менее 950 пг/мл, 94% — менее 800 пг/мл, 96% — менее 430 пг/мл.

G. Dao и соавт. обследовали 250 пациентов с острой декомпенсацией ХСН, у которых позитивная предсказательная ценность увеличения концентрации BNP более 23 пмоль/л (80 пг/мл) колебалась между 92 и 98% [26].

Прогностическая значимость BNP была также отмечена в результате исследования Val-HeFT, в котором участвовали 4300 пациентов [27]. Максимальное число летальных исходов (32,4%) было зафиксировано среди лиц, концентрация BNP плазмы которых превышала 238 пг/мл. После повторного определения содержания BNP через 4 мес было замечено, что повышение концентрации пептида более чем на 30% от исходного уровня ассоциируется с риском смерти от сердечно-сосудистой патологии в 19,1% случаев. В группе же больных, у которых уровень пептида снизился более чем на 45%, летальность составила 13,6%. Это первое исследование, в котором подтверждена значимость контроля содержания BNP в динамике для оптимального подбора схемы лечения и определения прогноза.

569

Острый коронарный синдром

Монофазное увеличение концентрации BNP установили в 2004 г. М. Galvani и соавт. [28] у пациентов с острым коронарным синдромом. Была обнаружена прямая связь между степенью дисфункции ЛЖ, величиной давления заклинивания легочной артерии и концентрацией мозгового натрийуретического пептида, которая одновременно отражала общую вероятность риска летального исхода от сердечно-сосудистых событий.

**Контроль и коррекция
кардиоваскулярной терапии в зависимости
от величины BNP**

В 1999 г. в исследовании D.R. Murdoch и соавт. 20 пациентов с ХСН в течение 8 нед получали ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента, доза которых титровалась в соответствии с клиническими данными в одной группе или значением BNP в другой [29]. Во второй группе отмечено более выраженное уменьшение частоты сердечных сокращений и повышение содержания ренина. Troughton и соавт. аналогично корректировали терапию 69 пациентам с ХСН в зависимости от результатов клинического осмотра или значений концентрации BNP и NT-proBNP в плазме крови [30]. Наблюдение проводили в течение 9,5 мес. В «клинической группе» было зафиксировано большее число сердечно-сосудистых событий, чем в группе BNP, а вероятность развития как минимум одного сердечно-сосудистого события через 6 мес наблюдения составила 53% для «клинической группы» и 27% для группы BNP.

A.M. Richards в своем исследовании изучал значение NT-proBNP для оценки эффективности лечения карведилолом пациентов с ишемической болезнью сердца. Около 300 пациентов разделили на 2 группы

в соответствии с содержанием у них NT-proBNP [31]. Превышение референсного значения NT-proBNP ассоциировалось с неблагоприятными исходами, при этом использование карведилола у этих пациентов оказывало отчетливый положительный эффект в сравнении с контрольной группой.

Таким образом, можно сделать вывод о том, что NT-proBNP оказался не менее важным инструментом для выработки рациональной тактики в лечении пациентов с ХСН, чем BNP.

Использование BNP в лечении сердечной недостаточности

Следующим шагом практического использования BNP стали попытки применения его в лечении пациентов с СН. В 1999 г. R.M. Mills и соавт. провели многоцентровое двойное слепое рандомизированное плацебоконтролируемое исследование, в котором оценивали центральную гемодинамику в течение 24 ч инфузии и 4 ч после завершения введения рекомбинантного человеческого BNP (несиритида) у больных с клинической картиной СН и признаками систолической дисфункции (фракция выброса менее 35%). Участие приняли 103 пациента с ХСН II–IV функционального класса по NYHA (New York Heart Association) [32]. Обнаружено значимое повышение фракции выброса, снижение давления заклинивания легочной артерии (ДЗЛА) в результате введения несиритида. Меньшее влияние препарат оказал на общее периферическое сосудистое сопротивление и давление в правом предсердии. Подобный положительный эффект позволил задуматься о применении несиритида в качестве препарата первой линии у пациентов с симптомами СН.

В 2000 г. W.S. Colucci и соавт. предприняли исследование по оценке эффективности внутривенного введения несиритида при лечении декомпенсированной застойной СН. В первое исследование были включены 127 пациентов с ДЗЛА >18 мм рт.ст. и фракцией выброса <2,7 л/мин на 1 м², которым внутривенно вводили несиритид в дозах 0,015 и 0,030 мг/кг в течение 6 ч. В сравнительное исследование были рандомизированы 305 человек для открытого лечения по стандартной схеме или несиритидом в течение 7 сут [33]. Через 6 ч после введения несиритида ДЗЛА снизилось на 6 (на дозе 0,015 мг/кг) и 9,6 (на дозе 0,030 мг/кг) мм рт.ст., а на фоне введения плацебо ДЗЛА увеличилось на 2 мм рт.ст. У пациентов было отмечено улучшение клинической симптоматики в 60 (на дозе 0,015 мг/кг) и 67% (на дозе 0,030 мг/кг) случаев, только у 14% — при введении плацебо; уменьшилась одышка в 57 и 53% (у 12% при введении плацебо) случаев; снизилась утомляемость в 32 и 38% (у 5% при введении плацебо) случаев. В сравнительном исследовании улучшение клинической симптоматики, уменьшение степени выраженности одышки и утомляемости было длительным при лечении несиритидом в течение 7 сут и аналогичным действием стандартной внутривенной терапии. Авторы пришли к выводу о том, что несиритид улучшает гемодинамику, общее состояние больных и эффективен для кратковременного лечения декомпенсированной застойной СН.

В 2002 г. В.У. James представил результаты сравнения действия несиритида и нитроглицерина в сочетании со

стандартной терапией при лечении пациентов с одышкой в покое вследствие декомпенсированной застойной СН. В исследование были включены 489 пациентов, из них 204 получали несиритид, 143 нитроглицерин и 142 плацебо в сочетании со стандартной терапией [34]. Через 3 ч было отмечено незначительное снижение ДЗЛА во всех группах (на 5,8 мм рт.ст. при использовании несиритида, на 3,8 — при терапии нитроглицерином и на 2 — в группе плацебо). Значительная разница в улучшении по показателю одышки и в общем клиническом статусе отсутствовала как для нитроглицерина, так и для несиритида. За 24 ч ДЗЛА в группе несиритида снизилось на 8,2, в группе нитроглицерина — на 6,3 мм рт.ст. Автором был сделан вывод о том, что при добавлении к стандартной схеме лечения декомпенсированной застойной СН несиритида улучшается гемодинамика и клиническое состояние пациентов по сравнению с введением нитроглицерина.

С.М. O'Connor и соавт. в 2011 г. оценивали динамику выраженности одышки через 6 и 24 ч (для оценки использовали шкалу Лайкерта), а также повторные госпитализации и летальные исходы в течение 30 сут при лечении несиритидом пациентов с острой декомпенсированной СН в сочетании со стандартной терапией [35]. Через 6 ч улучшение по показателю одышки в группах несиритида и плацебо отмечено на 44,5 и 42,1% случаев, соответственно; через 24 ч — на 68,2 и 66,1% соответственно; повторные госпитализации и летальные исходы — в 9,4% случаев при лечении несиритидом и в 10,1% среди пациентов, получавших плацебо. Полученные результаты свидетельствуют о том, что несиритид не влияет на смертность и не снижает числа повторных госпитализаций, незначительно влияет на одышку, в связи с чем авторы не рекомендуют его для рутинного использования при лечении острой СН.

Н.Н. Chen и соавт. в 2012 г. оценивали эффективность подкожного введения BNP при лечении сердечной недостаточности: 20 пациентов с фракцией выброса менее 35% и сердечной недостаточностью II–III функционального класса по NYHA в течение 8 нед получали BNP в дозе 10 мг/кг (в контрольную группу также входило 20 пациентов) [36]. В исследуемой группе было достигнуто большее снижение систолического и диастолического объема ЛЖ, объема левого предсердия, отношения E/E' (отношение максимальной скорости раннего наполнения трансмитрального кровотока к максимальной скорости движения фиброзного кольца митрального клапана в раннюю диастолу), улучшение клинического статуса по шкале MLHF (Minnesota Living with Heart Failure) по сравнению с плацебо. Таким образом, длительная терапия BNP улучшает ремоделирование ЛЖ у пациентов со стабильной сердечной недостаточностью при оптимальной схеме лечения.

На основании полученных данных можно сделать вывод об эффективном улучшении гемодинамики при применении рекомбинантного человеческого BNP у пациентов с застойной СН.

Место BNP в современных рекомендациях по ведению пациентов с хронической сердечной недостаточностью

Исследование концентраций BNP и NT-proBNP в соответствии с современными рекомендациями исполь-



Рис. Современный алгоритм диагностики сердечной недостаточности.

Примечание. ЭКГ — электрокардиография, ЭхоКГ — эхокардиография, СН — сердечная недостаточность.

зуется в диагностике и определении оптимальной тактики ведения больных ХСН (рис.) [37].

желудочка, перегрузка правого желудочка, почечная дисфункция, цирроз печени, инфекционные заболевания, ишемия миокарда.

Заключение

Установлено, что содержание BNP и NT-proBNP увеличивается при повышенной нагрузке на миокард. Не столь высокой является диагностическая ценность этих показателей в отделениях реанимации и интенсивной терапии, поскольку период полужизни BNP и NT-proBNP довольно длительный и не может отображать резкие изменения состояния левого желудочка, которые происходят в результате интенсификации лечения. Не следует забывать и о состояниях, которые также могут влиять на концентрацию BNP и NT-proBNP — тахикардия, пожилой возраст, гипоксемия, гипертрофия левого

Источник финансирования

Статья подготовлена в рамках реализации проекта «Школа мастерства по терапии» Первого МГМУ им. И.М. Сеченова.

Конфликт интересов

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

ЛИТЕРАТУРА

- Kirsh B. Electronmicroscopy of the atrium of the Guinea pig heart. *Exp. Med. Surg.* 1956; 14: 99–112.
- Marie J.P., Guillemont H., Hatt P.Y. Le degre de granulation des cardiocytes auriculaires. Etude planimetriques au cours de differents apports d'eau et de sodium chez le rat. *Pathol. Biol. (Paris)*. 1976; 24: 549–554.
- Henry J.P., Pearce J.W. The possible role of cardiac atrial stretch receptors in the induction of changes in urine flow. *J. Physiol.* 1956; 131: 572–585.
- De Bold A.J., Borenstein H.B., Veress A.T., Sonnenberg H. Rapid and important natriuretic response to intravenous injection of atrial myocardial extracts in rats. *Life Sci.* 1981; 28: 89–94.
- Dahlen J.R. B-Type Natriuretic Peptide: Biochemistry and Measurement. In: *Cardiac Markers*. Ch. 23. A.Wu. Totowa (ed.). New Jersey. 2003. P. 369–377.
- Levin E.R., Gardner D.G., Samson W.K. Natriuretic Peptides. *N. Engl. J. Med.* 1998; 339: 321–328.
- Weber M., Hamm C. Role of B-type natriuretic peptide (BNP) and NT-proBNP in clinical routine. *Heart*. 2006; 92: 843–849.
- Chauhan S.D., Nilsson H., Ahluwalia A., Hobbs A.J. Release of C-type natriuretic peptide accounts for the biological activity of endothelium derived hyperpolarizing factor. *Proc. Natl. Acad. Sci USA*. 2003; 100 (3): 1426–1431.
- Stingo A.J., Clavell A.L., Heublein D.M., Wei C.M., Pittelkow M.R., Burnett J.C. (Jr.). Presence of C-type natriuretic peptide in cultured human endothelial cells and plasma. *Am. J. Physiol.* 1992; 263 (4 Pt. 2): 1318–1321.
- Chen H.H., Burnett J.C. (Jr.). C-type natriuretic peptide: the endothelial component of the natriuretic peptide system. *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1998; 32 (Suppl. 3): 22–28.
- Kalra P.R., Anker S.D., Struthers A.D., Coats A.J. The role of C-type natriuretic peptide in cardiovascular medicine. *Eur. Heart J.* 2001; 22 (12): 997–1007.
- Wiley K.E., Davenport A.P. Physiological antagonism of endothelin-1 in human conductance and resistance coronary artery. *Brit. J. Pharmacol.* 2001; 133 (4): 568–774.
- Drewett J.G., Fendly B.M., Garbers D.L., Lowe D.G. Natriuretic peptide receptor B (guanylyl cyclase B) mediates C-type natriuretic peptide relaxation of precontracted rat aorta. *J. Biol. Chem.* 1995; 270 (9): 4668–4674.
- Clerico A., Recchia F.A., Passino C. Cardiac endocrine function is an essential component of the homeostatic regulation network: physiological and clinical implications. *Am. J. Physiol.* 2006; 290: 17–29.

15. De Lemos J.A., McGuire D.K., Drazner M.H. B-type natriuretic peptide in cardiovascular disease. *Lancet*. 2003; 362(9380): 316–322.
16. Burnett J., Kao P., Hu D., Hesser, D. W., Heublein, D., Granger, J.P. Atrial natriuretic peptide elevation in congestive heart failure in the human. *Science*. 1986; 231: 1145–1147.
17. Lerman A., Gibbons R., Rodeheffer R. Circulatory N terminal ANP as a marker for symptomless LV dysfunction. *Lancet*. 1993; 341: 1105–1109.
18. Motwani J., McAlpine H., Kennedy N., Struthers A. Plasma brain natriuretic peptide as an indicator for angiotensin converting enzyme inhibition after myocardial infarction. *Lancet*. 1993; 341: 1109–1113.
19. Hall C. The value of natriuretic peptides for the management of heart failure: current state of play. *Eur. J. Heart Fail*. 2001; 3: 395–397.
20. Галявич А.С., Мерясов С.Н., Галявич Р.А. Оценка тяжести и прогнозирование хронической сердечной недостаточности с помощью N-терминального промозгового натрийуретического пептида. *Казанский медицинский журнал*. 2009; 3: 319–323.
21. Осипова О.А. Оценка нейрогормональных систем у больных хронической сердечной недостаточностью, обусловленной постинфарктным кардиосклерозом. *Человек и его здоровье*. 2010; 1: 44–48.
22. Cowie M., Struthers A., Wood D., Coates A.J.S., Thompson S.G., Poole-Wilson P.A. Value of natriuretic peptides in assessment of patients with possible new heart failure in primary care. *Lancet*. 1997; 350: 1349–1353.
23. Tsutamoto T., Wada A., Maeda K., Fukai D. Attenuation of compensation of endogenous cardiac natriuretic peptide system in chronic heart failure. *Circulation*. 1997; 96: 509–516.
24. Clerico A., Emdin M. Diagnostic Accuracy and Prognostic Relevance of the Measurement of Cardiac Natriuretic Peptides: A Review. *Clin. Chem*. 2004; 50: 33–50.
25. Cheng V., Kazanegra R., Garcia A., Krishnaswamy P., Gardetto N., Clopton P., Maisel A. A rapid bedside test for B-type peptide predicts treatment outcomes in patients admitted for decompensated heart failure: a pilot study. *JACC*. 2001; 37: 386–391.
26. Dao Q., Krishnaswamy P., Kazanegra R., Harrison A., Amirnovin R., Lenert L., Clopton P., Alberto J., Hlavin P. Utility of B-type natriuretic peptide in the diagnosis of congestive heart failure in an urgent care setting. *JACC*. 2001; 37: 379–385.
27. Anand I., Fisher L., Chiang Y.T., Latini R., Masson S., Maggioni A.P., Glazer R.D., Tognoni G., Cohn J.N. Changes in brain natriuretic peptide and norepinephrine over time and mortality and morbidity in the valsartan heart failure trial (Val-Heft). *Circulation*. 2003; 107: 1276–1281.
28. Galvani M., Ferrini D., Ottani F. Natriuretic peptides for risk stratification of patients with acute coronary syndromes. *Eur. J. Heart Failure*. 2004; 6: 327–334.
29. Murdoch D.R., McDonagh T.A., Byrne J., Blue L., Farmer R., Morton J.J., Dargie H.J. Titration of vasodilator therapy in chronic heart failure to plasma brain natriuretic peptide concentration: randomized comparison of the hemodynamic and neuroendocrine effects of tailored vs. empirical therapy. *Am. Heart J*. 1999; 138: 1126–1132.
30. Troughton R.W., Frampton C.M., Yandle T.G. et al. Treatment of heart failure guided by plasma aminoterminal brain natriuretic peptide (N-BNP) concentrations. *Lancet* 2000; 355: 1126–1130.
31. Richards A.M., Doughty R., Nicholls M.G., MacMahon S., Sharpe N., Murphy J., Espiner E.A., Frampton C., Yandle T.G. for the Australia — New Zealand Heart Failure Group. Plasma N terminal pro-brain natriuretic peptide and adrenomedullin: prognostic utility and prediction of benefit from carvedilol in chronic ischemic left ventricular dysfunction. *J. Am. Coll. Cardiol*. 2001; 37: 1781–1787.
32. Mills R.M., Le Jemtel T.H., Horton D.P., Liang C., Lang R, Silver M.A., Lui C., Chatterjee K. Sustained hemodynamic effects of an infusion of nesiritide (human β -type natriuretic peptide) in heart failure. *J. Am. Coll. Cardiol*. 1999; 34: 155–162.
33. Colucci W.S., Elkayam U., Horton D.P., Elkayam U., Horton D.P., Abraham W.T., Bourge R.C., Johnson A.D., Wagoner L.E., Givertz M.M., Liang C.S., Neibaur M., Haught W.H., LeJemtel T.H. for the Nesiritide Study Group. Intravenous Nesiritide, a natriuretic peptide, in the treatment of decompensated congestive heart failure. *N. Engl. J. Med*. 2000; 343, 4: 246–253.
34. James B.Y. VMAC Committees. Intravenous Nesiritide vs Nitroglycerin for treatment of decompensated congestive heart failure. *JAMA*. 2002; 287: 1531–1540.
35. O'Connor C.M., Starling R.C., Hernandez A.F., Armstrong P.W., Dickstein K., Hasselblad V., Heizer G.M., Komajda M., Massie B.M. Effect of nesiritide in patients with acute decompensated heart failure. *N. Engl. J. Med*. 2011; 365: 32–43.
36. Chen H.H., Glockner J.F., Schirger J.A., Cataliotti A., Redfield M.M., Burnett J.C. (Jr.). Novel protein therapeutics for systolic heart failure: chronic subcutaneous B-type natriuretic peptide. *J. Am. Coll. Cardiol*. 2012; 60: 2305–2312.
37. McMurray J.J., Adamopoulos S., Anker S.D., Auricchio A., Böhm M., Dickstein K., Falk V., Filippatos G., Fonseca C., Gomez-Sanchez M.A., Jaarsma T., Køber L., Lip G.Y., Maggioni A.P., Parkhomenko A., Pieske B.M., Popescu B.A., Rønnevik P.K., Rutten F.H., Schwitzer J., Seferovic P., Stepinska J., Trindade P.T., Voors A.A., Zannad F., Zeiher A. ESC guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012. The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2012 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur. J. Heart Fail*. 2012; 14 (8): 803–869.

572

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Напалков Дмитрий Александрович, доктор медицинских наук, профессор кафедры факультетской терапии № 1 лечебного факультета Первого МГМУ им. И.М. Сеченова

Адрес: 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, с. 2, тел.: +7 (499) 248-53-30, e-mail: dminar@mail.ru

Бурнашева Гузаль Ахмедовна, студентка 6-го курса лечебного факультета Первого МГМУ им. И.М. Сеченова

Адрес: 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, с. 2, тел.: +7 (499) 248-53-30, e-mail: Ledebouria@mail.ru

DOI: 10.15690/vramn.v70.i5.1444

О.В. Калинина, А.Б. Жебрун

Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера,
Санкт-Петербург, Российская Федерация

Филодинамика популяций вируса гепатита С

С момента открытия вируса гепатита С в 1989 г. он является актуальной проблемой здравоохранения во всем мире. Это связано не только с широким распространением инфекции, частыми неблагоприятными исходами заболевания, отсутствием эффективных профилактических вакцин, но также с высокой генетической изменчивостью вируса. В обзоре представлены результаты филодинамических и филогеографических исследований различных популяций вируса гепатита С, позволившие охарактеризовать развитие эпидемий, установить время дивергенции гено- / субтипов вируса, определить географическое происхождение его современных эпидемических вариантов.

Ключевые слова: вирус гепатита С, филодинамика, эволюция, генотипы, рекомбинантные формы.

(Для цитирования: Калинина О.В., Жебрун А.Б. Филодинамика популяций вируса гепатита С. Вестник РАМН. 2015; 70 (5): 573–578.

Doi: 10.15690/vramn.v70.i5.1444)

Введение

Филодинамические и филогеографические исследования приобретают все большее значение в современной эпидемиологии, бактериологии и вирусологии, поскольку позволяют лучше понять и оценить биологические и социальные движущие силы эпидемического процесса, и строить прогнозы его развития. Такие исследования особенно важны для изучения динамично эволюционирующих патогенов, к которым относится вирус гепатита С (ВГС), вызывающий тяжелые поражения печени с частыми неблагоприятными отдаленными клиническими последствиями (развитие хронического гепатита, цирроза печени и гепатокарциномы).

ВГС является РНК-содержащим вирусом и по своей организации генома, представленного однонитевой РНК позитивной полярности, относится к семейству *Flaviviridae* рода *Hepacivirus* [1]. Современная классификация, обновленная в 2014 г., включает 7 генотипов (1–7), подразделенных на 88 субтипов (а, b, с и т.д.), а также 9 межгенотипных рекомбинантных форм [2]. Наибольшее распространение получили всего 6 субтипов ВГС (1a, 1b, 2a, 2b, 2c, 3a), которые признаны эпидемическими вариантами, обусловившими глобальное распространение инфекции на протяжении XX в. [2–4]. Частота встречаемости каждого из этих субтипов варьирует не только в разных географических зонах, но и в группах риска. Субтипы 1b, 2a и 2b преобладают у пациентов старшего возраста, имеющих в анамнезе переливание крови, хирургические, внутривенные вмешательства или контакты с препара-

тами крови, тогда как субтипы 1a и 3a ассоциированы с внутривенным введением наркотических средств.

Изучение вариантов ВГС, циркулирующих на различных континентах, с использованием нейтральной теории молекулярной эволюции, теории коалесценции, концепции молекулярных часов позволило описать развитие локальных и глобальных эпидемий, установить время дивергенции генотипов, определить предшественников современных эпидемических вариантов, а также выявить географические области, где локализируются пулы возможных будущих эндемичных вариантов вируса.

Филодинамика генотипов 1, 2 и 3 вируса гепатита С

По данным G. Magiorkinis и соавт., неэкспоненциальный рост мировых популяций субтипов 1a и 1b с 1906 по 1960 и с 1922 по 1940 гг., соответственно, свидетельствует о том, что развитие глобальной эпидемии, вызванной данными субтипами, началось с индустриально развитых стран, куда они были завезены из Западной Африки в колониальный период истории, и имело связь с массовыми парентеральными ятрогенными медицинскими манипуляциями в период Великой Отечественной войны и началом употребления различных психотропных средств внутривенно [5]. Быстрый экспоненциальный рост популяции субтипа 1b, продлившийся до 80-х гг., был обусловлен активным применением различных терапевтических манипуляций с использованием многократно

573

O.V. Kalinina, A.B. Zhebrun

Saint-Petersburg Pasteur Institute, Saint-Petersburg, Russian Federation

Phylogenetic of HCV Populations

Hepatitis C virus is an actual public health problem worldwide since its discovering in 1989. It is explained not only by the wide spreading and frequent adverse outcomes of disease, the lack of effective preventive vaccine, but also by the high genetic variability of the virus. The current review summarizes the results of phylogenetic and phylogeographic studies of different HCV populations that allowed to characterize epidemic processes, to analyze the divergence of HCV into genotypes and subtypes, and to determine the geographic origin of the current HCV epidemic variants.

Key words hepatitis C virus, phylogenetic, evolution, genotypes, recombinant forms.

(For citation: Kalinina O.V., Zhebrun A.B. Phylogenetic of HCV Population. Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2015; 70 (5): 573–578. Doi: 10.15690/vramn.v70.i5.1444)

вых инструментариев и игл как в индустриально развитых странах, так и в развивающихся, а популяции субтипа 1a, продлившийся также до 80-х гг., — масштабным внутривенным использованием психотропных средств в странах Северной Америки, Европы, в Англии и Австралии [4, 6, 7]. Последующее замедление темпов роста обеих популяций еще до открытия в 1989 г. самого возбудителя ни-А-ни-В гепатита произошло в связи с внедрением технологий скрининга образцов донорской крови на наличие австралийского антигена, вируса иммунодефицита человека, инактивации факторов свертывания крови, а также в связи с более тщательным соблюдением мер профилактики при различных парентеральных медицинских вмешательствах, использованием одноразовых шприцев [5, 6].

Схожая филодинамика популяций 1a и 1b прослеживается при моделировании развития локальных эпидемий. По данным O.G. Rubus и соавт., в Англии неэкспоненциальный рост популяции субтипа 1a продлился до 40-х гг. Переход к экспоненциальному росту совпал с трехкратным внедрением вариантов ВГС субтипа 1a на территорию Англии в когорту людей, начавших употреблять опиаты внутривенно [8]. В странах Средиземноморья (Греция, Турция, Кипр) развитие эпидемии субтипа 1b началось в первые десятилетия XX в. с Греции, в 1920–1930-е гг. она распространилась на соседние страны — Турцию и Кипр [9]. В Турции экспоненциальный рост популяции субтипа 1b происходил в 1940–1999-х гг. за счет распространения изолятов, циркулировавших исключительно внутри страны, в основном при проведении различных парентеральных медицинских манипуляций, в результате чего турецкие изоляты субтипа 1b сформировали четкую монофилитическую группу, отличную от изолятов соседних стран Средиземноморья [9].

Анализ полноразмерных геномов 7 субтипов ВГС генотипа 1 (1a, 1b, 1c, 1e, 1g, 1h, 1i), идентифицированных на территории Камеруна, позволил предположить, что именно эта страна является регионом происхождения вариантов ВГС генотипа 1 [10].

В отличие от субтипов 1a и 1b движущей силой глобальной дессиминации генотипа 2 стали трансатлантическая работорговля, при которой было перемещено около 17 млн человек из стран Западной Африки в Северную и Южную Америку, и колониальная политика европейских стран, охватившая африканский континент и азиатские страны [11, 12]. В период 1700–1850 гг. установлен множественный вброс генотипа 2 с территории Ганы и Бенина в страны Карибского бассейна [11], что совпадает с фазой (1700–1900 гг.) экспоненциального роста популяции данного генотипа в странах Западной Африки, связанного с национальными традициями, характерными только для этой части африканского континента, в частности «братанием на крови» между воинами различных племен [13]. XVII веком датируется миграция генотипа 2 из Западной Африки в Центральную, в частности в Камерун, где экспоненциальный рост популяции генотипа 2 произошел только в первые десятилетия уже XX в. и был ассоциирован с началом широкой вакцинации населения в колониальный период [11, 13]. Время дивергенции вариантов генотипа 2 в Западной Африке (с 1380 по 1680 г.) и Камеруне (с 1470 по 1760 г.) подтверждает, что их эволюция в этих регионах шла независимо друг от друга на протяжении нескольких веков [13]. Начиная с середины XIX в., Нидерланды, располагающие портами на территории ряда африканских стран, в ходе активной торговли завезли из Западной Африки на свою территорию новый субтип ВГС, после чего вариант генотипа 2 был пере-

несен и в их колонии — Индонезию и Суринам. [11]. Но еще раньше — в начале XIX в. — произошло внедрение вариантов генотипа 2 во Францию, вероятнее всего, также в результате работоргового пути, охватывавшего Африку, Северную Америку и далее Европу. При этом во Франции экспоненциальный рост популяций субтипов 2b, 2c, 2i датируется лишь 1900–1960-ми гг. (в результате распространения путем переливания крови или ее препаратов), а популяций субтипа 2a — позже, только в 1960–1980-х гг. (за счет распространения в среде лиц, употреблявших психотропные средства внутривенно) [14, 15].

Популяция субтипа 3a так же, как и популяции субтипов 1a и 1b, в большинстве стран Европы претерпела эпидемический рост в первые десятилетия XX в., а экспоненциальный рост приобрела в 40-е гг., что было связано с началом массового внутривенного использования психотропных средств во многих странах [8]. Предположительно, субтип 3a проник на территорию Европы в период Первой мировой войны, который совпал с активным перемещением людских масс между Азией и странами других континентов [8]. Изучение индийских изолятов субтипа 3a указывает на то, что вброс данного субтипа на европейскую территорию произошел из Англии, куда он был завезен из Индии в колониальный период [16]. В некоторых странах Юго-Восточной Азии, в частности в Таиланде, проникновение субтипа 3a связывают с событиями Вьетнамской войны (1955–1975 гг.), последующий экспоненциальный рост, как и в других странах, — с внутривенным введением психотропных средств, которые на юго-восточную часть азиатского континента были привнесены американскими солдатами [17]. Эволюционный анализ, основанный на полноразмерных геномах субтипов 3a, 3b, 3d, 3e, 3g, 3h, 3i, 3k, позволил предположить африканское происхождение генотипа 3, несмотря на то, что в настоящее время генотип 3 является эндемичным вариантом только на территории Азии, где выявлено огромное разнообразие его вариантов. Предполагают, что первоначальное его проникновение в Азию с территории Африки произошло еще до путешествий Васко де Гама, во времена арабской работорговли, при которой перемещение различных рас людей происходило из Юго-Восточной Африки на Ближний Восток и в Южную Азию [18].

Филодинамика генотипов 4, 5 и 6 вируса гепатита С

Ни один из субтипов генотипов 4, 5, 6 не достиг эпидемического уровня. Генотипы 4 и 6 являются эндемичными в Африке и Юго-Восточной Азии, соответственно, где установлено огромное их разнообразие, как и в случае генотипов 1, 2 и 3 [2, 19, 20]. В силу такой сложной системы циркулирующих вариантов ВГС именно территории Африки и Азии рассматривают сейчас как потенциальный пул будущих эпидемических вариантов ВГС, которые в прошлом в силу социальных, исторических и экономических причин не распространялись за пределы отдельных африканских и/или азиатских регионов [1, 2]. В свою очередь, генотип 5 представлен только одним субтипом — 5a, который имеет локальное распространение в странах Южной Африки, а также в Бельгии и Франции [21].

Несмотря на длительную циркуляцию (более 500 лет) генотипа 4 в странах Центральной и Южной Африки, его экспоненциальный рост на этих территориях произошел

лишь в XX в. и был обусловлен массовыми ятрогенными медицинскими манипуляциями, проводимыми индустриальными странами в рамках борьбы с различными эндемичными тропическими заболеваниями [22–24]. В Центрально-Африканской Республике, Камеруне, Габоне, Демократической Республике Конго экспоненциальный рост популяций субтипов 4e, 4f, 4c, 4k, 4h, 4r пришелся на 1930–1960-е гг. — период массового использования внутривенных инъекций для лечения трипаносомозов. При этом рост популяций происходил независимо друг от друга [22, 24, 25]. Поиск ближайшего общего предшественника субтипов 4e, 4f, 4c, 4r показал, что на территорию Камеруна и Демократической Республики Конго проникновение субтипов 4f и 4c произошло одновременно, в Габон субтипы 4k и 4e попали из Центрально-Африканской Республики, что соответствует времени дивергенции вариантов генотипа 4 в Камеруне в 1500 г. (95% ДИ 1350–1700), в Центрально-Африканской Республике в 1539 г. (95% ДИ 1317–1697) и Габоне в 1702 г. (95% ДИ 1418–1884) [22–24]. В Египте популяция субтипа 4a претерпела экспоненциальный рост в 1940–1980 гг., в период активного использования внутривенных инъекций препаратов сурьмы для лечения шистозоматозов [26]. По этой же причине еще в 1920-е гг. данный субтип получил распространение в Японии [27].

Молекулярно-эволюционный анализ популяции субтипа 5a в Бельгии, Франции и странах Южной Африки свидетельствует о том, что во Францию этот субтип был занесен в 1940-х гг., тогда как в бельгийской провинции Западная Фландрия его распространение началось более 150 лет назад — в середине XIX в., в период колониальной истории [21, 28]. Время дивергенции изолятов субтипа 5a в Бельгии (1792–1929 гг.) и на территории Южной Африки (1821–1934 гг.) указывает на то, что вброс субтипа 5a в эти регионы произошел одновременно, вероятнее всего, с территории Конго, которая в то время была бельгийской колонией, после чего эволюция локальных популяций шла независимо друг от друга и достигла сравнимой численности на обеих территориях в XX в. [21].

Изучение эпидемии, обусловленной генотипом 6, в странах Западной Азии (так же, как и в случае генотипа 3) выявило 2 фазы ее развития: до и после 1900 г. [29]. До начала XX в. имела место фаза стабильной циркуляции эндемичных вариантов ВГС, которая характеризовалась низкой степенью распространения инфекции. В XX в. произошло резкое увеличение численности некоторых популяционных линий генотипа 6, имевшее территориальные особенности. На фоне значительного разнообразия вариантов генотипа 6, выявляемых в азиатских странах, в Таиланде стал доминировать субтип 6f, в Индонезии — 6g, во Вьетнаме — 6d, в Королевстве Камбоджа — 6q. С помощью молекулярно-эволюционного анализа время появления общего предшественника современных субтипов генотипа 6 датировано периодом 1100–1350 (95% ДИ 600–2500) однако пути распространения популяционных линий генотипа 6 установить не удалось [29].

Филогеография и филодинамика рекомбинантных вариантов вируса гепатита С

В последнее десятилетие установлено, что значительная гетерогенность популяции ВГС связана не только с высокой скоростью мутаций, но также, хотя и в меньшей степени, с рекомбинациями, происходящими между «родительскими» геномами генетически дивергентных

вариантов вируса, что может приводить к появлению вариантов с новыми фенотипическими свойствами.

Широкое распространение получил только рекомбинант RF_2k/1b, впервые обнаруженный в 2002 г. сотрудниками Санкт-Петербургского НИИЭМ им. Пастера совместно с коллегами из Шведского института по Контролю за инфекционными заболеваниями г. Стокгольма [30]. К настоящему времени изоляты данного рекомбинанта обнаружены в 13 странах мира — России, Белоруссии, Эстонии, Узбекистане, Азербайджане, Швеции, Ирландии, Голландии, Франции, Кипре, Канаде, США, Испании [31–33]. Коалесцентный анализ позволил ограничить время рекомбинационного события 1923 и 1956 гг. [34]. Учитывая эпидемиологические данные, исторические события этого периода, а также результаты моделирования развития глобальной эпидемии субтипа 1b, становится очевидным, что рекомбинация произошла на территории стран бывшего Советского Союза, вероятнее всего, между 1945 и 1956 гг., в период активной фазы экспоненциального роста популяции субтипа 1b и одновременно ограниченного перемещения людей в пределах республик Советского Союза. Дальнейшее распространение было обусловлено как ятрогенными медицинскими манипуляциями, так и последующим многократным внедрением данного варианта ВГС в когорту лиц, употреблявших психотропные стимуляторы внутривенно [35]. Несмотря на относительно молодой возраст рекомбинанта RF_2k/1b, филогенетический анализ указывает на произошедшую некоторое время назад «территориальную» дивергенцию изолятов RF_2k/1b, что подтверждается обнаружением в Канаде в 2013 и в США в 2014 г. наиболее дивергентных изолятов RF_2k/1b по сравнению с выявленными на европейском континенте и в Азии [35–37].

Другие 8 из 9 межгенотипных рекомбинантных форм, включенных в классификацию, представлены единственным изолятом, но обнаружены в разных регионах мира (табл.) [2]. Особый интерес представляют рекомбинантные формы, образованные эпидемическим субтипом 2b до точки рекомбинации, которая располагается всегда в пределах NS2-NS3 области генома, и эпидемическими субтипами 1b или 1a после нее. Впервые рекомбинант 2b/1b был выявлен в 2006 г. на Филиппинах, затем в 2011 и 2012 гг. в Японии [38–40]. При этом, согласно точке рекомбинации, все эти межгенотипные рекомбинанты были сформированы в результате различных рекомбинационных событий, как и еще 4 подобных рекомбинанта, идентифицированных в 2014 г. в США. Аналогична ситуация с рекомбинантными вариантами 2b/1a, которые обнаружены пока только на территории США, но все они произошли в результате разных рекомбинационных событий [37].

Выявление сразу нескольких новых межгенотипных рекомбинантных вариантов 2b/1b и 2b/1a на разных континентах, образованных в результате независимых рекомбинационных событий, свидетельствует о том, что механизм изменчивости играет более значимую роль в эволюции ВГС, чем предполагали ранее, и что в ближайшее время следует ожидать появления новых вариантов, которые будут обладать другими фенотипическими признаками.

Помимо межгенотипных, имеются сообщения об обнаружении внутригенотипных рекомбинантных вариантов, однако до сих пор ни одного такого полноразмерного генома охарактеризовать не удалось.

Использование филодинамических и филогеографических методов указывает на то, что возникновение рекомбинантных форм является современным активным динамическим процессом, который начался всего лишь

Таблица. Межгенотипные природные рекомбинанты вируса гепатита С

Номенклатурное название	Страна идентификации, год	Родительский генотип с 5'UTR-области до сайта рекомбинации	Область сайта рекомбинации*	Родительский генотип от сайта рекомбинации к 3'UTR-области
RF2k/1b	Россия, 2002	2k	NS2 (3175/3176 н.о.)	1b
RF2i/6p	Вьетнам, 2006	2i	NS2/NS3 соединение (3405-3464 н.о.)	6p
RF2b/1b_1	Филиппины, 2006	2b	NS2/NS3 соединение (3399/3400 н.о.)	1b
RF2/5	Франция, 2007	2	NS2/NS3 соединение	5
RF2b/6w	Тайвань, 2010	2b	NS2/NS3 соединение (3429 н.о.)	6w
RF2b/1a	США, 2011	2b	NS/NS3 соединение (3405-3416 н.о.)	1a
RF2b/1b_2	Япония, 2011	2b	NS3 (3443/3444 н.о.)	1b
RF2b/1b_3	Япония, 2012	2b	NS2 (3300-3303 н.о.)	1b
RF2b/1b_4	Япония, 2012	2b	NS2 (3300-3303 н.о.)	1b

Примечание. * — область сайта указана в авторской интерпретации.

576

менее 100 лет назад одновременно на различных континентах, в то время как большинство субтипов ВГС произошло более 300 лет назад, а генотипов — от 500 до 2000 лет назад на африканском континенте [41–43].

Заключение

Изучение эволюции ВГС показало, что широкомащтабная «экспансия» вируса с африканского континента началась после путешествий Васко де Гама, в период трансатлантической работорговли. Вторая волна пришлась на первую половину XX в. и была обусловлена социально-историческими событиями, охватившими евроазиатский, американский и африканский континенты, и искусственными путями передачи вируса, в частности внедрением в клиническую практику новых методов и технологий — переливания крови, использования ятрогенных парантеральных медицинских манипуляций с целью профилактики различных инфекционных заболеваний.

В последнее время во многих регионах мира отмечается изменение паттернов генотипов современной структуры популяции ВГС, что в значительной степени обусловлено активной миграцией населения, а также «вбросом» новых вариантов ВГС в когорту лиц, внутренне употребляющих психотропные средства

На основании сегодняшних данных прогнозировать дальнейшее развитие эпидемического процесса можно лишь в общих чертах. Очевидно, что гетерогенность региональных популяций вируса будет нарастать и в дальнейшем, создавая повышенные риски микст-инфицирования

и генерации новых рекомбинантных форм патогена. Степень их «успешности» будет зависеть как от социальных факторов (например, от контингента, в котором они возникнут), так и от биологических свойств, унаследованных рекомбинантами (резистентность к α-интерферону, ускользание от иммунного ответа и др.). В настоящее время отсутствует ответ на вопрос фундаментальной важности: что явилось главной причиной неравномерного распределения генотипов и субтипов ВГС по земному шару — «эффект основателя» (первого вируса, занявшего ареал) или дарвиновский отбор. Внесение ясности в этот вопрос требует дальнейших широких филодинамических и филогеографических исследований, в т.ч. изучения с этих позиций российской популяции ВГС. Перспективным объектом для оценки потенциальных биологических причин доминирования тех или иных генетических линий ВГС представляются рекомбинантные формы вируса, распространение и динамика которых могут быть прослежены с достаточной точностью.

Источник финансирования

Статья подготовлена при поддержке гранта № 14-15-00546 Российского научного фонда.

Конфликт интересов

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

ЛИТЕРАТУРА

1. Simmonds P., Bukh J., Combet C., Deléage G., Enomoto N., Feinstone S., Halfon P., Inchauspé G., Kuiken C., Maertens G., Mizokami M., Murphy D.G., Okamoto H., Pawlowsky J.M., Penin F., Sablon E., Shin I.T., Stuyver L.J., Thiel H.J., Viazov S., Weiner A.J., Widell A. Consensus proposals for a unified system of nomenclature of hepatitis C virus genotypes. *Hepatology*. 2005; 42 (4): 962–973.
2. Smith D.B., Bukh J., Kuiken C., Muerhoff A.S., Rice C.M., Stapleton J.T., Simmonds P. Expanded classification of hepatitis C virus into 7 genotypes and 67 subtypes: updated criteria and genotype assignment WEB resource. *Hepatology*. 2014; 59 (1): 318–327.
3. Pybus O.G., Charleston M.A., Gupta S., Rambaut A., Holmes E.C., Harvey P.H. The epidemic behavior of the hepatitis C virus. *Science*. 2001; 292 (5525): 2323–2325.

4. Pybus O.G., Markov P.V., Wu A., Tatem A.J. Investigating the endemic transmission of the hepatitis C virus. *Int. J. Parasitol.* 2007; 37 (8): 839–849.
5. Magiorkinis G., Magiorkinis E., Paraskevis D., Ho S.Y., Shapiro B., Pybus O.G., Allain J.P., Hatzakis A. The Global Spread of Hepatitis C Virus 1a and 1b: A Phylodynamic and Phylogeographic Analysis. *PLoS Med.* 2009; 6 (12): 1000198.
6. Goedert J., Chen B., Preiss L., Aledort L.M., Rosenberg P.S. Reconstruction of the hepatitis C virus epidemic in the US haemophilia population, 1940–1990. *Am. J. Epidemiol.* 2007; 165 (12): 1443–1453.
7. Freeman A.J., Zekry A., Whybin L.R., Harvey C.E., van Beek I.A., de Kantzow S.L., Rawlinson W.D., Boughton C.R., Robertson P.W., Marinos G., Lloyd A.R. Hepatitis C prevalence among Australian injecting drug users in the 1970s and profiles of virus genotypes in the 1970s and 1990s. *Med. J. Aust.* 2000; 172 (12): 588–591.
8. Pybus O.G., Holmes E.C., Simmonds P. The hepatitis C virus epidemic among injecting drug users. *Infect. Genet. Evol.* 2005; 5 (2): 131–139.
9. Ciccozzi M., Ciccaglione A.R., Presti A.Lo, Yalcinkaya T., Taskan Z.P., Equestre M., Costantino A., Bruni R., Ebranati E., Salemi M., Gray R., Rezza G., Galli M., Zehender G. Reconstruction of the evolutionary dynamics of the hepatitis C virus 1b epidemic in Turkey. *Infect. Genet. Evol.* 2011; 11 (5): 863–868.
10. Li C., Njouom R., Pépin J., Nakano T., Bennett P., Pybus O.G., Lu L. Characterization of full-length hepatitis C virus sequences for subtypes 1e, 1h and 1i, and a novel variant revealed Cameroon as an area in origin for genotype 1. *J. Gen. Virol.* 2013; 94 (Pt. 8): 1780–1790.
11. Markov P.V., van de Laar T.J., Thomas X.V., Aronson S.J., Weegink C.J., van den Berk G.E., Prins M., Pybus O.G., Schinkel J. Colonial history and contemporary transmission shape the genetic diversity of hepatitis C virus genotype 2 in Amsterdam. *J. Virol.* 2012; 86 (14): 7677–7687.
12. Li C., Cao H., Lu L., Murphy D. Full-length sequences of 11 hepatitis C virus genotype 2 isolates representing five subtypes and six unclassified lineages with unique geographical distributions and genetic variation patterns. *J. Gen. Virol.* 2012; 93 (6): 1173–1184.
13. Pouillot R., Lachenal G., Pybus O.G., Rousset D., Njouom R. Variable epidemic histories of hepatitis C virus genotype 2 infection in West Africa and Cameroon. *Infect. Genet. Evol.* 2008; 8 (5): 676–681.
14. Thomas F., Nicot F., Sandres-Sauné K., Dubois M., Legrand-Abravanel F., Alric L., Peron J.M., Pasquier C., Izopet J. Genetic diversity of HCV genotype 2 strains in south western France. *J. Med. Virol.* 2007; 79 (1): 26–34.
15. Cantaloube J.F., Gallian P., Laperche S., Elghouzzi M.H., Piquet Y., Bouchardeau F., Jordier F., Biagini P., Attoui H., de Micco P. Molecular characterization of genotype 2 and 4 hepatitis C virus isolates in French blood donors. *J. Med. Virol.* 2008; 80 (10): 1732–1739.
16. Choudhary M.C., Natarajan V., Pandey P., Gupta E., Sharma S., Tripathi R., Kumar M.S., Kazim S.N., Sarin S.K. Identification of Indian sub-continent as hotspot for HCV genotype 3a origin by Bayesian evolutionary reconstruction. *Infect. Genet. Evol.* 2014; 28: 87–94.
17. Akkarathamrongsin S., Hacharoen P., Tangkijvanich P., Theamboonlers A., Tanaka Y., Mizokami M., Poovorawan Y. Molecular epidemiology and genetic history of hepatitis C virus subtype 3a infection in Thailand. *Intervirology.* 2013; 56 (5): 284–294.
18. Li C., Lu L., Murphy D.G., Negro F., Okamoto H. Origin of hepatitis C virus genotype 3 in Africa as estimated through an evolutionary analysis of the full length genomes of nine subtypes, including the newly sequenced 3d and 3e. *J. Gen. Virol.* 2014; 95 (Pt.8): 1677–1688.
19. Lu L., Murphy D., Li C., Xia X., Pham P.H., Jin Y., Hagedorn C.H., Abe K. Complete genomes of three subtype 6t isolates and analysis of many novel hepatitis C virus variants within genotype 6. *J. Gen. Virol.* 2008; 89 (2): 444–452.
20. Pybus O.G., Barnes E., Taggart R., Lemey P., Markov P.V., Rasachak B., Syhavong B., Phetsouvanah R., Sheridan I., Humphreys I.S., Lu L., Newton P.N., Klenerman P. Genetic history of hepatitis C virus in East Asia. *J. Virol.* 2009; 83 (2): 1071–1082.
21. Verbeeck J., Maes P., Lemey P., Pybus O.G., Wollants E., Song E., Nevens F., Fevery J., Delpont W., Van der Merwe S., Van Ranst M. Investigating the origin and spread of hepatitis C virus genotype 5a. *J. Virol.* 2006; 80 (9): 4220–4226.
22. Njouom R., Frost E., Deslandes S., Mamadou-Yaya F., Labbé A.C., Pouillot R., Mbélesso P., Mbadingai S., Rousset D., Pépin J. Predominance of hepatitis C virus genotype 4 infection and rapid transmission between 1935 and 1965 in the Central African Republic. *J. Gen. Virol.* 2009; 90 (Pt. 10): 2452–2456.
23. Njouom R., Caron M., Besson G., Ndong-Atome G.R., Makwa M., Pouillot R., Nkoghé D., Leroy E., Kazanji M. Phylogeography, risk factors and genetic history of hepatitis C virus in Gabon, central Africa. *PLoS One.* 2012; 7 (8): 42002.
24. Njouom R., Nerrienet E., Dubois M., Lachenal G., Rousset D., Vessière A., Ayouba A., Pasquier C., Pouillot R. The hepatitis C virus epidemic in Cameroon: genetic evidence for rapid transmission between 1920 and 1960. *Infect. Genet. Evol.* 2007; 7 (3): 361–367.
25. Cantaloube J., Gallian P., Bokilo A., Jordier F., Biagini P., Attoui H., Chiaroni J., de Micco P. Analysis of hepatitis C virus strains circulating in Republic of the Congo. *J. Med. Virol.* 2010; 82 (4): 562–567.
26. Tanaka Y., Agha S., Saady N., Kurbanov F., Orito E., Kato T., Abo-Zeid M., Khalaf M., Miyakawa Y., Mizokami M. Exponential spread of hepatitis C virus genotype 4a in Egypt. *J. Mol. Evol.* 2004; 58 (2): 191–195.
27. Mizokami M., Tanaka Y. Tracing the evolution of hepatitis C virus in the United States, Japan, and Egypt by using the molecular clock. *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 2005; 3 (10): 82–85.
28. Henquell C., Guglielmini J., Verbeeck J., Mahul A., Thibault V., Lebray P., Laperche S., Trimoulet P., Foucher J., Le Guillou-Guillemette H., Fouchard-Hubert I., Legrand-Abravanel F., Métivier S., Gaudy C., D'Alteroche L., Rosenberg A.R., Podevin P., Plantier J.C., Riachi G., Saoudin H., Coppere H., André E., Gournay J., Feray C., Vallet S., Noursbaum J.B., Baazia Y., Roulot D., Alain S., Loustaud-Ratti V., Schvoerer E., Habersetzer F., Pérez-Serra R.J., Gourari S., Mirand A., Odent-Malaure H., Garraud O., Izopet J., Bommelaer G., Peigue-Lafeuille H., van Ranst M., Abergel A., Bailly J.L. Evolutionary history of hepatitis C virus genotype 5a in France, a multicenter ANRS study. *Infect. Genet. Evol.* 2011; 11 (2): 496–503.
29. Pybus O.G., Barnes E., Taggart R., Lemey P., Markov P.V., Rasachak B., Syhavong B., Phetsouvanah R., Sheridan I., Humphreys I.S., Lu L., Newton P.N., Klenerman P. Genetic history of hepatitis C virus in East Asia. *J. Virol.* 2009; 83 (2): 1071–1082.
30. Kalinina O., Norder H., Mukomolov S., Magnius L.O. A natural intergenotypic recombinant of hepatitis C virus identified in St. Petersburg. *J. Virol.* 2002; 76 (8): 4034–4043.
31. Tallo T., Norder H., Tefanova V., Krispin T., Schmidt J., Ilmoja M., Orgulas K., Pruunsild K., Priimägi L., Magnius L.O. Genetic characterization of hepatitis C virus strains in Estonia: fluctuations in the predominating subtype with time. *J. Med. Virol.* 2007; 79 (4): 374–382.
32. Самохвалов Е.И., Николаева Л.И., Альховский С.В., Хлопова И.Н., Макашова В.В., Петрова Е.В., Сапронов Г.В., Беляева Н.М., Львов Д.К. Частота встречаемости отдельных субтипов вируса гепатита С в Московском регионе. *Вопросы вирусологии.* 2013; 58 (1): 36–40.
33. Чуб Е.В., Кочнева Г.В., Гранитов В.М., Нетёсов С.В. Рекомбинанты вируса гепатита С типа 2k/1b у населения Алтайского края. *Инфекционные болезни.* 2007; 5 (4): 5–11.

34. Raghwani J., Thomas X.V., Koekkoek S.M., Schinkel J., Molenkamp R., van de Laar T.J., Takebe Y., Tanaka Y., Mizokami M., Rambaut A., Pybus O.G. Origin and evolution of the unique hepatitis C virus circulating recombinant form 2k/1b. *J. Virol.* 2012; 86 (4): 2212–2220.
35. Калинина О.В. Организация генома и география природного межгенотипного рекомбинанта вируса гепатита С RF1_2k/1b. *Инфекция и иммунитет.* 2012; 2 (4): 677–686.
36. Newman R.M., Kuntzen T., Weiner B., Beral A., Charlebois P., Kuiken C., Murphy D.G., Simmonds P., Bennett P., Lennon N.J., Birren B.W., Zody M.C., Allen T.M., Henn M.R. Whole Genome Pyrosequencing of Rare Hepatitis C Virus Genotypes Enhances Subtype Classification and Identification of Naturally Occurring Drug Resistance Variants. *J. Infect. Dis.* 2013; 208 (1): 17–31.
37. Hedskog C., Doehle B., Chodavarapu K., Gontcharova V., Crespo Garcia J., De Knecht R., Drenth J.P., McHutchison J.G., Brainard D., Stamm L.M., Miller M.D., Svarovskaia E., Mo H. Characterization of hepatitis C virus intergenotypic recombinant strains and associated virological response to sofosbuvir/ribavirin. *Hepatology.* 2015; 61 (2): 471–480.
38. Kageyama S., Agdamag D.M., Alesna E.T., Leño P.S., Heredia A.M., Abellanos-Tac-An I.P., Jereza L.D., Tanimoto T., Yamamura J., Ichimura H. A natural inter genotypic (2b/1b) recombinant of hepatitis C virus in the Philippines. *J. Med. Virol.* 2006; 78 (11): 1423–1428.
39. Yokoyama K., Takahashi M., Nishizawa T., Nagashima S., Jirintai S., Yotsumoto S., Okamoto H., Momoi M.Y. Identification and characterization of a natural inter-genotypic (2b/1b) recombinant hepatitis C virus in Japan. *Arch. Virol. J.* 2011; 156: 1591–1601.
40. Hoshino H., Hino K., Miyakawa H., Takahashi K., Akbar S.M., Mishiro S. Inter genotypic recombinant hepatitis C virus strains in Japan noted by discrepancies between immunoassay and sequencing. *J. Med. Virol.* 2012; 1024: 1018–1024.
41. Smith D.B., Pathirana S., Davidson F., Lawlor E., Power J., Yap P.L., Simmonds P. The origin of hepatitis C virus genotypes. *J. Gen. Virol.* 1997; 78 (2): 321–328.
42. Simmonds P. Genetic diversity and evolution of hepatitis C virus 15 years on. *J. Gen. Virol.* 2004; 85 (11): 3173–3188.
43. Lu L., Li C., Xu Y., Murphy D.G. Full-length genomes of 16 hepatitis C virus genotype 1 isolates representing subtypes 1c, 1d, 1e, 1g, 1h, 1i, 1j and 1k, and two new subtypes 1m and 1n, and four unclassified variants reveal ancestral relationships among subtypes. *J. Gen. Virol.* 2014, 95 (7): 1479–1487.

578

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Калинина Ольга Викторовна, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера

Адрес: 197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, д. 14, тел.: +7 (812) 233-21-49, e-mail: olgakalinina@mail.ru

Жебрун Анатолий Борисович, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, директор НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера

Адрес: 197101, Санкт-Петербург, ул. Мира, д. 14

DOI: 10.15690/vramn.v70.i5.1445

Л.И. Колесникова, С.И. Колесников, Н.А. Курашова, Т.А. Байрова

Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека, Иркутск, Российская Федерация

Причины и факторы риска мужской инфертильности

Сохранение репродуктивного здоровья населения — важный фактор демографической политики государства. По данным ряда авторов, от 14 до 30% супружеских пар репродуктивного возраста страдают бесплодием, при этом мужской фактор в таких браках выявляется более чем в 1/2 случаев. В последние годы отмечено значительное ухудшение состояния основных показателей репродуктивной функции мужчин. Увеличилось число андрологических заболеваний, морфологических нарушений мужской репродуктивной системы, практически вдвое снизилась продукция сперматозоидов у мужчин репродуктивного возраста. Причина, вероятно, скрывается за целым комплексом стрессогенных факторов, таких как медицинская неосведомленность, бесконтрольное и неадекватное применение лекарственных средств, метаболические нарушения, недостаток витаминов и микроэлементов, влияние промышленных поллютантов, а также рост числа аддиктивных нарушений (алкоголизм, курение и наркомания). Разные по своей этиологии и степени тяжести формы бесплодия, от незначительных изменений сперматогенеза до полной дисфункции гонад, также могут возникнуть из-за генетических нарушений. Отсутствие анализа взаимосвязи клинической и генетико-биохимической компоненты у мужчин с бесплодием не позволяет подойти к пониманию патогенетики бесплодия и оценке риска развития мужской инфертильности. Высокий уровень развития современной медицины не всегда гарантирует истинное установление причин мужского бесплодия. В статье проанализированы результаты обзора специализированной литературы по вопросам диагностики и этиопатогенеза инфертильности мужчин. Частота и клинические признаки патологии мужской репродуктивной системы зависят от комбинаторности воздействия средовых влияний, проявляющихся чаще всего во взаимоусиливающемся эффекте. Сочетание нескольких, даже слабых, но однонаправленно действующих факторов делает риск развития мужской репродуктивной патологии очень высоким. Критичность ситуации побуждает специалистов проводить дополнительные комплексные исследования репродуктивного потенциала мужского населения.

Ключевые слова: мужчины, репродуктивное здоровье, репродуктивные нарушения.

(Для цитирования: Колесникова Л.И., Колесников С.И., Курашова Н.А., Байрова Т.А. Причины и факторы риска мужской инфертильности. *Вестник РАМН.* 2015; 70 (5): 579–584. Doi: 10.15690/vramn.v70.i5.1445)

579

Введение

В настоящее время проблемы здоровья населения страны, рождаемости и перспективы демографии — ключевые не только в России, но и за рубежом. Неблагоприятные демографические показатели с устойчивым отрицательным коэффициентом естественного прироста населения в последние десятилетия заставляют специалистов различного профиля (генетиков, морфологов, иммунологов, эндокринологов, гинекологов, урологов) обратиться к анализу фак-

торов, влияющих на рождаемость, среди которых важное место занимает бесплодие [1–3]. Согласно статистическим данным, частота бесплодных браков во многих странах мира колеблется от 8 до 29%. В Европе бесплодием страдает около 10% супружеских пар, в США — 15%, в Канаде — 17%, доля бесплодных браков в России варьирует от 8,2 до 19,6%. Приведенные показатели превышают критический уровень (15%) и представляют государственную проблему, имея много составляющих (социально-демографическую, медицинскую, экономическую и др.) [1–3]. До недавнего

L.I. Kolesnikova, S.I. Kolesnikov, N.A. Kurashova, T.A. Bairova

Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, Irkutsk, Russian Federation

Causes and Factors of Male Infertility

The preservation of reproductive health of the population is an important factor of demographic policy of the state. According to some authors from 14 to 30% of couples of reproductive age suffer from infertility, male factor in such marriages is detected in more than half of the cases. As you know, in recent years there has been a significant deterioration in the main indicators of reproductive function of men. Increased the number of andrological diseases, morphological disorders of the male reproductive system, almost halved the production of sperm in men of reproductive age. The reason probably lies behind a whole range of stress factors, such as medical ignorance, uncontrolled and inappropriate use of medication, metabolic disturbances, lack of vitamins and minerals, the impact of industrial pollutants, as well as the growth of addictive disorders (alcoholism, smoking and drug addiction). The forms of infertility differ according to its etiology and severity from minor changes to complete spermatogenesis dysfunction of the gonads, and can also occur due to genetic disorders. The lack of analysis of the relationship between clinical and genetic-biochemical components in men with infertility makes it impossible to understand the pathogenesis of infertility and to assess the risks of male infertility. High level of current medicine does not always guarantee an identification of the cause of male infertility. The article analyzes data from the review of specialized literature on the diagnosis and etiopathogenesis of male infertility. Frequency and clinical signs of pathology of the male reproductive system depend on the combinatorial effects of environmental influences, manifested most often in mutually reinforcing effect. A combination of several, seemed to be imperceptible factors makes the risk of development of male reproductive pathology very high. This situation compels specialists to conduct comprehensive studies on the men reproductive potential.

Key words: men, reproductive health, reproductive disorders.

(For citation: Kolesnikova L.I., Kolesnikov S.I., Kurashova N.A., Bairova T.A. Causes and Factors of Male Infertility. *Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2015; 70 (5): 579–584. Doi: 10.15690/vramn.v70.i5.1445)

времени причинами бесплодия в браке в основном считали женские репродуктивные нарушения (до 90%), однако более детальное изучение бездетных пар в последнее время показало, что в 40–60% случаев причиной отсутствия детей в семье является мужское бесплодие [3]. Возросло число андрологических расстройств, а также морфологических нарушений мужской репродуктивной системы, практически в 2 раза снизились количественные и качественные показатели сперматогенеза у мужчин репродуктивного возраста [4–6]. Истоки мужской инфертильности почти всегда лежат в детском возрасте, причем очень часто имеющуюся у мальчика патологию не диагностируют и, соответственно, не лечат, а к периоду вступления в репродуктивную фазу она оказывается столь запущенной, что практически не поддается коррекции [7, 8]. Исходя из вышеизложенного, следует отметить, что оценка состояния репродуктивного здоровья мужчин является важной научной проблемой и имеет существенное значение не только для мониторинга репродуктивного здоровья населения в целом, но также для создания комплекса мероприятий, направленных на диагностику и коррекцию нарушений мужской репродуктивной системы.

Согласно резолюции Российского научного конгресса «Мужское здоровье», более чем у 33% соматически здоровых мужчин молодого и среднего возраста регистрируют снижение сексуальной активности [3]. Увеличение числа стрессогенных социальных факторов, аддиктивных нарушений (алкоголизм, наркомания, табакокурение), а также резкое ухудшение экологической обстановки служат причиной сложившейся ситуации. В одном из первых исследований качества спермы E. Carlsen и соавт. в 1992 г. указано на снижение показателей спермограммы у мужчин, проживающих в различных регионах мира, что выражается в снижении концентрации сперматозоидов в эякуляте, уменьшении доли подвижных и морфологически нормальных сперматозоидов [9]. В данном исследовании были проанализированы данные с 1938 по 1990 гг. и установлено, что концентрация сперматозоидов за указанные годы снизилась со 113 до 66 млн/мл, объем эякулята уменьшился с 3,4 до 2,8 мл. В исследованиях 2008 г. было подтверждено снижение качества спермы в течение последних десятилетий [3, 9]. Доказаны географические и этнические различия в концентрации сперматозоидов у мужчин [9, 10]. Например, концентрация сперматозоидов в эякуляте у мужчин Финляндии выше, чем у жителей других регионов Европы [10]. Установлено, что концентрация сперматозоидов в эякуляте достоверно выше у мужчин Шотландии и Финляндии, чем у мужчин Японии [11]. Кроме этого, у японцев по сравнению с европейцами снижено общее число сперматозоидов, ниже процент подвижных и морфологически нормальных сперматозоидов [11]. Концентрация сперматозоидов в эякуляте ниже у жителей Колумбии, чем у американцев [10], также более низкая концентрация показана у датчан по сравнению со шведами или финнами [12]. Известны существенные (более чем в 2 раза) различия в качестве спермы между жителями различных стран или различных областей одной страны, однако причины региональных различий остаются неустановленными. Так, к примеру, при сравнении показателей спермограмм у мужчин г. Архангельска и жителей других российских городов (Кемерово и Новосибирска) установили, что объем эякулята у жителей Архангельска значимо ниже, чем у мужчин из Кемерово, но не отличался от такового у мужчин из Новосибирска [3, 9]. Концентрация и доля подвижных сперматозоидов в эякуляте жителей Архангельска значимо выше, чем у жителей Новосибирска [13]. Концентрация и

доля подвижных сперматозоидов у жителей Архангельска достоверно ниже, чем у молодых мужчин, проживающих в Эстонии, Норвегии, Финляндии и Латвии, но не отличается от таковых у жителей Германии [13]. Существуют данные о том, что жители Новосибирска не отличаются от жителей Европы и США по таким показателям, как объем и доля морфологически нормальных сперматозоидов [14]. Таким образом, географические и национальные особенности качества спермы могут определять региональную изменчивость репродуктивных параметров и вносить существенный вклад в общий тренд снижения мужской фертильности.

Генетические маркеры мужской инфертильности

Известно, что генетические факторы являются причиной различных форм мужской инфертильности в 30–50% случаев [15, 16]. Генетические нарушения могут обуславливать разные по причине возникновения и степени тяжести формы бесплодия: от незначительных изменений сперматогенеза до абсолютной дисфункции гонад. Процесс сперматогенеза находится под влиянием точно контролируемого каскада активации и деактивации определенных генов. Существует 3 основных генетических фактора мужского бесплодия: хромосомные aberrации (изменения генетического аппарата на уровне хромосом), мутации (на уровне одного или группы генов) и фрагментация ДНК. По данным некоторых авторов, у инфертильных мужчин хромосомные изменения выявляют в 5–15% случаев, из которых 3/4 приходится на аномалии половых хромосом X и Y, остальное — на аномалии неполовых хромосом [17]. Другие авторы оценивают частоту структурных хромосомных aberrаций в кариотипах различных выборок мужчин с бесплодием в пределах 1,6–4,2% [18]. Чаще всего хромосомные аномалии представлены синдромом Клайнфельтера (1,5 на 1000 новорожденных) и дисомией Y (1 на 1000 новорожденных). Хорошо известны хромосомные aberrации двух типов: сбалансированные и несбалансированные. Сбалансированные перестройки хромосом, такие как инверсии, транслокации, маркерные хромосомы, не приводят ни к потере, ни к добавлению генетического материала, а только лишь к его перемещению в пределах генома, поэтому чаще всего носители данных перестроек фенотипически нормальны и здоровы. Напротив, носительство несбалансированных перестроек (делетий и дупликаций) сопряжено с существенными отклонениями от нормы и отличается наличием замены дозовых соотношений генов. Помимо патологии кариотипа, одной из наиболее распространенных генетических причин мужской инфертильности являются микроделетии Y-хромосомы, присутствующие в локусе AZF (Azoospermia factor region). Изменения в данном локусе встречаются в 7–10% всех случаев секреторной азооспермии [15, 17, 18]. Наличие микроделетий Y-хромосомы в локусе AZF может приводить к изменению морфологических и фертильных свойств сперматозоидов от незначительного снижения сперматогенной активности (гипосперматогенез) до полной блокировки процесса сперматогенеза (синдром «только клетки Сертоли»). В настоящее время при помощи современных вспомогательных репродуктивных технологий мужчины-носители микроделетий Y-хромосомы могут иметь собственных детей, однако остается высоким риск наследования данной перестройки мальчиками, либо рождение детей с различными формами гермафродитизма.

AZF-локус — не единственная детерминанта сперматогенеза. Стерильность и блок сперматогенеза могут стать следствием изменений в гене *CFTR* (Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator) и привести к тяжелому наследственному заболеванию — муковисцидозу [19]. В результате мутаций в гене *CFTR* у мужчин диагностируется обструктивная азооспермия, в 25% случаев являющаяся следствием одно- или двустороннего врожденного отсутствия семявыносящих протоков. Еще одна важная причина мужского бесплодия — нарушение гормональной регуляции сперматогенеза. Здесь основная роль принадлежит мужским половым гормонам андрогенам, которые, взаимодействуя с андрогеновыми рецепторами (AR), обуславливают развитие мужских половых признаков и активируют сперматогенез. Хромосомные перестройки и точковые изменения в гене *AR* имеют следствием либо тестикулярную феминизацию, либо синдром Рейфенштейна и вносят значительный вклад (>40%) в мужское бесплодие. Функциональная активность андрогенового рецептора зависит от числа повторов CAG (цитозин—аденин—гуанин), коррелирующих с содержанием свободного тестостерона в сыворотке крови. Снижение чувствительности рецепторов обратно пропорционально числу CAG-повторов. Увеличение числа CAG-повторов повышает риск развития олиго- и азооспермии. Примером гена, который участвует в развитии мужской репродуктивной системы и половой дифференцировке, может послужить ген *SRY*. Изменения в нем сопровождаются обширным диапазоном фенотипических и клинических проявлений: от полной реверсии пола до недоразвития мужских гонад [20]. Например, у большинства пациентов с синдромом де ля Шапелля, характеризующегося изменением наружных половых органов и отсутствием сперматогенеза, кариотип имеет транслоцированный фрагмент Y-хромосома, содержащий ген *SRY*. Данные ряда авторов свидетельствуют о том, что сравнительно недавно выявленная и интенсивно изучаемая в последнее десятилетие такая причина мужского бесплодия, как фрагментация ДНК, включает в себя наличие двух- и одноцепочечных разрывов ДНК, связанных с упаковкой патологического хроматина или дефицита протамина в процессе сперматогенеза [16, 17]. Под влиянием фрагментированных ДНК особенно страдают ранние этапы эмбрионального развития (формирование бластоцисты). Также от наличия поврежденных цепочек ДНК зависят частота наступления беременности и положительный репродуктивный исход [19, 20].

Окислительный стресс и качество спермы

Отдельного внимания заслуживает проблема окислительного стресса сперматозоидов [21–23]. Известно, что результатом эмоционального или любого иного стресса в первую очередь является выброс в межклеточную среду эндогенных флогенов (инициаторов воспаления), в роли которых представлены белки теплового шока шапероны. Затем следует стимуляция фагоцитоза, активация НАДФН-оксидазы нейтрофилов и, в конечном итоге, образование активных форм кислорода (АФК) — озона, свободных радикалов, перекиси водорода [24, 25]. Благодаря наличию баланса между образованием АФК и действием антиоксидантов в сперматозоидах остается минимальное количество свободных радикалов, необходимых для регуляции капацитации, акросомальной реакции и слияния с ооцитом, регуляции биохимических окислительно-восстановительных реакций синтеза энергии. Нарушение равновесия между продукцией свободных радикалов и

ослаблением антиоксидантной защиты в различных отделах мужского репродуктивного тракта независимо от этиологического фактора является основным показателем окислительного стресса, который имеет положительную корреляцию со степенью мужской инфертильности. Патология мужских половых клеток, вызванная активными кислородными метаболитами, наблюдается в 30–80% случаев мужской инфертильности [25]. К снижению подвижности и оплодотворяющей способности сперматозоидов может приводить избыточная продукция АФК, вызывающая повреждение мембран. Гиперпродукция АФК также установлена при таких патологических состояниях, как воспаление половых придаточных желез, варикоцеле, урогенитальные инфекции, липоматоз мошонки, оказывающих как непосредственное, так и косвенное влияние на репродуктивную систему. То же можно утверждать в отношении психоэмоциональных стрессов, депрессий, сахарного диабета, метаболического синдрома, системного хронического воспаления, гормональных нарушений и других патологических состояний [23–25]. На ДНК хромосом АФК могут оказывать непосредственное повреждающее действие, а, кроме того, они способны инициировать апоптоз сперматозоидов, опосредованный эндонуклеазами, что в подавляющем большинстве случаев может являться причиной бесплодия. АФК — универсальные ограничители числа сперматозоидов и регуляторы качества эякулята с точки зрения эволюции [24]. Поскольку основным субстратом для свободнорадикального окисления служат фосфолипиды, интенсивность процессов липопероксидации будет напрямую зависеть от их состава и структурной организации, нарушение которых может приводить к снижению подвижности и качества сперматозоидов и, как следствие, к инфертильности [26]. Однако эссенциальные фосфолипиды имеют возможность оказывать влияние на половые клетки как непосредственно, так и опосредованно, повышая детородную функцию [26]. Оценка уровня генерации свободных радикалов кислорода в эякуляте представляется одним из важных методов, позволяющих дать характеристику фертильности спермы в условиях нормо- и патоспермии, а также при инфекциях половых органов [27]. Согласно современным представлениям, нарушение деятельности тиолзависимых ансамблей — центральная особенность окислительного стресса, неперемного спутника аномалий сперматогенеза [28]. Активность таких ферментов, как глутатионпероксидаза и глутатион-S-трансфераза, при бесплодии неустановленной природы, по данным некоторых авторов, значительно ниже, чем у фертильных мужчин, и не зависит от состояния спермограммы [30]. Глутатионпероксидазе принадлежит уникальное положение в половой системе млекопитающих, поскольку она имеет непосредственное отношение к обретению и поддержанию целостности сперматозоидов. В отличие от супероксиддисмутазы, которая является скорее про-окислителем, образуя из короткоживущего супероксида агрессивную и стабильную H_2O_2 , и от каталазы, активной только лишь при высоких концентрациях субстрата, глутатионпероксидаза разрушает, помимо перекиси водорода, и другие органические перекиси даже при незначительном увеличении их концентрации, поддерживая клеточный гомеостаз [29–31]. Глутатионпероксидаза формирует первый ответ при окислительном стрессе и выполняет функцию скэвенджера при утечке АФК и развитии цепных неуправляемых процессов. Глутатион-S-трансфераза — важнейший полифункциональный белок эякулята, поскольку она не только осуществляет защиту от ксенобиотиков и АФК, но и, локализуясь на

поверхности сперматозоидов, играет роль триггера, запускаящего их взаимодействие с лигандами *zona pellucida* на этапе инициации акросомальной реакции. Именно поэтому определение содержания глутатион-S-трансферазы может быть использовано не только для проверки антиоксидантной активности лекарственных средств, но и для установления оплодотворяющей способности сперматозоидов [32, 33]. Известно также, что при хронических воспалительных заболеваниях предстательной железы происходит накопление АФК с активацией свободнорадикального окисления биополимеров и, как следствие, повреждением сперматозоидов и снижением их функциональной активности [25, 34, 35]. В эякуляте больных хроническим абактериальным простатитом установлено уменьшение числа живых сперматозоидов, активноподвижных сперматозоидов, а также увеличение численности разнообразных дефектных форм сперматозоидов. При этом концентрация конечных продуктов (малоновый диальдегид) у таких пациентов выше, чем в контрольной группе, а активность антиоксидантных ферментов, напротив, снижена. Предполагают, что усиление процессов перекисного окисления биополимеров на фоне сниженной антиоксидантной защиты в эякуляте является, по крайней мере, одной из причин изменений в спермограмме [34].

582

Медико-социальные причины мужского бесплодия

Негативный вклад в патогенез мужского бесплодия вносит ожирение [36, 37]. Хорошо известно, что жировая ткань является не только депо для хранения и накопления энергетических субстратов, но она активна как эндокринный орган и способна продуцировать ряд биологически активных субстанций [38]. Согласно данным японских ученых, мужчины с высоким индексом массы тела имеют меньшую возможность к зачатию ребенка, нежели мужчины с нормальным индексом массы тела, несмотря на возраст, показатели липидного спектра и уровень гликированного гемоглобина крови. Степень ожирения имеет положительную корреляцию с частотой повреждения ДНК хромосом сперматозоидов при оценке целостности хроматина [35]. Одновременно с этим ожирение обратно пропорционально коррелирует с объемом эякулята, индексом спермы и ее плодовитостью [38, 39].

Гистологическое поражение придатков яичек, которое способно привести к нарушениям транспорта сперматозоидов, а также урогенитальную нейропатию на фоне оксидативного стресса и дефицита оксида азота, ведущую к повреждению ядерной и митохондриальной ДНК сперматозоидов и их повышенной иммобилизации, отмечают у мужчин с сахарным диабетом 2-го типа [40]. Также у мужчин с сахарным диабетом 2-го типа зарегистрировано уменьшение оплодотворяющей способности и объема эякулята [40].

Большое число исследователей указывают на то, что ухудшение показателей сперматогенеза и увеличение частоты патологических состояний мужской репродуктивной системы связаны с влиянием антропогенного загрязнения внешней среды [14, 20, 41]. Существуют данные о том, что снижение концентрации сперматозоидов у мужчин имеет место главным образом в индустриальных странах Европы и Америки и не характерно для азиатских и африканских стран [42]. Также на это указывают результаты исследований сперматогенной функции у мужчин в

различных регионах [9, 10, 14]. У мужчин, проживающих и работающих в промышленных районах, установлены более выраженные нарушения показателей спермограмм в отличие от жителей сельскохозяйственных областей, у которых ухудшения показателей спермограмм отсутствовали или были выражены слабо. На протяжении десятилетий в результате интенсивной антропогенной активности индустриально развитых стран в окружающую среду попадают тысячи химических соединений, к которым организмы не были приспособлены в процессе эволюции, вследствие чего механизмы адаптации к ним (в т.ч. биохимические системы детоксикации и выведения из организма) в полной мере не сформировались. В организм человека химические поллютанты проникают с экологически загрязненной пищей и водой. При проведении исследований пищевых продуктов, грудного молока, эякулята, сыворотки крови, фолликулярной жидкости было идентифицировано множество токсикантов различной природы [20, 42]. При этом у мужчин-россиян содержание химических соединений превышало таковое у жителей стран Запада до 10 раз [42]. Особенно активное патогенное действие установлено для диоксинов и диоксиноподобных соединений, пестицидов, гербицидов, инсектицидов. Нарушение сперматогенеза (олигоспермия), снижение репродуктивной функции и бесплодие были выявлены у мужчин, работающих на производстве хлордана — эстрогеноподобного инсектицида [42]. Трихлорфенилэтанол, относящийся к классу хлорированных углеводородов, вызывает значимое снижение подвижности сперматозоидов и подавляет акросомную реакцию [42, 43]. В исследованиях многих авторов показано, что у мужчин, работающих на производстве свинца, намного чаще наблюдается астено-, олиго- и тератозооспермия и, соответственно, бесплодие [43]. В ряде экспериментальных исследований отмечено, что такие металлы, как кадмий, свинец, марганец, ртуть, нарушают дифференцировку сперматоцитов и сперматид, приводя к олиго-, астено- и тератозооспермии [43]. Проводя работу по изучению репродуктивной функции у мужчин, контактировавших с фтором, В.И. Токарь и соавт. установили, что гипогонадизм — первичное звено в цепи нарушений, возникающих при воздействии данного микроэлемента. Также к непосредственно оказывающим влияние на органы мужской половой системы веществам отнесен и фосфор [44]. Н. Kolstad и соавт. изучали показатель концентрации сперматозоидов у мужчин, работающих в цехах, где негативным фактором был стирол. Результаты работы показали, что спустя 6 мес работы на данном производстве средняя концентрация сперматозоидов у обследованного контингента снизилась с 63,5 до 46 млн/мл эякулята [45].

Среди других воздействий с установленным (и клинически, и экспериментально) повреждающим влиянием на сперматогенез (как и на весь организм человека) следует выделить курение, алкоголь и наркотики. Они, безусловно, оказывают неблагоприятное воздействие на репродуктивную систему мужчины. Однако вряд ли можно утверждать, что за последние 50 лет именно эти факторы внесли глобальный вклад в изменение характера средовых воздействий на организм человека.

Заключение

Анализ данных отечественной и зарубежной литературы со всей очевидностью свидетельствует о том, что наблюдаемый в последние годы катастрофический рост ре-

продуктивных нарушений у мужчин является отражением общей коморбидной отягощенности мужской популяции. Несмотря на то, что в настоящее время разработаны методы всестороннего лабораторного обследования репродуктивной функции мужчин, они не всегда являются корректными при установлении истинных причин и факторов, влияющих на мужское бесплодие. Более детальное понимание механизмов повреждающего действия различных факторов, подавляющих сперматогенную функцию мужчин, сделает возможной разработку эффективных методов защиты при изолированном и сочетанном воздействии, а также определит приоритетность диагностических и профилактических мероприятий при бесплодном браке. Усовершенствование комплекса мероприятий

клинического и генетико-биохимического обследования мужчин с нарушениями функции сперматогенеза — важный этап в диагностике различных форм бесплодия у мужского населения. Охрана репродуктивного здоровья мужчин требует усиленного внимания и дальнейшей дифференциации подходов к вопросам здорового образа жизни.

Конфликт интересов

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

ЛИТЕРАТУРА

1. Данилова Т.И., Тихомирова В.Ю., Мельникова Е.А., Хлудев В.Н. Крипторхизм и современный подход к профилактике мужского бесплодия *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2006; 4: 59–60.
2. Sallmen M., Sandler D., Hoppin J.A., Blair A., Baird D.D. Reduced fertility among overweight and obese men. *Epidemiology*. 2006; 17 (5): 520–523.
3. Шантанова Л.Н., Осадчук Л.В., Дашиев Б.Г., Клещев М.А., Гуторова Н.В., Осадчук А.В., Башелханов И.С. Оценка репродуктивного здоровья у молодых мужчин Республики Бурятия. *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН*. 2012; 6 (88): 44–46.
4. Panayiotis M.Z., Khalied K., Juan R.C., Suresh C.S. Seminal Characteristics and Sexual Behavior in Men of Different Age Groups: Is There an Aging Effect? *Asian J. Androl*. 2006; 8 (3): 337–341.
5. Глыбочко П.В., Аляев Ю.Г., Винаров А.З., Демидко Ю.Л., Ахвледзани Н.Д., Байдувалиев А.М. Применение ингибитора фосфодиэстеразы 5 типа в реабилитации пациентов с хроническим простатитом. *Эффективная фармакотерапия*. 2013; 53: 30–35.
6. Глыбочко П.В., Аляев Ю.Г., Чалый М.Е., Барашков Г.К., Усачёва О.А. Бесплодие и патозооспермия после оперативного лечения варикоцеле. *Фарматека*. 2013; 3 (256): 35–37.
7. Лабыгина А.В., Загарских Е.Ю., Сутурина Л.В., Курашова Н.А. Репродуктивное здоровье подростков основных этносов Восточной Сибири, проживающих в сельской местности. *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН*. 2013; 4 (92): 36–40.
8. Баранов А.А., Намазова-Баранова Л.С., Ильин А.Г. Сохранение и укрепление здоровья подростков — залог стабильного развития общества и государства (состояние проблемы). *Вестник РАМН*. 2014; 5–6: 65–70.
9. Carlsen E., Giwercman A., Keiding N., Skakkebaek N.E. Evidence for decreasing quality of semen during past 50 years. *BMJ*. 1992; 305 (6854): 609–613.
10. Jorgensen N., Andersen A.G., Eustache F., Irvine D.S., Suominen J., Petersen J.H., Andersen A.N., Auger J., Sawood E.H.N., Horte A., Kold J.T., Jouannet P., Keiding N., Vierula M., Toppari J., Skakkebaek N.E. Regional differences in semen quality in Europe. *Hum. Reprod*. 2001; 16: 1012–1019.
11. Iwamoto T., Nozawa S., Yoshiike M., Hoshino T., Baba K., Matsushita T., Tanaka S.N., Naka M., Skakkebaek N.E., Jørgensen N. Semen quality of 324 fertile Japanese men. *Hum. Reprod*. 2006; 21: 760–765.
12. Swan S.N., Brasil C., Drobnis E.Z., Liu F, Kruse R.L., Hatch M., Redmon J.B., Wang C., Overstreet J.W. Geographic differences in semen quality of fertile U.S. males. *Environ. Health Perspect*. 2003; 111: 414–420.
13. Клещев М.А., Осадчук Л.В., Гуторова Н.В., Типисова У.В., Осадчук Л.В. Анализ сперматогенной функции у мужского населения г. Архангельска. *Андрология и генитальная хирургия*. 2011; 2: 56–60.
14. Осадчук Л.В., Клещев М.А., Темников Н.Д., Ерквич А.А., Осадчук А.В. Высокая частота субоптимального качества спермы у жителей Сибирского региона (на примере г. Новосибирска). *Андрология и генитальная хирургия*. 2010; 3: 52–55.
15. Гончарова Н.Н., Мартышкина Е.Ю., Казначеева Т.В., Арсланян К.Н., Адамян Л.В., Курило Л.Ф., Сорокина Т.М., Черных В.Б. Медико-генетические аспекты бесплодия. *Акушерство. Гинекология. Репродукция*. 2012; 2: 35–40.
16. Осадчук Л.В., Ерквич А.А., Татару Д.А., Маркова Е.В., Светлаков А.В. Уровень фрагментации ДНК в сперматозоидах человека при варикоцеле и простатите. *Урология*. 2014; 3: 37–43.
17. Маркова Е.В., Замай А.С. Фрагментация ДНК в сперматозоидах человека. *Проблемы репродукции*. 2006; 12 (4): 42–50.
18. Витязева И.И., Боголюбов С.В., Дедов И.И. Современные технологии в лечении азооспермии методом микродиссекции ТЕСЕ в программе ЭКО–ИКСИ. Часть 1. *Проблемы эндокринологии*. 2012; 58 (5): 66–74.
19. Chernyak Y.I., Itskovich V.B., Kolesnikov S.I. Effects of CYP1A2 gene polymorphisms on antipyrine CYP1A2 dependent metabolism. *Bull. Exp. Biol. Med*. 2011; 151 (4): 445–448.
20. Баранов В.С., Айламазян Э.К. Экологические и генетические причины нарушения репродуктивного здоровья и их профилактики. *Журнал акушерства и женских болезней*. 2007; LVI (1): 3–10.
21. Божедомов В.А., Громенко Д.С., Ушакова И.Я., Торопцева М.В., Галимов Ш.Н., Александрова Л.А., Теодорович О.В., Сухих Г.Т. Оксидативный стресс сперматозоидов в патогенезе мужского бесплодия. *Урология*. 2009; 2: 51–56.
22. Колесникова Л.И., Власов Б.Я., Неронова Н.А., Кириленко Е.А., Аталян А.В., Курашова Н.А., Батунова Е.В., Бардаева Ю.М., Тонкошкурова Т.Ю. Состояние репродуктивной функции, процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты у мужчин с хронической монотрихомонадной инфекцией. *Фундаментальные исследования*. 2011; 1: 76–81.
23. Божедомов В.А., Громенко Д.С., Ушакова И.Я. Причины оксидативного стресса. *Проблемы репродукции*. 2008; 3 (14): 63.
24. Tremellen K. Oxidative stress and of male infertility. *Hum. Reprod. Update*. 2008; 14 (3): 243–258.
25. Ильин В.П., Колесникова Л.И., Сутурина Л.В., Лабыгина А.В., Шолохов Л.Ф., Курашова Н.А. Особенности гормонально-метаболических нарушений у женщин с гипоталамическим синдромом в зависимости от индекса массы тела. *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН*. 2004; 2-1: 117–121.
26. Хышиктуев Б.С., Кошмелев А.А. Особенности изменений фосфолипидного состава семенной жидкости у мужчин с

- нарушением фертильности. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2010; 7: 27–30.
27. Aitken R.J., Whiting S., De Iulius G.N., McClymont S., Mitchell L.A., Baker M.A. Electrophilic aldehydes generated by sperm metabolism activate mitochondrial reactive oxygen species generation and apoptosis by targeting succinate dehydrogenase. *J. Biol. Chem.* 2012; 39(287): 33048–33060.
 28. Галимова Э.Ф. Характеристика метаболизма глутатиона при идиопатическом бесплодии у мужчин. *Проблемы репродукции*. 2013; 3: 51–53.
 29. Колесникова Л.И., Баирова Т.А., Первушина О.А. Этногенетические маркеры антиоксидантной системы. *Бюллетень ВСНЦ СО РАМН*. 2013; 4 (92): 166–171.
 30. Sharma R., Yang Y., Sharma A., Awasthi S., Awasthi Y.C. Antioxidant role of glutathione-S-transferases: protection against oxidant toxicity and regulation of stress-mediated apoptosis. *Antioxid. Redox. Signal.* 2006; 6: 289–300.
 31. Miao L., Clair D.K. Regulation of superoxide dismutase genes: Implications in disease. *Free Radic. Biol. Med.* 2009; 47: 344–350.
 32. Zini A., Carrels K., Phang D. Antioxidant activity in the semen of fertile and infertile men. *Urology*. 2000; 55: 922–926.
 33. Wu J.P., Xing-Tang, K.F., Xue W., Liu M., Sun J.H., Wang X.Y., Jin X.J. Genetic polymorphism of glutathione S-transferase T1 gene and susceptibility to idiopathic azoospermia or oligozoospermia in north western. *China Asian J. Androl.* 2008; 10: 266–270.
 34. Ельчанинова С.А., Поповцева А.В., Золовкина А.Г., Алиев Р.Т., Ноздрачев Н.А., Крайниченко С.В., Неймарк А.И. Особенности спермограммы и показателей метаболизма активных форм кислорода в эякуляте больных хроническим абактериальным простатитом. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2009; 7: 21–22.
 35. Глыбочко П.В., Аляев Ю.Г., Демидко Ю.Л., Мянник С.А. Применение растительных препаратов в лечении хронического простатита. *Эффективная фармакотерапия*. 2012; 43: 26–31.
 36. Kasturi S.S., Tannir J., Brannigan R.E. The metabolic syndrome and male infertility. *J. Androl.* 2008; 29: 251–259.
 37. Тюзиков И.А. Метаболический синдром и мужское бесплодие (обзор литературы). *Андрология и генитальная хирургия*. 2013; (2): 5–9.
 38. Шварц В. Жировая ткань как эндокринный орган. *Проблемы эндокринологии*. 2009; 55 (1): 38–50.
 39. Тер-Аванесов Г.В. Коррекция репродуктивной функции мужчин при эндокринных нарушениях. *Практ. рук-во. М.* 2002. 63 с.
 40. Agbaje I.M., Rogers D.A., McVicar C.M., McClure N., Atkinson A.B., Mallidis C., Lewis S.E. Insulin dependent diabetes mellitus: implications for male reproductive function. *Hum. Reprod.* 2007; 22: 1871–1877.
 41. Hossain F., Ali O., D'Souza U.J., Naing D.K. Effects of Pesticide Use on Semen Quality among Farmers in Rural Areas of Sabah, Malaysia. *J. Occur. Health.* 2010; 52 (6): 353–360.
 42. Никитин А.И. Исчезающий пол? *Морфология*. 2003; 124 (6): 80–89.
 43. Луцкий Д.Л., Выборнов С.В., Луцкая А.М., Гончарова Л.А., Махмудов Р.М. Влияние химических факторов на состояние мужской репродуктивной системы. *Проблемы репродукции*. 2009; 6: 48–64.
 44. Токарь В.И. О патогенезе нарушений в системе гипоталамус–гипофиз–гонады при хронической фтористой интоксикации. Сб. тезисов конференции «Эндокринная система организма и вредные факторы внешней среды». М. 1983. С. 194.
 45. Kolstad H., Bunde J.P.E., Spano M. Giwerzman A., Zschiesche W., Kaas D., Roeleveld N. Sperm chromatin structure and semen quality following occupational styrene exposure. *Scand. J. Work Environ. Health.* 1999; 1: 70–73.

584

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Колесникова Любовь Ильинична, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, научный руководитель НЦ ПЗСРЧ

Адрес: 664003, Иркутск, ул. Тимирязева, д. 16, тел.: +7 (3952) 20-76-36, e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru

Колесников Сергей Иванович, академик РАН, главный научный сотрудник НЦ ПЗСРЧ

Адрес: 664003, Иркутск, ул. Тимирязева, д. 16, тел.: +7 (3952) 20-76-36, e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru

Курашова Надежда Александровна, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории патофизиологии репродукции НЦ ПЗСРЧ

Адрес: 664003, Иркутск, ул. Тимирязева, д. 16, тел.: +7 (3952) 20-76-36, e-mail: nakurashova@yandex.ru

Баирова Татьяна Аняньевна, доктор медицинских наук, заведующая лабораторией персонализированной медицины НЦ ПЗСРЧ

Адрес: 664003, Иркутск, ул. Тимирязева, д. 16, тел.: +7 (3952) 20-76-36, e-mail: iphr@sbamsr.irk.ru

DOI: 10.15690/vramn.v70.i5.1446

А.В. Орлов, О.П. Ротарь, М.А. Бояринова, А.С. Алиева, Е.А. Дудорова, Е.П. Колесова,
Е.В. Могучая, Н.А. Паскарь, В.Н. Солнцев, Е.А. Баранова, А.О. Конради

Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова,
Санкт-Петербург, Российская Федерация

Гендерные особенности распространенности поведенческих факторов риска у жителей Санкт-Петербурга

В развитых странах отмечаются гендерные различия в ожидаемой продолжительности жизни, что может быть объяснено профилем поведенческих факторов риска. **Цель исследования:** изучить гендерные особенности профиля поведенческих факторов сердечно-сосудистого риска в популяции жителей Санкт-Петербурга. **Методы:** в рамках многоцентрового эпидемиологического наблюдательного исследования ЭССЕ-РФ была сформирована случайная выборка из жителей Санкт-Петербурга, стратифицированная по полу и возрасту. Участники заполнили стандартный опросник, была выполнена антропометрия: рост, вес, индекс массы тела (ИМТ), окружность талии (ОТ). Натощак определен липидный спектр, уровень гликемии. **Результаты:** обследованы 1600 человек, из них мужчин 573 (35,9%), женщин 1027 (64,1%). Ожирение у мужчин и женщин встречалось в 31–66% случаев (по критерию ИМТ — у 31,2% мужчин и 35,1% женщин; по критерию метаболического синдрома (АТРИИ) — у 30,3 и 44,1%; по критерию IDF — у 51,2 и 66,4%, соответственно; по обоим критериям ОТ значимо чаще встречалась у женщин, ($p < 0,001$). Линейный регрессионный анализ позволил установить ассоциацию возраста с ИМТ (1,6 кг/м² на 1 декаду), с ОТ у женщин (5,2 см/декада) и у мужчин (2,8 см/декада) и женщин (540; 61,2%). Ежедневное потребление сладостей значимо реже отмечено у мужчин (228; 39,8%) по сравнению с женщинами (539; 52,5%; $p < 0,001$). Не курили 810 (50,6%), 395 (24,7%) курили в прошлом и 395 (24,7%) курили в момент опроса; наблюдалось большое число курящих женщин — 194 (19,1%). **Заключение:** среди жителей Санкт-Петербурга регистрируется высокая распространенность ожирения (значимо чаще среди женщин, согласно критерию ОТ, вне зависимости от наличия менопаузы, возможно, за счет большего потребления сладких продуктов). Мужчины значимо больше курят и реже потребляют свежие овощи и фрукты, что сопровождается большей распространенностью гипергликемии и гипертриглицеридемии.

Ключевые слова: сердечно-сосудистые заболевания, поведенческие факторы риска, ожирение, половые различия, курение.

(Для цитирования: Орлов А.В., Ротарь О.П., Бояринова М.А., Алиева А.С., Дудорова Е.А., Колесова Е.П., Могучая Е.В., Паскарь Н.А., Солнцев В.Н., Баранова Е.А., Конради А.О. Гендерные особенности распространенности поведенческих факторов риска у жителей Санкт-Петербурга. *Вестник РАМН*. 2015; 70 (5): 585–591. Doi: 10.15690/vramn.v70.i5.1446)

585

Обоснование

В большинстве европейских стран и США ожидаемая продолжительность жизни у женщин в среднем на 6 лет больше, чем у мужчин, в России данный показатель

превышает 10 лет [1]. По данным мировой статистики, основные различия в уровне заболеваемости между мужчинами и женщинами приходятся на трудоспособный возраст, и, как результат, в возрастной группе 15–59 лет смертность мужчин в нашей стране трехкратно превы-

A.V. Orlov, O.P. Rotar', M.A. Boyarinova, A.S. Alieva, E.A. Dudorova, E.P. Kolesova,
E.V. Moguchaya, N.A. Paskar', V.N. Solntsev, E.A. Baranova, A.O. Konradi

Almazov North-West Medical Research Centre, Saint-Petersburg, Russian Federation

Gender Differences of Behavioral Risk Factors in Saint-Petersburg Inhabitants

Background: In developed countries there are significant gender differences in lifetime expectancy that can be explained by behavioral risk factors (RF). **Objective:** The aim of our study was to estimate gender features of behavioral RF in general population of Saint-Petersburg, Russia. **Methods:** As a part of all-Russian epidemiology survey ESSE-RF a random sampling of 1600 Saint-Petersburg inhabitants (25–64 y.o.) stratified by age and sex was performed. All participants filled in the questionnaire. Anthropometry (weight, height, body-mass index (BMI), waist circumference (WC)) and fasting blood-tests (lipids, glucose by Abbott Architect 8000 (USA)) were performed. **Results:** There were examined 573 (36%) men and 1027 (64%) women. No gender differences in obesity were found according to BMI criteria — in 178 (31.2%) women and 352 (35.1%) men. Obesity was more often detected in females according to WC criteria: АТРИИ — 44.1 vs 30.3%; IDF 51.2 vs 66.4% ($p < 0.001$ for both). Linear regression analysis was performed and age was associated with BMI — 1.6 kg/m²/decade, WC in women — 5.2 cm/decade and WC in men — 2.8 cm/decade, $p < 0.001$ for all anthropometric parameters. Optimal level of physical activity was equally documented in both genders — 540 (61.2%) women and 286 (58.9%) men. Daily intake of sweets was lower in men — 228 (39.8%) vs 539 (52.5%) in women ($p < 0.001$). 810 (50,6%) of trial subjects were non-smokers, 395 (24,7%) were former smokers, and 395 (24,7%) were smokers at the moment of trial. The higher number of female smokers was observed — 194 (19,1%). **Conclusion:** A high prevalence of obesity is observed in sample of Saint-Petersburg inhabitants — it is higher among women according to WC criteria regardless of menopause, possibly due to bigger sweets consumption. Males smoke more often and consume less fresh fruits and vegetables which is accompanied by a higher prevalence of hyperglycemia and hypertriglyceridemia.

Key words: cardiovascular diseases, life style risk factors, obesity, gender differences, smoking.

(For citation: Orlov A.V., Rotar' O.P., Boyarinova M.A., Alieva A.S., Dudorova E.A., Kolesova E.P., Moguchaya E.V., Paskar' N.A., Solntsev V.N., Baranova E.A., Konradi A.O. Gender Differences of Behavioral Risk Factors in Saint-Petersburg Inhabitants. *Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2015; 70 (5): 585–591. Doi: 10.15690/vramn.v70.i5.1446)

шает таковую у женщин [2]. Результаты исследований прошлых лет в основном связывали данный гендерный перевес с такими факторами риска, как злоупотребление алкоголем, производственный травматизм, психоэмоциональные стрессы и высокая заболеваемость туберкулезом у мужчин [3]. Австрийский социолог Р. Коннел в своих работах выдвинул гипотезу, что гендерное неравенство в продолжительности жизни может быть связано с феноменом «гегемонной маскулинности», определяющей стереотип поведения мужчин трудоспособного возраста, который часто выражается в халатном отношении к своему здоровью и, в частности, к здоровому образу жизни [3]. Можно предположить, что ведущей причиной гендерных различий являются поведенческие факторы риска, к которым в последние годы приковано внимание экспертов Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ). Это низкая двигательная активность, неправильное питание, курение и ожирение [4–6].

Целью исследования было изучить гендерные особенности профиля поведенческих факторов сердечно-сосудистого риска в популяции жителей Санкт-Петербурга.

Методы

586

Дизайн исследования

В 2012 г. в 12 регионах России, различных по климатогеографическим, экономическим и демографическим характеристикам, было проведено исследование «Эпидемиология сердечно-сосудистых заболеваний в различных регионах Российской Федерации» (ЭССЕ-РФ). Дизайн данного многоцентрового наблюдательного обсервационного исследования подробно изложен ранее [7], нами проводился анализ данных, полученных при скрининге пациентов в Санкт-Петербурге.

Критерии соответствия

Контингентом для поперечного исследования поведенческих факторов риска выбрано взрослое население в возрасте 25–64 лет (использовалась систематическая стратифицированная многоступенчатая случайная выборка жителей Санкт-Петербурга, сформированная по территориальному принципу на базе лечебно-профилактических учреждений (ЛПУ) по методу Киша [8]).

Условия проведения и методы исследования

Все участники были приглашены утром натощак в ФГБУ «СЗМИЦ» Минздрава России, где подписали информированное согласие и заполнили стандартный вопросник, разработанный на основе адаптированных международных методик, который включал 12 модулей. Модуль 1 содержал социально-демографическую информацию об обследуемом, в т.ч. вопрос об уровне образования и дохода; модуль 2 отражал характер питания (потребление соли, сладкого, животного жира, овощей и фруктов) [9]; модуль 3 — физическую активность (на основании опросника, использованного в исследовании Countrywide Integral Noncommunicable Disease Intervention (CINDI). Информация о статусе курения, объеме потребляемого алкоголя (модуль 4) была получена с помощью вопросов, заимствованных из исследований «Российский мониторинг экономического положения и здоровья населения», «Стресс, старение и здоровье в России» и вопросов оценки потребления алкоголя (Alcohol Use Disorder Identification Test, AUDIT) [10], разработанных в рамках проекта ВОЗ «Выявление и ведение алкогольных проблем

в общей медицинской практике». В модули 6 и 8 «Здоровье и качество жизни» и «Заболевания» были включены вопросы о наличии следующих заболеваний: болезней желудочно-кишечного тракта, почек, органов дыхания, органов эндокринной системы, неврологических, онкологических, сердечно-сосудистых заболеваний.

Всем участникам было выполнено антропометрическое обследование в соответствии со стандартной процедурой, без обуви и верхней одежды: измерены рост (однократно, с точностью до 0,5 см в положении стоя, ростомер медицинский РП) и вес (однократно, с точностью до 100 г, весы медицинские ВЭМ-150 МАССА-К) с расчетом индекса массы тела (ИМТ); окружность талии (ОТ) (в положении стоя, на середине расстояния между нижним краем грудной клетки и гребнем подвздошной кости по средней подмышечной линии). Произведено взятие крови натощак с определением липидного спектра, мочевой кислоты, глюкозы, креатинина (Abbott Architect 8000, Roche-Diagnostics, США).

Классификация факторов риска

Полученные данные были классифицированы по следующим показателям:

- образование — наличие (1) и отсутствие (0) высшего образования (куда включалось высшее и незаконченное высшее образование) с расчетом суммарной длительности обучения (включая базовое, высшее и постдипломное образование);
- потребление соли — досаливает ли участник уже приготовленную пищу и/или употребляет соленья и маринованные продукты ежедневно (1) или нет (0); низким считалось потребление соли у лиц, которые не досаливали уже приготовленную пищу и/или реже, чем ежедневно употребляли соленья;
- свежие овощи и фрукты — ежедневное потребление (1) считалось достаточным, более редкое (от «не употребляю» до «1–2 раза/нед») считалось недостаточным (0);
- сладости — ежедневное потребление считалось избыточным (1), более редкое (от «не употребляю» до «1–2 раза/нед») считалось нормальным (0);
- потребление жира считалось избыточным (1) при выборе животных жиров в качестве приоритетного компонента для приготовления пищи и употребления с хлебом;
- достаточным (1) считалось употребление рыбы 2 и более раз в нед;
- двигательная активность — длительность ходьбы в свободное от работы время более 300 мин/нед (согласно методическим рекомендациям Минздрава России [11]) считалась достаточной; к лицам с гиподинамией в рабочее время были отнесены участники, ответившие «В основном сижу» на вопрос «Какой из перечисленных уровней физической активности определяет Вашу физическую нагрузку на работе»;
- категория «курение», согласно ответам, подразделялась по 2 критериям — некурящие (ответ «не курю») и курящие (ответ «курю в настоящее время» или бросившие курить менее года назад), и отдельно выделялась вовлеченность в процесс курения — курящие в прошлом или настоящем времени;
- потребление алкоголя считалось избыточным, если участник набирал критическое число баллов при заполнении вопросника AUDIT (более 8 баллов для мужчин до 60 лет/ более 4 баллов для женщин, подростков и мужчин старше 60 лет).

При оценке уровня дохода использовали следующие критерии: к лицам с высоким доходом были отнесены

Таблица 1. Половозрастной состав участников исследования «Эпидемиология сердечно-сосудистых заболеваний в различных регионах Российской Федерации» (Санкт-Петербург)

Возраст, лет	Женщины, n (%)	Мужчины, n (%)	Всего, n (%)
25–34	168 (10)	168 (8)	309 (20)
35–44	194 (12)	122 (7)	316 (20)
45–54	305 (19)	152 (9)	457 (29)
55–64	306 (22)	158 (9)	518 (31)
Всего	1027 (64)	573 (36)	1600 (100)

участники с доходом более 20 тыс. руб. на члена семьи в мес, средним считался доход от 10 до 20, низким — менее 10 тыс. руб.

Ожирение определяли по различным критериям: согласно ИМТ (при ИМТ ≥ 30 кг/м²) и ОТ с использованием 2 вариантов [при ОТ > 102 см для мужчин и 88 см — для женщин — критерии метаболического синдрома АТРИИ (ОТ-АТРИИ) [12], и ОТ ≥ 94 см для мужчин и 80 см — для женщин — критерии метаболического синдрома JIS 2009] [13].

Этическая экспертиза

Проведение исследования одобрено Локальным этическим комитетом Северо-Западного федерального медицинского исследовательского центра им. В.А. Алмазова от 08.10.2012 г. (выписка из протокола № 193).

Статистический анализ

Принципы расчета размера выборки. Случайным образом были отобраны ЛПУ, внутри каждого из них по принципу случайного выбора — врачебные участки, и из полного списка адресов также случайно — квартиры. Общее число домохозяйств в выборке было рассчитано по формуле:

$$10 \text{ ЛПУ} \times 4 \text{ врачебных участка} \times 50 \text{ квартир / домохозяйств} = 2000 \text{ квартир / домохозяйств.}$$

В случае проживания в отобранной квартире нескольких человек указанного возраста, предпочтение отдавалось тому, чей день и месяц рождения были более ранними.

Методы статистического анализа данных. При анализе данных использовали следующие математико-статистические методы: стандартные описательные статистики (среднее, стандартная ошибка среднего при нормальном распределении и медиана, 25-й и 75-й процентиля при асимметричном распределении), критерий χ^2 для оценки сопряженности качественных признаков, а также множественный линейный регрессионный анализ. Для оценки отношения шансов (ОШ) применяли одно- и многофакторные модели бинарной логистической регрессии. Достоверность моделей оценивали с помощью метода максимального правдоподобия. Производили расчет 95% доверительных интервалов (ДИ). Математико-статистический анализ данных реализован с использованием программы IBM SPSS Statistics v. 17.0 (США).

Результаты

Участники исследования

В исследование были включены 1600 жителей Санкт-Петербурга. Все обследованные были разделены на 4 возрастные группы: 25–34, 35–44, 45–54 и 55–64 года.

Среди обследованных лиц преобладали (64%) женщины, средний возраст мужчин составил 45,1 ± 11,9 (от 25 до 64), женщин — 48,1 ± 11,4 (от 25 до 64 лет) года. Распределение участников по половозрастным характеристикам представлено в табл. 1.

Основные результаты исследования

Из 1600 обследованных только 188 (11,7%) участников имели сердечно-сосудистые заболевания.

Высшее образование имели сопоставимое число мужчин (277; 47,3%) и женщин (504; 49,1%). Средняя длительность обучения тоже не отличалась и составила 14,9 ± 2,9 лет для мужчин и 14,8 ± 2,7 — для женщин. Распространенность ожирения, характер питания, объем физических нагрузок не отличалась у лиц с разным уровнем образования.

Среди опрошенных на постоянной основе работали 506 (88,4%) мужчин и 746 (72,7%) женщин. Высокий доход имели 1008 (64%) участников, средний — 341 (22%), низкий — 52 (9,1%) и 165 (16,1%), соответственно, мужчин и женщин ($\chi^2=15,3\%$; $p < 0,001$) (217 участников; 14%). Доля лиц с низким доходом не различалась у участников с разными уровнями образования и составила 13% для лиц с высшим образованием и 14%

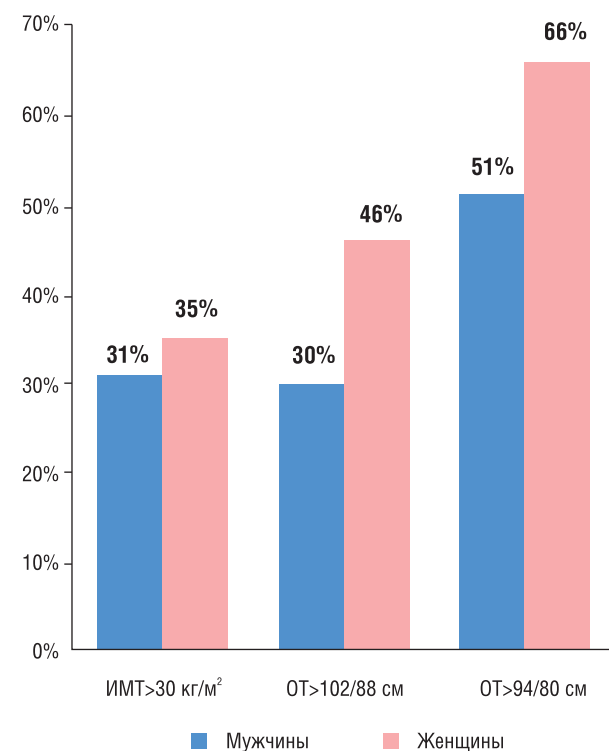


Рис. 1. Распространенность ожирения по различным критериям у мужчин и женщин.

Примечание. ИМТ — индекс массы тела, ОТ — окружность талии.

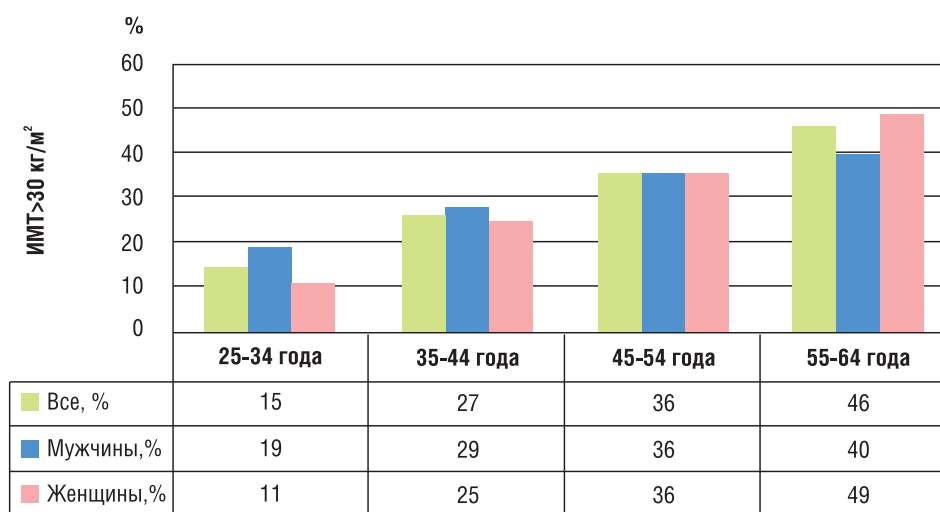


Рис. 2. Распространенность ожирения по критерию ИМТ в зависимости от пола и возраста.

для остальных участников. У лиц с низким доходом по сравнению с остальными участниками было значимо ниже потребление рыбы (434; 31% vs 85; 40%) ($\chi^2 = 5,2$; $p = 0,034$), а также свежих овощей и фруктов (444; 32% vs 99; 46%) ($\chi^2 = 15,7$ $p < 0,001$).

588

Число мужчин (286; 58,9%) и женщин (540; 61,2%) с оптимальным уровнем двигательной активности не различалось; связи уровня гиподинамии с другими факторами риска развития сердечно-сосудистых заболеваний отмечено не было.

Уровень потребления овощей и фруктов среди участников был достаточно высоким, но значимо ниже у мужчин: 305 (53,2%) мужчин и 752 (73,2%) женщины потребляли данные продукты ежедневно ($\chi^2 = 65,6$; $p < 0,001$). По данным регрессионного анализа ежедневное потребление овощей и фруктов не было ассоциировано с наличием или отсутствием ожирения.

Конфеты, варенье, печенье и другие сладости ежедневно потребляли 228 (39,8%) мужчин и 539 (52,5%) женщин ($p < 0,001$), имели низкий уровень потребления соли, по данным опросника, — 293 (51,1%) и 602 (58,6%), соответственно. Избыточное потребление жира отмечено у 69 (12%) мужчин и 120 (12%) женщин. Достаточное потребление рыбы зафиксировано у 372 (64,9%) мужчин и 709 (69,0%) женщин.

Ожирение по различным критериям зарегистрировано у 31–66% участников. Отмечены гендерные различия в распространенности ожирения согласно критерию ОТ (для ОТ-АТРИИ $\chi^2 = 30,7$; $p < 0,001$, для ОТ-ЖИС $\chi^2 = 41,4$; $p < 0,001$) при сопоставимом уровне по критерию ИМТ. Данные представлены на рис. 1.

Зафиксирован факт увеличения распространенности ожирения с возрастом у обоих полов (рис. 2). По данным линейного регрессионного анализа, увеличение возраста на 10 лет ассоциировалось с повышением ИМТ на 1,6 кг/м² ($\beta = 1,6$; 95% ДИ 1,4–1,8; $p < 0,001$) без гендерных различий. Отмечены различия динамики ОТ с возрастом в зависимости от пола: у женщин увеличение возраста на 10 лет ассоциировалось с повышением ОТ на 5,2 см ($\beta = 5,2$; 95% ДИ 4,5–5,9; $p < 0,001$); на 5,6 см за декаду у женщин младше 50 и на 4,5 см — после 50 лет. У мужчин — на 2,8 см ($\beta = 2,8$; 95% ДИ 2,0–3,7; $p < 0,001$).

Метаболический профиль был более благоприятным у женщин, несмотря на большую распространенность ожирения по критерию ОТ (табл. 2).

Не курили 810 (50,6%) обследованных, 395 (24,7%) курили в прошлом; 395 (24,7%) человек курили на момент скрининга, из них мужчин 201 (35,0%), женщин 194 (18,8%; $p < 0,001$).

Большая часть обследованных мужчин (501; 87,4%) и женщин (911; 88,7%) ответили, что употребляют алкоголь с

Таблица 2. Метаболические нарушения у мужчин и женщин

Показатель	Мужчины (n=573)	Женщины (n=1027)	p
Глюкоза, ммоль/л	5,4±1,1	5,1±1,0	<0,001
Глюкоза ≥5,6 ммоль/л или сахароснижающая терапия	163 (28,6%)	200 (19,7%)	<0,001
Общий холестерин, ммоль/л	5,3±1,1	5,5±1,2	<0,001
Общий холестерин ≥4,9 ммоль/л или терапия статинами	374 (65,8%)	714 (69,9%)	0,06
ЛПНП, ммоль/л	3,4±0,9	3,4±0,9	0,79
ЛПНП ≥3,0 ммоль/л или терапия статинами	394 (69,4%)	684 (67,0%)	0,18
ЛПВП, ммоль/л	1,2±0,3	1,5±0,3	<0,001
ЛПВП <1,0 (М)/1,3(Ж) ммоль/л или терапия статинами	196 (35,1%)	396 (38,9%)	0,07
ТГ, ммоль/л	1,48±0,93	1,29±0,88	<0,001
ТГ ≥1,7 ммоль/л	163 (28,6%)	212 (20,7%)	<0,001

Примечание. ЛПНП — липопротеиды низкой плотности, ЛПВП — липопротеиды высокой плотности, ТГ — триглицериды, М — мужчины, Ж — женщины.

различной частотой. Злоупотребление алкоголем отмечено у 39 (7%) мужчин и 23 (2%) женщин ($\chi^2=20,1; p < 0,001$).

Обсуждение

В своей работе мы оценивали распространенность поведенческих факторов риска, которым, по мнению экспертов ВОЗ [4], отводится ведущая роль в заболеваемости неинфекционными заболеваниями. В последующем путем статистического анализа, оценивалась связь поведенческих факторов риска между собой, с уровнем образования и дохода, а также с полом, ожирением, дислипидемией. Регрессионный анализ показал, что среди множества детерминант основным фактором, определяющим профиль поведенческих факторов риска, является пол.

Согласно данным Петростата [14], возрастной состав жителей Санкт-Петербурга распределен следующим образом: 25–34 года — 29%, 35–44 — 23%, 45–54 — 25%, 55–64 — 22% от общего числа жителей. В случайной выборке, обследованной в рамках нашего исследования, имело место незначительное смещение в сторону участников старшего возраста, что связано с меньшим откликом работающего населения и большим желанием пройти обследование пожилых лиц, зачастую больше беспокоящихся о своем здоровье. Приложенные усилия позволили нам сохранить репрезентативность выборки жителей Санкт-Петербурга.

Доля лиц с высшим образованием в Санкт-Петербурге была сопоставимой у мужчин и женщин и составила половину обследованных, что выше среднего значения по России: согласно данным переписи населения 2010 г., — 23% [15]. Возможно, что более высокий уровень образования способствовал большей информированности о необходимости своевременного выявления болезней и лучшему отклику этой категории населения. Ряд российских и зарубежных [16] исследователей показывают большую распространенность факторов риска развития сердечно-сосудистых заболеваний у лиц без высшего образования независимо от пола, однако по результатам нашего исследования такой закономерности не наблюдалось. При сравнении особенностей питания у жителей Санкт-Петербурга и Эстонии в нашей предыдущей работе (2012 г.) уровень образования также не оказывал влияния на частоту потребления овощей и фруктов, жиров и простых углеводов [17].

Некоторые ученые связывают особенности питания также и с уровнем дохода. Так, по данным российско-финского исследования 1992–2007 гг. [18], доступность овощей и фруктов на рынке была определена как ведущий фактор их потребления. В нашем исследовании низкий доход ассоциировался с меньшим (в 1,5 раза) уровнем потребления овощей и фруктов по сравнению с другими участниками. Однако следует отметить, что среди лиц с низким доходом преобладали женщины, у которых потребление овощей и фруктов больше, чем у мужчин. Таким образом, можно заключить, что наиболее значительным фактором, определяющим характер питания, независимо от дохода и уровня образования, является пол.

Результаты нашего исследования демонстрируют высокую распространенность ожирения в Санкт-Петербурге, которое по различным критериям достигает 66%. ОТ более точно характеризует гендерные различия в распространенности ожирения: у женщин показатель в 1,5 раза превосшел таковой у мужчин. При этом следует отметить, что потребление овощей и фруктов, которое, по данным крупного немецкого исследования EPIC [19],

было ассоциировано с меньшей распространенностью ожирения, было более высоким среди женщин, а распространенность гиподинамии у мужчин и женщин не различалась. Данный «перевес» в распространенности ожирения у женщин может быть объяснен значимо большим потреблением сладкого. Так, в США, где доля лиц с ожирением составляет 70% процентов, ежедневно потребляют сладкое до 50% населения [20]. Также следует отметить, что, несмотря на меньшую распространенность ожирения по критерию ОТ, мужчины чаще страдали гипергликемией и гипертриглицеридемией, вероятно, за счет меньшего потребления свежих овощей и фруктов. Согласно данным популяционных исследований, при проспективном наблюдении американской популяции за последние 20 лет отмечается рост ИМТ на 0,4 кг/м² в декаду жизни для мужчин и на 0,5 — для женщин [20]. Наше исследование на выборке жителей Санкт-Петербурга носило поперечный характер, при регрессионном анализе отмечена положительная корреляция ИМТ с возрастом независимо от пола. Ассоциация ОТ с возрастом имеет гендерные особенности: у женщин «прирост» с каждой декадой в 2 раза больше, чем у мужчин. Следует отметить, что данный «рост» больше у женщин репродуктивного возраста, возможно, за счет меньшей доли лиц с адекватной физической активностью среди более молодых возрастных групп.

Среди жителей Санкт-Петербурга отмечен высокий уровень курения: 1/4 часть участников исследования оказались курящими, столько же курили в прошлом. В среднем распространенность курения в России, по данным Росстата, в 2011 г. составила 25,7% (47,6% мужчин и 9,5% женщин) [15]. По данным исследования НАPIEE, в 2002 г. процент курящих мужчин и женщин в России был сопоставим с данными Росстата за 2011 г.: 50 и 10%, соответственно [21]. По нашим результатам, в Санкт-Петербурге меньше курящих мужчин, чем в среднем по России, что не ассоциируется с высокой долей лиц с высшим образованием в нашем регионе. Процент курящих женщин превосходит среднее по России более чем в 2 раза. Столь существенные различия частоты курения среди женщин, возможно, являются особенностью жизни в мегаполисе и, соответственно, сформированы под влиянием западной культуры. Так, в США доля курящих мужчин и женщин белой расы сопоставима между собой: 23 и 20%, соответственно [20]. В западной части России на протяжении последних 20 лет отмечается значительный рост распространенности курения среди женщин [22], что, вероятно, обусловлено отходом от традиционных ценностей, в то время как в восточных странах, в т.ч. на востоке нашей страны, традиционные культурные и этнические особенности сохраняют прежнюю силу. По данным Петростата, за 2012 г. такой показатель, как число пачек сигарет на 1 человека в год, увеличился за последние 5 лет практически в 3 раза: с 30 в 2007 до 86 в 2012 г. [14]. Вероятно, такой рост потребления табака обусловлен в основном увеличением распространенности курения среди женщин. Следует отметить, что представленные данные были собраны до вступления в силу «антитабачного» закона, и контроль данных показателей в динамике позволит при проспективном наблюдении этой когорты оценить влияние поправки в законодательство от 2012 г.

Распространенность употребления алкоголя в нашем исследовании среди жителей Санкт-Петербурга превзошла средние значения по России (по данным ЭССЕ-РФ, 72,1% мужчин и 74,1% женщин употребляют алкоголь в разных количествах) [23]. За последние 10 лет данный показатель значительно не изменился: по

данным исследования НАPIEE 2002–2005 г., не употребляли алкоголь 18% мужчин и 14% женщин [21]. Доля лиц, злоупотребляющая спиртными напитками в Санкт-Петербурге, значимо не отличалась от таковой в среднем по России (6,3% мужчин и 2,2% женщин в исследовании ЭССЕ-РФ) [23]. Следует отметить некоторое сокращение разрыва в данном факторе риска между мужчинами и женщинами. Так, в исследовании НАPIEE 5% мужчин и 0,5% женщин (соотношение 10/1) в популяции жителей Ижевска злоупотребляли алкоголем, а данные московского исследования 1995 г. указывают на более высокую распространенность злоупотребления спиртным в непростой период середины 90-х гг. XX в. — 19% мужчин и 1% женщин (соотношение около 20/1) [24]. Данная динамика отражает как значительное снижение доли злоупотребляющих алкоголем мужчин в первой декаде XXI в., так и увеличение доли злоупотребляющих алкоголем женщин. Однако следует отметить, что отсутствие общепринятого определения «злоупотребления алкоголем» и единых стандартов анализа потребляемых спиртных напитков создает известные трудности при сравнении данных различных исследований.

Ограничения исследования

Данные получены в части исследования, которая носила поперечный характер, планируется проспективная часть исследования.

Заключение

Несмотря на отсутствие гендерных различий в средней продолжительности обучения и доле лиц с высшим образованием, жительницы Санкт-Петербурга вдвое чаще имеют низкий доход по сравнению с мужчинами.

Регистрируется высокая распространенность ожирения, которое значимо чаще встречается у женщин согласно критерию окружности талии, возможно, за счет большего потребления сладких продуктов. Связь возраста с абдоминальным ожирением была существенно сильнее у женщин вне зависимости от наличия менопаузы.

Мужчины имеют сопоставимый уровень физической нагрузки, потребления соли и жиров с женщинами, но реже потребляют свежие овощи и фрукты, что сопровождается более значимой распространенностью у них гипергликемии и гипертриглицеридемии.

Отмечена высокая распространенность курения в Санкт-Петербурге с преобладанием ее у мужчин, при этом женщины курят в 2 раза чаще по сравнению со средним уровнем курения у женщин в российской популяции.

Конфликт интересов

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

ЛИТЕРАТУРА

- World population data sheet, Population Reference Bureau. 2010. URL: http://www.prb.org/pdf10/10wpds_eng.pdf (Available: 22.04.2015).
- Неравенство и смертность в России. Под ред. Е.М. Андреева, В.М. Школьников, Т. Малеевой. М.: *Сигнал*. 2000. 107 с.
- Андреев Е.М., Школьников В.М. Продолжительность здоровой жизни. *Вопросы статистики*. 2002; 11: 16–21.
- Global status report on noncommunicable diseases 2014. Geneva, WHO, 2014. URL: <http://www.who.int/nmh/publications/ncd-status-report-2014/en/> (Available: 21.04.2015).
- Obesity and overweight. Fact sheet 2013. 311. URL: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en> (Available: 06.05.2015).
- Глобальная стратегия по питанию, физической активности и здоровью. *Женева: ВОЗ*. 2009. URL: <http://who.int/publications/list/9241592222/ru> (Available: 19.11.2015).
- Научно-организационный комитет проекта ЭССЕ-РФ Эпидемиология сердечно-сосудистых заболеваний в различных регионах России (ЭССЕ-РФ). Обоснование и дизайн исследования. *Профилактическая медицина*. 2013; 6: 25–34.
- Kish L. Survey Sampling. *New York: John Wiley and Sons*. 1965.
- Проект комплексной глобальной системы мониторинга, включая показатели и комплекс добровольных глобальных целей по профилактике неинфекционных заболеваний и борьбе с ними. *Женева: ВОЗ*. 2012. URL: http://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA66/A66_8-ru.pdf (Available: 19.11.2015)
- Peasey A., Bobak M., Kubinova R., Malyutina S., Pajak A., Tamosiunas A. et al. Determinants of cardiovascular disease and other non-communicable diseases in Central and Eastern Europe: rationale and design of the NAPEE study (study protocol). *BMC. Public Health*. 2006; 6: 255–264.
- Национальные рекомендации по кардиоваскулярной профилактике. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2011; 10 (6). Прил. 2.
- Grundey S., Cleeman J., Daniels S., Donato K., Eckel R., Franklin B., Fruchart J.C., James W.P., Loria C.M., Smith S.C. Jr. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation*. 2005; 112: 2735–2752.
- Alberti K., Eckel R., Grundey S., Zimmet P., Cleeman J., Donato K., Fruchart J.C., James W.P., Loria C.M., Smith S.C., Jr. International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention. National Heart, Lung and Blood Institute, American Heart Association, World Heart Federation, International Atherosclerosis Society, International Association for the Study of Obesity. *Circulation*. 2009; 120 (16): 1640–1645.
- Дмитриева Л.В., Скогоров В.В., Яковлева Л.П. Краткий статистический сборник Петростат. *СПб*. 2013. 116 с.
- Суринов А.Е., Баранов Э.Ф., Бугакова Н.С., Гельвановский М.И., Гохберг Л.М., Дианов М.А. Российский статистический ежегодник 2011. Статистический сборник Росстат. М. 2011. 558 с.
- The World Bank. 2010. Classification of economies. Available from: [URLhttp://data.worldbank.org/about/country-classifications](http://data.worldbank.org/about/country-classifications) (Available: 03.06.2015).
- Paalanen L., Prättälä R., Palosuo H., Laatikainen T., Socio-economic differences in the consumption of vegetables, fruit and berries in Russian and Finnish Karelia, 1992–2007. *Eur. J. Public Health*. 2011; 21 (1): 35–42.
- Орлов А.В., Ротарь О.П., Могучая Е.В., Бояринова М.А., Конради А.О., Boeing H. Особенности питания как фактор риска неинфекционных заболеваний Российской и Эстонской популяций. *Трансляционная медицина*. 2014; 1: 82–91.
- Von Ruesten A., Feller S., Bergmann M., Boeing H. Diet and risk of chronic diseases: results from the first 8 years of follow up in the EPIC Potsdam study. *Eur. J. Clin. Nutr*. 2013; 67: 412–419.
- Mozaffarian D., Benjamin E.J., Go A.S., Arnett D.K., Blaha M.J., Cushman M., de Ferranti S., Després J.P., Fullerton H.J., Howard V.J., Huffman M.D., Judd S.E., Kissela B.M., Lackland D.T.,

- Lichtman J.H., Lisabeth L.D., Liu S., Mackey R.H., Matchar D.B., McGuire D.K., Mohler E.R. 3rd, Moy C.S., Muntner P., Mussolino M.E., Nasir K., Neumar R.W., Nichol G., Palaniappan L., Pandey D.K., Reeves M.J., Rodriguez C.J., Sorlie P.D., Stein J., Towfighi A., Turan T.N., Virani S.S., Willey J.Z., Woo D., Yeh R.W., Turner M.B. Heart Disease and Stroke Statistics 2015 Update. A Report from the American Heart Association. *Circulation*. 2015; 131: (24): 535.
21. Boylan A., Welch S., Dietary habits in three Central and Eastern European countries: the HAPIEE study. *BMC Public Health*. 2009; 9: 439.
22. Freeman M., Fleming T., Smoking Prevalence and Cigarette Consumption in 187 Countries, 1980–2012. *JAMA*. 2014; 311 (2): 183–192.
23. Баланова Ю.А., Концевая А.В., Шальнова С.А., Деев А.Д., Артамонова Г.В., Гатагонова Т.М., Дупляков Д.В., Ефанов А.Ю., Жернакова Ю.В., Ильин В.А., Конради А.О., Либис Р.А., Минаков А.В., Недогада С.В., Оганов Р.Г., Ощепкова Е.В., Романчук С.А., Ротарь О.П., Трубочева И.А., Шляхто Е.В., Бойцов С.А., Муромцева Г.А., Евстифеева С.Е., Капустина А.В., Константинов В.В., Мамедов М.Н., Баранова Е.И., Назарова О.А., Шутемова О.А., Фурменко Г.И., Бабенко Н.И., Азарин О.Г., Бондарцов Л.В., Хвостикова А.Е., Ледеява А.А., Чумачек Е.В., Исаева Е.Н., Басурова И.Р., Кондратенко В.Ю., Лопина Е.А., Сафонова Д.В., Скрипченко А.Е., Индукаева Е.В., Черкас Н.В., Максимов С.А., Данильченко Я.В., Мулерова Т.А., Шалаев С.В., Медведева И.В., Шава В.П., Сторожок М.А., Г.В. Толпаров, Астахова З.Т., Тогузова З.А., Кавешников В.С., Карпов Р.С., Серебря В.Н. Распространенность поведенческих факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний в российской популяции по результатам исследования ЭССЕ. *Профилактическая медицина*. 2014; 5: 42–52.
24. Bobrova N., West R., Malyutina D., Malyutina S., Bobak M. Gender Differences in Drinking Practices in Middle Aged and Older Russians. *Alcohol and Alcoholism*. 2010; 45 (6): 573–580.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Орлов Александр Викторович, аспирант, младший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории эпидемиологии артериальной гипертензии Северо-Западного федерального медицинского исследовательского центра им. В.А. Алмазова

Адрес: 197341, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2, **тел.:** +7 (812) 702-37-56, **e-mail:** orlov_av@almazovcentre.ru

Ротарь Оксана Петровна, кандидат медицинских наук, заведующая научно-исследовательской лабораторией эпидемиологии артериальной гипертензии Северо-Западного федерального медицинского исследовательского центра им. В.А. Алмазова

Адрес: 197341, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2, **тел.:** +7 (812) 702-37-56, **e-mail:** rotar@almazovcentre.ru

Бояринова Мария Анатольевна, младший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории эпидемиологии артериальной гипертензии Северо-Западного федерального медицинского исследовательского центра им. В.А. Алмазова

Адрес: 197341, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2, **тел.:** +7 (812) 702-37-56, **e-mail:** boyarinova@almazovcentre.ru

Алиева Асият Сайгидовна, младший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории эпидемиологии артериальной гипертензии Северо-Западного федерального медицинского исследовательского центра им. В.А. Алмазова

Адрес: 197341, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2, **тел.:** +7 (812) 702-37-56, **e-mail:** alieva_as@almazovcentre.ru

Дудорова Елена Александровна, младший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории эпидемиологии артериальной гипертензии Северо-Западного федерального медицинского исследовательского центра им. В.А. Алмазова

Адрес: 197341, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2, **тел.:** +7 (812) 702-37-56, **e-mail:** dudorova@almazovcentre.ru

Колесова Екатерина Павловна, научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории эпидемиологии артериальной гипертензии Северо-Западного федерального медицинского исследовательского центра им. В.А. Алмазова

Адрес: 197341, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2, **тел.:** +7 (812) 702-37-56, **e-mail:** kolesova@almazovcentre.ru

Могучая Екатерина Викторовна, младший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории эпидемиологии артериальной гипертензии Северо-Западного федерального медицинского исследовательского центра им. В.А. Алмазова

Адрес: 197341, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2, **тел.:** +7 (812) 702-37-56, **e-mail:** moguchaya@almazovcentre.ru

Паскарь Надежда Андреевна, кандидат медицинских наук, заведующая научно-исследовательской лабораторией организации медицинской помощи Северо-Западного федерального медицинского исследовательского центра им. В.А. Алмазова

Адрес: 197341, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2, **тел.:** +7 (812) 702-37-56, **e-mail:** npaskar55@mail.ru

Солнцев Владислав Николаевич, старший научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории математического моделирования Северо-Западного федерального медицинского исследовательского центра им. В.А. Алмазова

Адрес: 197341, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2, **тел.:** +7 (812) 702-37-56, **e-mail:** vs5962@gmail.com

Баранова Елена Ивановна, доктор медицинских наук, профессор кафедры факультетской терапии СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова

Адрес: 197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8, **тел.:** +7 (812) 702-37-56, **e-mail:** eibaranova@yahoo.com

Конради Александра Олеговна, доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора по научной работе Северо-Западного федерального медицинского исследовательского центра им. В.А. Алмазова

Адрес: 197341, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2, **тел.:** +7 (812) 702-37-33, **e-mail:** konradi@almazovcentre.ru

DOI: 10.15690/vramn.v70.i5.1447

Е.В. Семичев¹, А.Н. Байков¹, Н.М. Шевцова¹, П.С. Бушланов¹, Е.А. Геренг¹, А.Н. Алейник²

¹ Сибирский государственный медицинский университет, Томск, Российская Федерация

² Национальный исследовательский Томский политехнический университет, Томск, Российская Федерация

Морфофункциональные изменения селезенки после гемостаза неравновесной плазмой

Повреждения селезенки сопровождаются обильным кровотечением с высоким процентом летальных исходов. В настоящее время продолжается поиск и разработка методов коагуляции селезеночных кровотечений. Инновационным методом является коагуляция неравновесной плазмой. **Цель исследования:** изучить влияние неравновесной плазмы на морфофункциональное состояние селезенки.

Методы: проведено нерандомизированное исследование по типу случай-контроль. Исследование выполнено на 45 кроликах-самцах массой 3000–3200 г. В 1-ю группу (контрольную; n = 5) вошли интактные животные без оперативного вмешательства; во 2-ю (экспериментальную, n = 40) — после атипичной резекции селезенки и коагуляции неравновесной плазмой. В заданные точки (60 мин, 3, 5, 7, 14, 30, 90, 180-е сут) после оперативного вмешательства оценивали объем кровопотери, клинический анализ крови, гистологические показатели, данные спленограммы. **Результаты.** Объем кровопотери при коагуляции селезенки неравновесной плазмой составил 16,6 [15,98;17,22] мл. В клиническом анализе крови на ранних сроках в экспериментальной группе обнаружено увеличение содержания нейтрофилов до 38 [24; 39] (группа контроля 17 [13;18], p = 0,009) и моноцитов до 15 [14;18] (группа контроля 8 [6;11]; p = 0,036), которое нормализовалось к 30-м сут. При гистологическом исследовании в ранние сроки после коагуляции отмечались лейкоцитарная инфильтрация, отек, стаз и расширение сосудов микроциркуляторного русла. В поздние сроки структура органа нормализовалась. Анализ спленограмм показал значимое (p = 0,023) снижение относительного числа малых лимфоцитов (на 28%) в экспериментальной группе по сравнению с контролем (23,3 [17,9; 26,7] против 30,8 [29,25; 34,3], соответственно). **Заключение:** гемостаз селезенки в эксперименте наступает после обработки плазменным потоком кровоточащей поверхности в течение 1,5–2 мин. После коагуляции отмечается минимальное повреждение паренхимы селезенки, проявляющееся реакцией активации. В отдаленные сроки паренхима селезенки регенерирует с образованием соединительнотканного рубца; функция органа не страдает.

Ключевые слова: гемостаз паренхиматозных органов, неравновесная плазма, повреждения селезенки, морфофункциональные изменения.

(Для цитирования: Семичев Е.В., Байков А.Н., Шевцова Н.М., Бушланов П.С., Геренг Е.А., Алейник А.Н. Морфофункциональные изменения селезенки после гемостаза неравновесной плазмой. *Вестник РАМН.* 2015; 70 (5): 592–598. Doi: 10.15690/vramn.v70.i5.1447)

592

Обоснование

Повреждение селезенки при открытых травмах живота встречается в 7%, при закрытых — в 26% случаев [1]. При повреждении селезенки происходит обильное крово-

течение, которое нередко приводит к летальному исходу. Одним из методов спасения жизни пациента в подобных ситуациях является спленэктомия, которую выполняют при открытых травмах живота в 27%, при закрытых — в 56,7% случаев [2–4].

E.V. Semichev¹, A.N. Baikov¹, N.M. Shevtsova¹, P.S. Bushlanov¹, E.A. Gereng¹, A. N. Aleinik²

¹Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

²National research Tomsk polytechnical university, Tomsk, Russian Federation

Morphofunctional Changes of Spleen After Hemostasis by Nonequilibrium Plasma

Background: Heavy bleeding is developed in case of spleen injury. It often leads to death. At present the search and development of new methods for hemostasis of spleen bleeding continues. An innovative method is coagulation of nonequilibrium plasma. **Objective:** Our aim was to study the effect of nonequilibrium plasma on the morphofunctional state of the spleen. **Methods:** The non-randomized study by type of «case-control» was conducted. The experiment was carried out on 45 male rabbits weighing 3000–3200 g. 1st group (control; n = 5) — intact animals without surgery; 2nd group (experimental, n = 40) — animals after atypical resection of the spleen and hemostasis by nonequilibrium plasma. The volume of blood loss, FBC, histological data, splenogram analysis data were assessed at defined periods (60 min, 3rd, 5th, 7th, 14th, 30th, 90th, 180th days) after surgery. They were compared with data of the control group. **Results:** The volume of blood loss during the resection of the spleen with hemostasis by nonequilibrium plasma was 16.6 [15.98;17.22] ml. Increase of neutrophil to 38 [24; 39] (control group 17 [13, 18], p = 0.009), monocytes to 15 [14, 18] (control group 8 [6, 11], p = 0.036) is revealed in the FBC in the early period after hemostasis with nonequilibrium plasma. It is reduced to the norm on 30 day. Histological examination revealed leukocyte infiltration, edema, microvascular stasis, dilatation of vessels in the early period. At long-term period structure of the organ is normalized. Splenogram analysis revealed a statistically significant (p = 0.023) decrease in the relative number of small lymphocytes by 28% in animals after hemostasis with nonequilibrium plasma as compared to control (23.3 [17.9; 26.7] versus 30.8 [29.25; 34.3] respectively). **Conclusion:** treatment of bleeding surface by plasma flow for 1.5–2 min is required order to achieve effective hemostasis during surgery of spleen injuries in the experiment. After coagulation there is minimal damage of the spleen parenchyma, which manifests itself as activation reaction. At long-term period parenchyma of the spleen completely regenerates with the formation of cicatricial tissue that does not affect the functioning of organ.

Key words: haemostasis of parenchymal organs, nonequilibrium plasma, spleen trauma, morphofunctional changes.

(For citation: Semichev E.V., Baikov A.N., Shevtsova N.M., Bushlanov P.S., Gereng E.A., Aleinik A.N. Morphofunctional Changes of Spleen After Hemostasis by Nonequilibrium Plasma. *Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2015; 70 (5): 592–598. Doi: 10.15690/vramn.v70.i5.1447)

Безопасный и эффективный гемостаз — залог успешного хирургического вмешательства и благоприятного послеоперационного периода. Остановка кровотечения может быть достигнута за счет швов, специальных зажимов (клипс), клеевых аппликаций, применения гемостатических препаратов, термической или электрокоагуляции [5–7]. В настоящее время в хирургии отдают предпочтение электрокоагуляции [8, 9], однако она может привести к термическим ожогам и некрозам, а также к формированию рубца, спаечного процесса, нарушающего функции органа.

Одним из современных методов гемостаза является разрабатываемая и внедряемая в клиническую практику технология, основанная на применении неравновесной, или холодной плазмы, температура которой колеблется от 45 до 60°C. В физике термин «плазма» относится к четвертому состоянию вещества, которое представляет собой смесь из электронов, ионов и нейтральных частиц. В настоящее время в медицине неравновесная плазма применяется для остановки кровотечений, лечения различных гнойных заболеваний (т.к. обладает выраженным бактерицидным действием). Ряд авторов исследует плазму на предмет стимуляции регенерации, а также противоопухолевого эффекта.

Для остановки паренхиматозных кровотечений нашим научным коллективом предложен аппарат «Источник холодной плазмы-1», разработанный на кафедре ПФ ФТФ ТПУ (Томск), который генерирует «низкотемпературную» плазму (45°C, амплитуда импульсов 15 кВ, частота следования 5 кГц) из атмосферного воздуха под действием барьерного разряда. Установлено, что плазма, полученная таким способом, содержит большое количество активных составляющих, таких как OH, NO, N₂⁺, атомарный кислород и др. Данные составляющие обеспечивают бактерицидный эффект неравновесной плазмы, а также позволяют коагулировать кровоточащую поверхность без образования ожогового струпа и повреждения окружающих тканей, что уменьшает число послеоперационных осложнений и не нарушает процессы регенерации тканей [10].

Целью исследования было изучить влияние неравновесной плазмы на систему гемостаза и морфофункциональное состояние селезенки на экспериментальной модели у кроликов.

Методы

Дизайн исследования

Проведено нерандомизированное исследование по типу случай-контроль.

Критерии соответствия

Под наблюдением находились половозрелые здоровые кролики-самцы массой 3000–3200 г.

Критерии исключения из исследования

Гибель животного до наступления контрольной точки.

Условия проведения

Исследование выполнено на базе ЦНИЛ СибГМУ (Томск). Животные находились в стационарных условиях вивария на специализированном брикетном вскармливании с добавлением овощей, зерновых, сена и молочной продукции. Производили дозированное освещение (12:12, свет с 08:00 ч). Кроликов содержали по одному

в клетке. Ежедневно у всех животных оценивали общее состояние и течение послеоперационного периода. Все данные заносили в дневник.

Продолжительность исследования

Исследование проводилось на протяжении 6,5 мес с учетом двухнедельного карантина. Срок проведения исследования обусловлен точками взятия биопсии, последний срок взятия — 180-е сут. До начала эксперимента животные выдерживали двухнедельный карантин в условиях вивария с учетом требований к их содержанию. После оперативного вмешательства в контрольные точки животных выводили из эксперимента, производили взятие биологического материала.

Описание медицинского вмешательства

За 1 сут до оперативного вмешательства животных переставали кормить, за 6 ч — поить. В экспериментальной группе оперативное вмешательство заключалось в атипичной резекции селезенки с гемостазом неравновесной плазмой. Анестезию у кроликов осуществляли однократным внутривенным введением раствора Zoletil-100 (Virbac, Франция) из расчета 0,05 мл на 1 кг массы тела животного в сочетании с препаратом Xylavet (Венгрия) из расчета 0,15 мл на 1 кг массы тела животного.

Доступ к селезенке осуществляли верхнесрединной лапаротомией с последующим выведением селезенки и поперечным удалением 1/3 органа [11]. Гемостаз производили при помощи аппарата «Источник холодной плазмы-1» (45°C, амплитуда импульсов 15 кВ, частота следования 5 кГц). После остановки кровотечения осуществляли контроль гемостаза, погружали селезенку в брюшную полость, рану послойно зашивали атравматической иглой (Ethicon, Шотландия) с нитью Vicryl 4/0, затем накладывали асептическую повязку. Длительность операции составляла 45–60 мин. Перевязку и осмотр проводили ежедневно. Окончательно повязку снимали на 4-е сут после операции. Раны заживали первичным натяжением. Летальные исходы среди экспериментальных животных отсутствовали.

Исходы исследования

Основной исход исследования — восстановление морфофункциональных показателей селезенки: нормализация показателей клинического анализа крови (отсутствие симптомов постспленэктомического синдрома), восстановление гистологической картины селезенки.

Дополнительные исходы исследования:

- время достижения эффективного гемостаза селезенки после обработки плазменным потоком кровоточащей поверхности;
- объем кровопотери в ходе оперативного вмешательства с гемостазом неравновесной плазмой.

Методы регистрации исходов

После выполнения оперативных вмешательств определяли объем кровопотери стандартным гравиметрическим методом. Объем кровопотери определяли делением массы крови на ее плотность. Плотность крови грызунов составляет 1,051. Погрешность метода, по данным литературы, составляет 10–12% [12].

Выведение животных из эксперимента осуществляли в определенные контрольные точки при помощи CO₂-асфиксии в специализированной камере.

В контрольные точки у экспериментальных групп животных брали венозную кровь для выполнения клинического анализа крови (ОАК) и кусочки ткани селезенки

для проведения гистологического и цитологического исследования.

Кусочки ткани селезенки проводили по спиртам и заливали в парафин по стандартной методике. Из гистологических препаратов получали срезы толщиной 5–7 мкм при помощи ротационного микротомы Accu-CutSRM 200 (Sakuga, Япония). Обзорную микроскопию и морфометрию осуществляли на микропрепаратах, окрашенных гематоксилином и эозином. Для оценки выраженности фиброза использовали окраску пикрофуксином по Ван-Гизону.

Полученные препараты селезенки изучали с использованием бинокулярного светового микроскопа Carl Zeiss Axioskop 40 FL (Германия). При обзорной световой микроскопии оценивали воспалительные, дисрегенераторные (пролиферацию, гиперплазию), а также фиброзные процессы.

С помощью цифровой фотокамеры Canon Power Shot A 630 (Canon Inc., Japan) производили съемку гистологических препаратов (7–10 случайных полей зрения для каждого среза). Цифровые фотографии подвергали морфометрическому исследованию с использованием компьютерной программы ImageJ 1.43 (режим доступа: <http://www.rsbl.info.nih.gov/ij/>) с оценкой удельных объемов (VO) ($\text{мм}^3/\text{мм}^3$) красной и белой пульпы, сосудов и соединительной ткани. При помощи плагина Cell программы ImageJ на 1 мм^2 в ткани исследуемых органов подсчитывали плотность клеточного инфильтрата.

Кусочки ткани селезенки использовали для приготовления мазков-отпечатков с последующей микроскопией. Отпечатки селезенки выполняли по стандартной методике с окраской азури-II и эозином по Нохту–Максимову.

Этическая экспертиза

Проведение данного исследования одобрено Этическим комитетом СибГМУ (протокол № 2029 от 20.06.2011 г.).

Статистический анализ

Принципы расчета размера выборки

Размер выборки составил 45 животных. Число животных на каждой контрольной точке (5) соответствует минимальному числу для статистически достоверного анализа.

Методы статистического анализа данных

Анализ количественных данных исследуемых групп выполняли с использованием статистического пакета STATISTICA v. 6.0 (StatSoft Inc., США) при помощи критерия Крускала–Уоллиса (при сравнении более двух контрольных точек) и непараметрического критерия Манна–Уитни (при сравнении двух контрольных точек) для оценки значимости различий при пороговом уровне значимости $p = 0,05$. Поскольку большая часть данных не подчиняется нормальному закону распределения (согласно критерию Шапиро–Уилка, $p < 0,001$), то они представлены в виде медианы и квартилей (процентилей), Me [Q1; Q3].

Результаты

Объект исследования

Эксперимент проведен на 45 кроликах-самцах массой 3000–3200 г (средняя масса 3100 [3050; 3170]). Животные были разделены на 2 группы. В 1-ю группу (контрольную; $n = 5$) вошли интактные животные без оперативного вмешательства; во 2-ю группу (экспериментальную, $n = 40$, по 5 животных на каждую контрольную

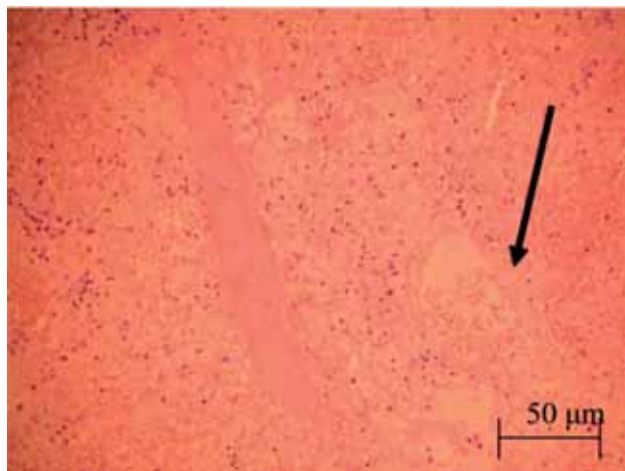


Рис. 1. Селезенка кролика на 3-и сут после гемостаза неравновесной плазмой. Нарушение структурной архитектоники паренхимы селезенки. Скопление отечной жидкости в красной пульпе селезенки.

Примечание. Стрелкой указаны расширенные сосуды со сладж-комплексами. Окраска гематоксилином-эозином.

ную точку) — животные после атипичной резекции селезенки и гемостаза неравновесной плазмой. Контрольные точки после оперативного вмешательства — 60 мин, 3, 5, 7, 14, 30, 90, 180-е сут.

Основные результаты исследования

Всем животным из экспериментальной группы выполняли ОАК до 30-х сут исследования, т.к. к этому периоду времени показатели нормализовались. В ходе эксперимента отмечалось значимое повышение относительного числа сегментоядерных нейтрофилов до 38 [24; 39] (группа контроля 17 [13; 18], $p = 0,009$) и моноцитов до 15 [14; 18] (группа контроля 8 [6; 11], $p = 0,036$). В остальные сроки значимых изменений исследованных показателей не установлено.

В гистологической картине на 3-и сут отмечали выраженные явления отека, разволокнение коллагеновых волокон, очаговый полиморфно-клеточный инфильтрат. Реологические изменения проявлялись в виде сладжа и стаза сосудов микроциркуляторного русла (рис. 1).

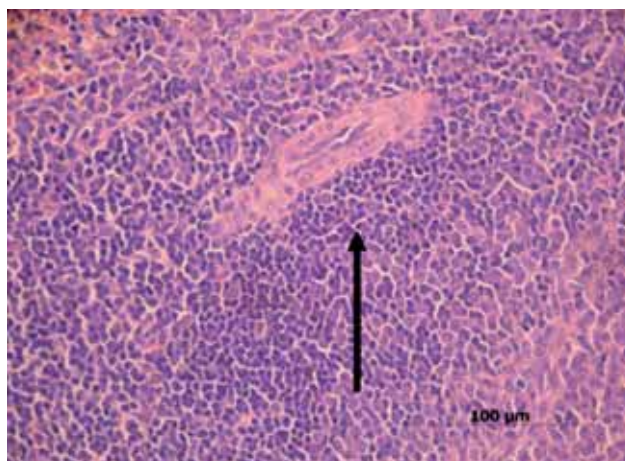


Рис. 2. Селезенка кролика на 5-е сут после гемостаза неравновесной плазмой. Расширение просвета, набухание эндотелиальных клеток и укрупнение ядер гладких миоцитов в центральной вене селезенки (указано стрелкой).

Примечание. Окраска гематоксилином-эозином.

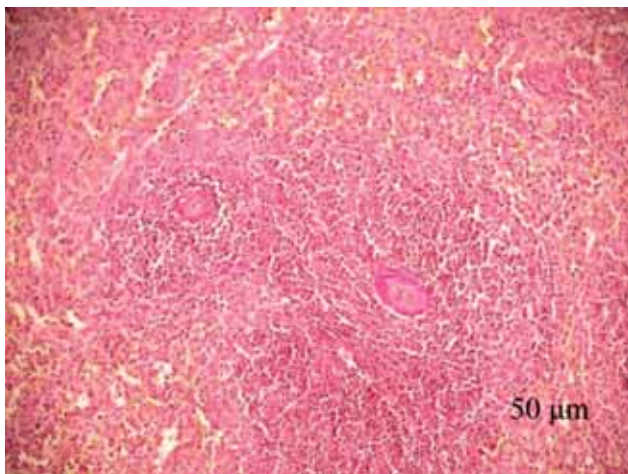


Рис. 3. Селезенка кролика на 14-е сут после гемостаза неравно-весной плазмой. Разрастание соединительной ткани в белой пульпе селезенки с преимущественной локализацией вокруг центральной вены с полным стенозом ее просвета.

Примечание. Окраска пикрофуксином по Ван-Гизону.

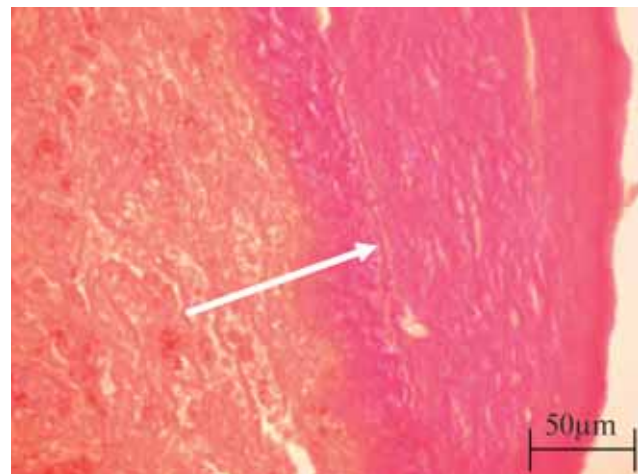


Рис. 4. Селезенка кролика на 90-е сут после гемостаза неравно-весной плазмой. Утолщение капсулы селезенки за счет выраженного фиброза.

Примечание. Окраска пикрофуксином по Ван-Гизону.

К 5-м и 7-м сут зарегистрировано изменение структуры красной и белой пульпы за счет выраженного отека. В белой пульпе — отечная жидкость вокруг лимфатических фолликулов. В некоторых участках органа — выраженное расширение центральной вены с признаками набухания эндотелиоцитов и гипертрофией гладкомышечных клеток в ней (рис. 2). На 7-е сут отчетливо определялось утолщение капсулы селезенки за счет отека и разволокнения коллагеновых волокон.

На 14-е и 30-е сут сосудистые изменения были выражены слабо, при этом касались преимущественно синусоидных капилляров. В белой пульпе между фолликулами определялось небольшое количество отечной жидкости. Вокруг центральной артерии селезенки располагались небольшие пучки коллагеновых волокон (рис. 3). В красной пульпе синусоидные капилляры расширены, между ними — небольшие пучки коллагеновых волокон, единичные скопления сегментоядерных нейтрофилов.

К 90-м сут наблюдали полное разрушение красной и белой пульпы, границы между этими двумя гистологи-

ческими структурами отсутствовали. В белой пульпе невозможно идентифицировать фолликулы, а лимфоциты и плазматические клетки были расположены диффузно. Выраженные признаки фиброза (рис. 4).

На 180-е сут определялась селезенка обычного строения. В ней можно было выделить красную и белую пульпу. Соединительнотканная капсула имела типичное строение.

При анализе независимых данных (больше двух групп исследования) с использованием критерия Крускала–Уо-лиса установили, что все морфометрические показатели имеют значимые различия во всех группах ($p < 0,001$). При оценке данных экспериментальной группы и группы контроля на 3-и сут выявлено значимое различие по всем показателям. Показатели удельного объема (УО) белой ($p < 0,001$) и красной пульпы ($p = 0,003$) уменьшились на 46,9 и 12,5%, а УО сосудов, напротив, увеличился в 3 раза по сравнению с данными контрольных животных (табл. 1).

На 5-е и 7-е сут после операции отмечено значимое ($p < 0,001$) увеличение УО соединительной ткани — до 9,42 [7,79; 18,0], УО белой пульпы, на 5-е сут значимо ниже

Таблица 1. Тканевые показатели патологических процессов ткани селезенки после гемостаза неравновесной плазмой

Сроки	Показатель	УО белой пульпы, мм ³ /мм ³	УО красной пульпы, мм ³ /мм ³	УО соединительной ткани, мм ³ /мм ³	УО сосудов, мм ³ /мм ³
Контроль		64,1 [60,7; 73,5]	73,35 [68,7; 83,3]	0,0 [0,0; 0,0]	4,32 [3,28; 5,26]
3-и сут		34,11 [31,48; 41,4]; $p < 0,001$	46,74 [44,14; 54,04]; $p = 0,003$	3,27 [2,51; 9,34]; $p < 0,001$	12,25 [9,26; 14,48]; $p < 0,001$
5-е сут		41,095 [38,22; 44,34]; $p < 0,001$	34,12 [29,69; 44,65]; $p = 0,001$	9,42 [7,79; 18,0]; $p < 0,001$	9,81 [8,26; 11,58]; $p = 0,002$
7-е сут		60,33 [56,75; 65,83]; $p = 0,326$	15,88 [12,24; 19,14]; $p < 0,001$	16,065 [13,16; 18,25]; $p < 0,001$	9,49 [7,13; 12,14]; $p = 0,002$
14-е сут		43,23 [40,12; 46,42]; $p = 0,001$	19,41 [18,22; 24,23]; $p < 0,001$	17,39 [11,97; 20,95]; $p < 0,001$	18,26 [12,26; 20,83]; $p < 0,001$
30-е сут		20,94 [15,64; 28,32]; $p < 0,001$	16,94 [12,11; 21,46]; $p < 0,001$	52,42 [48,44; 57,83]; $p < 0,001$	5,16 [3,96; 5,95]; $p = 0,650$
90-е сут		30,83 [21,35; 38,45]; $p < 0,001$	24,45 [23,62; 35,12]; $p < 0,001$	36,14 [33,12; 43,14]; $p < 0,001$	3,7 [3,12; 5,95]; $p = 0,326$
180-е сут		50,96 [47,24; 56,57]; $p = 0,005$	22,95 [20,5; 26,5]; $p < 0,001$	22,9 [19,26; 28,1]; $p < 0,001$	4,17 [3,16; 5,13]; $p = 0,364$

Примечание. УО — удельный объем. Представлено значение p при сравнении экспериментальной группы в различные сроки с контролем.

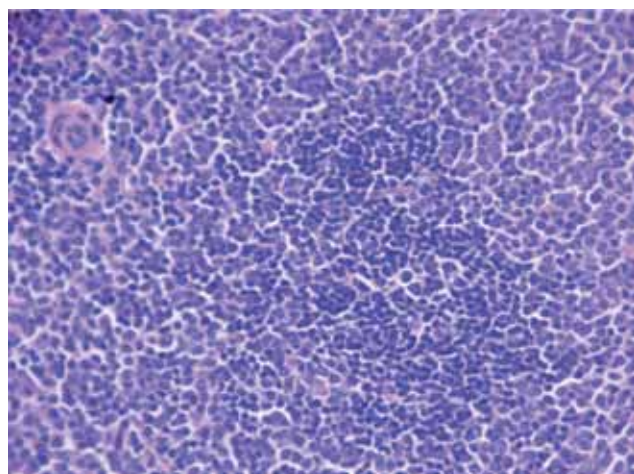


Рис. 5. Селезенка кролика на 180-е сут после гемостаза неравновесной плазмой. Белая пульпа селезенки типичного строения.

Примечание. Окраска гематоксилином-эозином.

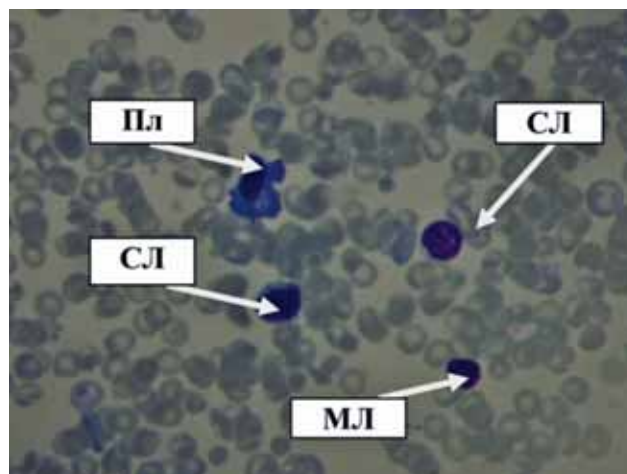


Рис. 6. Отпечаток селезенки кролика на 1-й мин после гемостаза неравновесной плазмой.

Примечание. Стрелкой указаны: Пл — плазматическая клетка, СЛ — средний лимфоцит, МЛ — малый лимфоцит. Ув. 1000. Окраска по Нохту–Максимуму.

596

значений контроля ($p < 0,001$), к 7-м сут восстанавливался до контрольных величин. Показатель УО красной пульпы продолжал снижаться ($p = 0,002$) и составлял 34,12 [29,69; 44,65], показатель УО сосудов незначительно снижался по сравнению с предыдущим сроком, но превышал контрольные значения (см. табл. 1).

На 14-е и 30-е сут показатель УО красной и белой пульпы значимо ($p < 0,001$) снижался до 19,41 [18,22; 24,23] по сравнению с предыдущими сроками и контрольной группой. В то же время на данных сроках исследования показатель УО сосудов и соединительной ткани увеличивался и достигал своего максимального значения — 18,26 [12,26; 20,83] для сосудов ($p < 0,001$) и 52,42 [48,44; 57,83] для соединительной ткани (см. табл. 1).

К 90-м сут среди показателей УО красной и белой пульпы зафиксирована тенденция к восстановлению ($p < 0,001$), однако в последний контрольный срок, на 180-е сут, они оставались значимо ($p < 0,001$) ниже контрольных и составляли 22,95 [20,5; 26,5] и 50,96 [47,24; 56,57], соответственно (рис. 5). Показатель УО

соединительной ткани имел схожую динамику, и к 180-м сут ($p < 0,001$) снижался в сравнении с предыдущими сроками, однако оставался выше показателей контроля (см. табл. 1).

Анализ спленограмм (табл. 2) показал значимое ($p = 0,023$) снижение лишь относительного числа малых лимфоцитов по сравнению с показателями контроля на 1-й мин после гемостаза неравновесной плазмой (рис. 6). Относительное число малых лимфоцитов снизилось на 28% (23,3 [17,9; 26,7] в экспериментальной группе против 30,8 [29,25; 34,3] в контроле).

Дополнительные результаты исследования

Достижение гемостаза селезенки при экспериментальном оперативном вмешательстве наступало через 1,5–2 мин обработки плазменным потоком кровоточащей поверхности.

Объем кровопотери в ходе оперативного вмешательства на селезенке с гемостазом неравновесной плазмой составил 16,6 [15,98; 17,22] мл.

Таблица 2. Спленограмма, выполненная у кроликов после гемостаза неравновесной плазмой

Клетки \ Группы	Контроль	Гемостаз неравновесной плазмой	Значение p
Незрелые нейтрофилы	0,4 [0,35; 1]	0,4 [0,3; 0,7]	0,699
Зрелые нейтрофилы	9 [7,85; 11,65]	12,8 [10,7; 14,7]	0,131
Ретикулярные клетки	0,2 [0,1; 0,25]	0,1 [0; 0,2]	0,308
Лимфобласты	8,4 [5,35; 11,5]	11,7 [10,5; 12,4]	0,257
Средние лимфоциты	39,2 [36,65; 44,8]	43,3 [41,5; 45,3]	0,345
Малые лимфоциты	30,8 [29,25; 34,3]	23,3 [17,9; 26,7]^	0,023
Эозинофилы	0,6 [0,4; 1,5]	0,2 [0,1; 0,3]	0,068
Макрофаги	0,4 [0,35; 0,55]	0,4 [0,2; 0,5]	0,627
Моноциты	4,9 [4,8; 5,25]	6,1 [4,9; 7,3]	0,252
Эритроидные клетки	0,5 [0,4; 0,7]	1,3 [0,6; 2,1]	0,126
Плазмоциты	1,2 [1,1; 1,7]	1,5 [1,1; 1,8]	0,625

Примечание: ^ — статистически значимые различия между группами.

Нежелательные явления

В ходе проведения исследования нежелательные явления не зарегистрированы.

Обсуждение

Коагуляция неравновесной плазмой является эффективным методом гемостаза при ранениях и травмах селезенки. Воздействие неравновесной плазмой приводит к минимальным патологическим изменениям, нивелирующимся спустя некоторое время.

После выполнения атипичной резекции селезенки с последующей остановкой кровотечения неравновесной плазмой резецированный орган получает значительную механическую травму, а также воздействие физических факторов, таких как OH, NO, N₂⁺, атомарный кислород и др. [10].

Ряд исследователей проводили сравнительные эксперименты по оценке повреждающего действия коагуляторов, из них наиболее современной можно считать работу ученых из университета Ганновера T. Saugus и K. Raschebrandt. Исследование было связано с оценкой эффективности гемостаза и повреждающего действия на ткань паренхиматозных органов моно-, биполярного, «холодно-плазменного» и ультразвукового коагуляторов [8]. В своей работе они пришли к выводу, что гемостаз может быть достигнут моно-, биполярной и «холодно-плазменной» коагуляцией. Ультразвуковая коагуляция больше подходит для рассечения тканей, а коагуляция изолированных сосудов не приводит к достаточному гемостазу при кровотечениях с больших площадей. Биполярный метод является наиболее эффективным с минимальным повреждающим действием [8]. В то же время G. Fridman (2006) и S. Kalghatgi (2007) в своих работах рассматривают неравновесную плазму как селективный метод коагуляции с отсутствием ожогов и глубоких повреждений тканей [13–15].

В ходе проведенных экспериментальных исследований и сравнительного анализа полученных данных была предпринята попытка сопоставления опыта предыдущих исследователей с результатами настоящей работы. В доступной нам литературе не встретилось работ, описывающих подобные результаты.

При травмах или оперативных вмешательствах на селезенке происходит выраженное кровотечение из-за особенностей строения паренхимы органа и его кровоснабжения, что часто вынуждает хирургов к полному удалению селезенки. Воздействие холодной плазмы в данном случае приводит к эффективной и полной коагуляции за счет комплексного воздействия на систему гемостаза [13, 16]. При этом непосредственного контакта электрода с обрабатываемой поверхностью не происходит, и струп не образуется, что нивелирует все отрицательные эффекты, связанные с припайиванием тканей к электроду коагулятора с последующим отрывом струпа и рецидивом кровотечения. Таким образом, коагуляция кровоточащей раневой поверхности селезенки плазменным потоком в эксперименте в течение 1,5–2 мин позволяет выполнять органосохраняющие операции.

На 3-и сут после воздействия неравновесной плазмой на паренхиму селезенки кролика нами были обнаружены выраженные сосудистые изменения с нарушением структуры белой и красной пульпы, выраженность которых постепенно уменьшалась (к 7-м сут), что может быть связано с угнетением экссудативной фазы воспаления и восстановлением лимфоидных фолликулов.

Согласно нашим данным, на 14-е сут исследования в паренхиме селезенки отмечалось увеличение УО соединительной ткани и сосудов. Изменение этих параметров в паренхиме селезенки, вероятно, связано с развитием «молодой соединительной ткани» с большим числом кровеносных сосудов. Важно отметить, что на 30-е сут исследования в паренхиме селезенки подопытных кроликов УО соединительной ткани увеличивался, а сосудов, напротив, уменьшался по сравнению с предыдущими сроками и с контрольными животными, что, возможно, связано с «уплотнением» рубца. При исследовании паренхимы селезенки после воздействия неравновесной плазмой в отдаленные сроки показатели структурной организации белой и красной пульпы, а также соединительной ткани и сосудов не отличались от 30-х сут исследования.

Согласно общей неспецифической адаптационной теории [17], в ответ на действие различных по качеству раздражителей, к которым можно отнести и воздействие неравновесной плазмы, развивается реакция активации, характеризующаяся подъемом активности защитных и регуляторных подсистем организма; реакция активации несет основную антистрессовую функцию [17]. Результатом реакции активации, возможно, и объясняются обнаруженные нами изменения со стороны малых форм лимфоцитов у экспериментальных животных.

Ограничения исследования

Полученные результаты применимы только при оперативном вмешательстве на животных мелкого и среднего размера. При коагуляции кровотечений из селезенки человека необходимо существенное изменение параметров плазменного коагулятора (конфигурация электродов, мощность заряда и т.д.) и проведение соответствующих клинических исследований.

Заключение

Для достижения эффективного гемостаза при ранениях и травмах селезенки в эксперименте необходима обработка плазменным потоком кровоточащей поверхности в течение 1,5–2 мин.

После гемостаза неравновесной плазмой отмечается минимальное повреждение паренхимы селезенки, проявляющееся в первые минуты после воздействия реакцией активации. В отдаленные сроки паренхима селезенки полностью регенерирует с образованием соединительнотканного рубца, который не нарушает функционирование органа.

Полученные результаты могут быть использованы для разработки плазменного коагулятора при оперативных вмешательствах на паренхиматозных органах человека и проведения соответствующих клинических испытаний с целью последующего внедрения данной технологии в медицину.

Источник финансирования

Исследование выполнено при финансовой поддержке программы «Приоритет 2012 Фонд содействия развитию малых форм предприятий в НТС. Проведение НИ-ОКР по государственному контракту № 10848р/19772 от 13.08.2012 г.»

Конфликт интересов

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

ЛИТЕРАТУРА

1. Попов В.А. Гемостаз и герметизация швов (операции на внутренних органах). М.: ГЭОТАР-Медиа. 2008. 320 с.
2. Савельев В.С., Кириенко А.И. Клиническая хирургия. Национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа. 2009. Т. II. 401 с.
3. Ahmed N., Vernick J.J. Management of liver trauma in adults. *J. Emerg. Trauma and Shock*. 2011; 4 (1): 114–119.
4. Alkozai E.M., Lisman T., Porte R. J. Bleeding in liver surgery: prevention and treatment. *Clin. Liver Dis*. 2009; 13 (1): 145–154.
5. Махнев А.В., Стрелин С.А., Шнейдер В.Э., Волкова Ю.Л. Патент на изобретение RUS 2421159 22.06.2009. Способ остановки кровотечения при травмах печени. Опубл. 27.12. 2010.
6. Кубачёв К.Г., Кукушкин А.В. Диагностика и хирургическая тактика при изолированной и сочетанной травме печени. *Сибирский медицинский журнал (Иркутск)*. 2010; 92 (1): 119–122.
7. Щёголев А.А., Платонов Д.В., Марущак Е.А. Закрытая абдоминальная травма: тактика хирурга при повреждениях печени и селезенки. *Лечебное дело*. 2007; 3: 73–78.
8. Carus T., Rackebrandt K. Collateral tissue damage by several types of coagulation (monopolar, bipolar, cold plasma and ultrasonic) in a minimally invasive, perfused liver model. *ISRN Surg*. 2011; 2011: 518924.
9. Choi S.H., Lee J.M., Lee K.H., Kim S.H., Lee J.Y., Han J.K., Choi B.I. Postbiopsy splenic bleeding in a dog model: comparison of cauterization, embolization, and plugging of the needle tract. *Am. J. Roentgenol*. 2005. 185 (4): 878–884.
10. Денеко О.И., Алейник А.Н., Семичев Е.В. Плазменная медицина. Учебное пособие. Saarbrücken: Palmarium Academic Publishing. 2013. 93 с.
11. Семичев Е.В., Бородин О.Ю., Бушланов П.С. Экспериментальная хирургия паренхиматозных органов (обзор литературы). *Русский медицинский журнал*. 2012; 20 (36): 1743–1746.
12. Тихонов В.И., Попов О.С., Шпилевой П.К. Кровотечение. Переливание крови. Учебно-методическое пособие. Томск: ТГУ. 2005. 148 с.
13. Kalghatgi S.U., Fridman G., Cooper M., Nagaraj G., Peddinghaus M., Balasubramanian M., Vasilets V.N., Gutsol A.F., Fridman A., Friedman G. Mechanism of Blood Coagulation by Nonthermal Atmospheric Pressure Dielectric Barrier Discharge Plasma. *IEEE 34th International Conference*. 2007. 674 p.
14. Balasubramanian M., Fridman G., Brooks Ari D., Fridman A., Gutsol A.F., Vasilets V.N., Halim A., Friedman G. Comparison of Direct and Indirect Effects of Non-Thermal Atmospheric-Pressure Plasma on Bacteria. *Plasma Process Polym*. 2007; 4: 370–375.
15. Fridman G., Friedman G., Gutsol A.F., Shekhter A.B., Vasilets V.N., Fridman A. Applied Plasma Medicine. *Plasma Process Polym*. 2008; 5: 503–533
16. Moldoveanu C., Geavlete B., Jecu M. Stanescu F., Adou L., Bulai C. Bipolar plasma vaporization versus monopolar TUR and «cold-knife» TUI in secondary bladder neck sclerosis — An evidence based, retrospective critical comparison in a single center clinical setting. *J. Med. Life*. 2014. 7 (1): 94–99.
17. Гонохова М.Н., Бойко Т.В., Ельцова А.А. Сравнительная цитоморфологическая характеристика селезенки крыс при воздействии пестицидов. *Современные проблемы науки и образования*. 2013; 6: 1056.

598

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Семичев Евгений Васильевич, кандидат медицинских наук, научный сотрудник ЦНИЛ СибГМУ
 Адрес: 634050, Томск, Московский тракт, д. 2, тел.: +7 (923) 401-81-60, e-mail: evsemichev@yandex.ru

Байков Александр Николаевич, заведующий ЦНИЛ СибГМУ
 Адрес: 634050, Томск, Московский тракт, д. 2, тел.: +7 (3822) 911-101, e-mail: baikov47@mail.ru

Шевцова Наталья Михайловна, старший научный сотрудник ЦНИЛ СибГМУ
 Адрес: 634050, Томск, Московский тракт, д. 2, тел.: +7 (3822) 911-101, e-mail: nata_m_shevtsova@mail.ru

Бушланов Павел Сергеевич, клинический ординатор кафедры хирургических болезней педиатрического факультета СибГМУ
 Адрес: 634050, Томск, Московский тракт, д. 2, тел.: +7 (3822) 911-101, e-mail: pavel.vivian@gmail.com

Геренг Елена Андреевна, старший научный сотрудник ЦНИЛ СибГМУ
 Адрес: 634050, Томск, Московский тракт, д. 2, тел.: +7 (3822) 911-101, e-mail: e-gereng@mail.ru

Алейник Александр Никонорович, старший научный сотрудник кафедры прикладной физики ФТИ ТПУ
 Адрес: 634050, Томск, пр-т Ленина, д. 30, тел.: +7 (3822) 60-63-33, e-mail: aleinikan@mail.ru

DOI: 10.15690/vramn.v70.i5.1448

О.Н. Сергеева, Н.П. Чеснокова, Е.В. Понукалина, И.Е. Рогожина, Т.Н. Глухова

Саратовский государственный медицинский университет им. В.И. Разумовского, Саратов, Российская Федерация

Патогенетическая взаимосвязь эндотелиальной дисфункции и нарушений коагуляционного потенциала крови при беременности, осложненной развитием преэклампсии

До настоящего момента отсутствуют систематизированные сведения о роли эндотелиальной дисфункции в механизмах расстройств коагуляционного потенциала крови и микроциркуляции в различных органах и тканях при преэклампсии. **Цель исследования:** расширить существующие принципы диагностики преэклампсии на основе установления роли эндотелиальной дисфункции в механизмах нарушения коагуляционного потенциала крови. **Методы:** проведено проспективное сравнительное исследование. Состояние процессов коагуляционного гемостаза изучено общепринятыми методами, показатели функциональной активности эндотелия (содержание метаболитов оксида азота, эндотелина I, тромбоспондина, тромбомодулина и молекул межклеточной адгезии в плазме крови) — методом твердофазного иммуноферментного анализа. **Результаты:** в основную группу были включены 55 пациенток с преэклампсией средней степени тяжести и 49 беременных с тяжелой преэклампсией, в контрольную — 40 женщин с физиологически протекающей беременностью. У пациенток с преэклампсией средней степени тяжести обнаружено увеличение содержания в плазме крови эндотелина I ($p < 0,001$), тромбоспондина ($p < 0,001$), молекул межклеточной адгезии ($p < 0,001$) при одновременном снижении уровня оксида азота ($p < 0,001$), а также увеличение времени фибринолиза ($p < 0,050$) и снижение международного нормализованного отношения ($p < 0,050$) по сравнению с показателями группы контроля. По мере нарастания тяжести преэклампсии отмечено прогрессирующее нарастание содержания в плазме крови пациенток эндотелина I ($p_1 < 0,020$), тромбоспондина ($p_1 < 0,001$), молекул межклеточной адгезии ($p_1 < 0,001$) и снижение концентрации метаболитов оксида азота ($p_1 < 0,001$) и тромбомодулина ($p_1 < 0,001$), сочетающееся с активацией прокоагулянтного звена системы гемостаза. **Заключение:** установлена патогенетическая взаимосвязь между развитием эндотелиальной дисфункции, нарушениями коагуляционного потенциала крови и степенью тяжести клинических признаков преэклампсии. Для расширения существующих принципов диагностики степени тяжести преэклампсии рекомендована оценка содержания эндотелина I, тромбомодулина, тромбоспондина, молекул межклеточной адгезии и метаболитов оксида азота в плазме крови, а также традиционных показателей оценки состояния системы гемостаза. **Ключевые слова:** беременность, преэклампсия, эндотелиальная дисфункция, коагуляционный потенциал крови.

(Для цитирования: Сергеева О.Н., Чеснокова Н.П., Понукалина Е.В., Рогожина И.Е., Глухова Т.Н. Патогенетическая взаимосвязь эндотелиальной дисфункции и нарушений коагуляционного потенциала крови при беременности, осложненной развитием преэклампсии. *Вестник РАМН*. 2015; 70 (5): 599–603. Doi: 10.15690/vramn.v70.i5.1448)

599

O.N. Sergeeva, N.P. Chesnokova, E.V. Ponukalina, I.E. Rogozhina, T.N. Glukhova

V.I. Razumovskii Saratov State Medical University, Saratov, Russian Federation

Pathogenetic Relationship between Endothelial Dysfunction and Disorders of Blood Coagulation Potential in Pregnancy Complicated by Pre-Eclampsia

Until now, there is no systematic information on the role of endothelial dysfunction in the mechanisms of disorders of blood coagulation potential and microcirculation in different organs and tissues in preeclampsia. **Objective:** Our aim was to extend the existing principles of diagnosis of pre-eclampsia by establishing the role of endothelial dysfunction in the mechanisms of blood coagulation potential violations. **Methods:** A prospective comparative study was performed. Condition of coagulation processes studied by conventional techniques, parameters of a functional endothelium (nitric oxide metabolites, endothelin I, thrombospondin, thrombomodulin and intercellular adhesion molecules in blood plasma) — by ELISA. **Results:** The study group included 55 patients with moderate preeclampsia and 49 pregnant women with severe pre-eclampsia, in the control group — 40 women with physiological pregnancy. In patients with pre-eclampsia moderate observed increase in plasma endothelin-1 ($p < 0.001$), thrombospondin ($p < 0.001$), intercellular adhesion molecules ($p < 0.001$) while reducing the level of nitrogen oxide ($p < 0.001$), increase in time of fibrinolysis ($p < 0.050$) and decreased international normalized ratio ($p < 0.050$) compared with the control group. With increasing severity of preeclampsia the researchers detected in blood plasma of patients a progressive increase in endothelin I ($p_1 < 0.020$), thrombospondin ($p_1 < 0.001$), intercellular adhesion molecules ($p_1 < 0.001$) and decrease of nitric oxide metabolites ($p_1 < 0.001$) and thrombomodulin ($p_1 < 0.001$); the last combined with the activation of procoagulant hemostasis. **Conclusion:** There is a pathogenetic relationship between the development of endothelial dysfunction, impaired blood coagulation potential and the severity of clinical signs of preeclampsia. To widen the number of existing techniques to diagnose the severity of pre-eclampsia we recommend to measure endothelin I, thrombomodulin, thrombospondin, intercellular adhesion molecules and nitric oxide metabolites in the blood plasma, and use traditional indicators to assess the hemostatic system.

Keywords: pregnancy, preeclampsia, endothelial dysfunction, blood coagulation potential.

For citation: Sergeeva O.N., Chesnokova N.P., Ponukalina E.V., Rogozhina I.E., Glukhova T.N. Pathogenetic Relationship between Endothelial Dysfunction and Disorders of Blood Coagulation Potential in Pregnancy Complicated by Pre-Eclampsia. *Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2015; 70 (5): 599–603. Doi: 10.15690/vramn.v70.i5.1448)

Обоснование

В настоящее время преэклампсия — одна из самых актуальных проблем современного акушерства ввиду широкой распространенности, сложности этиопатогенеза, недостаточной эффективности лечебно-профилактических мероприятий. Обращают на себя внимание и факты высокой частоты материнской и перинатальной заболеваемости и смертности, снижения индекса здоровья женщин, перенесших данное осложнение беременности [1–3]. В то же время очевидны существенные экономические затраты на проведение интенсивной терапии и реанимации пациенток с этой патологией [4, 5].

Как известно, доминирующими синдромами в клинической картине преэклампсии являются гипертензия, расстройства водно-солевого баланса, сочетающиеся с полиорганной недостаточностью по мере утяжеления патологии [6, 7]. Важное значение в механизмах расстройств микроциркуляции при преэклампсии отводится изменению коагуляционного потенциала и реологических свойств крови [8, 9], патогенетические механизмы развития которого требуют дальнейшего разрешения. В частности, до сих пор остается практически не изученной роль эндотелиальной дисфункции в механизмах расстройств регионарного кровотока и микроциркуляции в различных органах и тканях при преэклампсии.

Установлено, что эндотелий является местом синтеза биологически активных соединений, оказывающих вазодилатирующие и вазоконстрикторные эффекты. Эндотелий сосудов обладает также антикоагулянтной, антиагрегантной и фибринолитической активностью за счет синтеза простациклина, оксида азота, тканевого активатора плазминогена, урокиназы, тромбомодулина, протеинов С и S [10–13].

Вышеизложенное определило одну из задач нашего исследования: расширить существующие представления о патогенезе преэклампсии, в частности установить роль эндотелиальной дисфункции в расстройствах коагуляционного потенциала крови, являющегося одним из ведущих факторов обеспечения адекватной микроциркуляции, оксигенации и трофики тканей.

Целью исследования было расширить существующие принципы диагностики преэклампсии на основе установления роли эндотелиальной дисфункции в механизмах нарушения коагуляционного потенциала крови.

Методы

Дизайн исследования

Проведено проспективное сравнительное исследование.

Критерии соответствия

Критериями включения в основную группу исследования были результаты клинического, лабораторно-инструментального и ультразвукового обследования, необходимые при подозрении на преэклампсию.

В исследование не включали пациенток с артериальной гипертензией, признаками сердечной недостаточности, сахарным диабетом и другими эндокринопатиями.

Условия проведения

Исследование выполнено на базе Перинатального центра Саратовской области (Саратов).

Продолжительность исследования

Исследование проводили в период с 2012 по 2014 г.

Методы регистрации исходов

Для оценки про- и антикоагулянтной активности сосудистой стенки проводили определение содержания эндотелина 1, тромбомодулина, тромбоспондина, молекул межклеточной адгезии и метаболитов оксида азота в плазме крови.

Для определения эндотелина 1 в крови использованы тест-системы производства Biomedica (Австрия), для тромбомодулина — тест-системы фирмы Siemens Healthare Diagnostics (Германия), для тромбоспондина и метаболитов оксида азота — реактивы фирмы RnD Systems (Англия), для молекул межклеточной адгезии — реактивы фирмы Bender MedSystems (Австрия), все согласно инструкции производителя. Исследования проведены на анализаторе MD-6000 (Meredith Diagnostics, Великобритания) методом твердофазного иммуноферментного анализа.

Изучение состояния системы гемостаза проводили путем определения протромбинового индекса, активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ), международного нормализованного отношения (МНО), фибринолитической активности крови, содержания фибриногена в плазме крови.

Этическая экспертиза

Оценка клинико-лабораторных показателей у пациенток с преэклампсией и женщин контрольной группы проводилась с учетом их личного добровольного информированного согласия, что соответствует этическим принципам, установленным Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki, 2000). Получено разрешение Этического комитета Саратовского ГМУ им. В.И. Разумовского № 5 от 03.02.2015 г. на проведение исследования.

Статистический анализ

Статистическую обработку данных осуществляли с применением методов вариационной статистики: вычисляли средние арифметические величины (M), их ошибки (m), стандартные отклонения. Работу проводили с использованием пакета программ STATISTICA v. 5.5 A (StatSoft Inc., США). Ввиду нормальности распределения исследуемых величин значимость различий средних оценивали с помощью критерия Стьюдента для выборок разного объема. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Участники исследования

Обследованы 104 беременные с преэклампсией. Пациентки были разделены на 2 группы в соответствии в Международной классификацией болезней 10-го пересмотра: 1-ю группу составили 55 беременных с преэклампсией средней степени тяжести, 2-ю — 49 беременных с тяжелой преэклампсией.

По основным особенностям анамнеза, характеру репродуктивной функции, наследственности беременные в каждой группе наблюдения были сопоставимы между собой. Пациентки с преэклампсией находились в возрасте от 18 до 35 лет, средний возраст беременных с преэклампсией средней степени тяжести составил 27,2, с тяжелой преэклампсией — 26,7 года.

В контрольную группу вошли 40 женщин с физиологически протекающей беременностью аналогичного срока, возраст женщин группы контроля составлял от 19 до 33, средний возраст — 26,8 года.

Таблица 1. Характер изменения показателей эндотелиальной дисфункции у пациенток с преэклампсией

Показатели	Группы беременных		Пациентки с преэклампсией средней степени тяжести			Пациентки с тяжелой преэклампсией		
	Физиологическое течение беременности							
	<i>n</i>	<i>M±m</i>	<i>n</i>	<i>M±m</i>	<i>p</i>	<i>n</i>	<i>M±m</i>	<i>p</i>
Метаболиты оксида азота, мкМ/л	40	42,2±3,6	55	19,8±1,82	<i>p</i> < 0,001	49	5,4±0,46	<i>p</i> < 0,001 <i>p</i> ₁ < 0,001
Тромбомодулин, пг/мл	40	89,5±6,5	55	79,4±6,9	<i>p</i> > 0,5	49	52,6±4,5	<i>p</i> < 0,001 <i>p</i> ₁ < 0,001
Эндотелин 1, ммоль/мл	40	0,5±0,04	55	1,6±0,18	<i>p</i> < 0,001	49	2,4±0,17	<i>p</i> < 0,001 <i>p</i> ₁ < 0,020
Молекулы межклеточной адгезии, пг/мл	40	202±15,9	55	346±29,9	<i>p</i> < 0,001	49	585±34,1	<i>p</i> < 0,001 <i>p</i> ₁ < 0,001
Тромбоспондин, нг/мл	40	1,6±0,10	55	35±0,31	<i>p</i> < 0,001	49	5,8±0,39	<i>p</i> < 0,001 <i>p</i> ₁ < 0,001

Примечание (здесь и в табл. 2). *p* рассчитано по отношению к показателям женщин с физиологическим течением беременности; *p*₁ рассчитано по отношению к показателям беременных с преэклампсией средней степени тяжести.

Основные результаты исследования

У беременных с преэклампсией средней степени тяжести имело место снижение содержания метаболитов оксида азота в крови при одновременном возрастании концентрации эндотелина 1 (табл. 1). Одновременно было показано, что развитие преэклампсии средней степени тяжести сопровождается выраженным повышением содержания таких тромбогенных субстанций в крови, как тромбоспондин и молекулы межклеточной адгезии (см. табл. 1).

Полученные данные определили целесообразность установления патогенетической значимости эндотелиальной дисфункции в нарушениях коагуляционного потенциала крови в той же группе пациенток с преэклампсией средней степени тяжести. Как оказалось, чувствительными критериями инициации гиперкоагуляционных сдвигов и снижения фибринолитической активности крови при преэклампсии средней степени тяжести явились снижение показателя МНО и возрастание времени фибринолиза при отсутствии изменений других традиционных показателей системы гемостаза —

протромбинового индекса, АЧТВ, содержания в крови фибриногена (табл. 2).

Далее представлялось целесообразным установить, являются ли закономерными обнаруженные нами у пациенток с преэклампсией средней степени тяжести признаки эндотелиальной дисфункции при утяжелении клинической симптоматики преэклампсии. У пациенток с тяжелой преэклампсией выявлено прогрессирующее нарастание концентрации эндотелина 1, тромбоспондина и молекул межклеточной адгезии в плазме крови (см. табл. 1). Одновременно отмечено снижение уровня метаболитов оксида азота и тромбомодулина (см. табл. 1).

Изучение показателей коагуляционного потенциала крови и фибринолиза у беременных с тяжелой преэклампсией позволило определить разнонаправленные изменения со стороны про-, антикоагулянтной и фибринолитической системы. Так, у большинства пациенток с тяжелой преэклампсией (у 35 из 49 беременных, 71,4%) отмечено уменьшение показателей АЧТВ, МНО, повышение содержания фибриногена в крови, т. е. гиперкоагу-

601

Таблица 2. Характер изменения показателей системы гемостаза у беременных с преэклампсией

Показатели	Группы наблюдения		Пациентки с преэклампсией средней степени тяжести			Пациентки с тяжелой преэклампсией					
	Физиологическое течение беременности					1-я подгруппа			2-я подгруппа		
	<i>n</i>	<i>M±m</i>	<i>n</i>	<i>M±m</i>	<i>p</i>	<i>n</i>	<i>M±m</i>	<i>p</i>	<i>n</i>	<i>M±m</i>	<i>p</i>
Протромбиновый индекс, %	40	92±3,2	55	96±4,1	<i>p</i> > 0,5	35	102±2,9	<i>p</i> < 0,050 <i>p</i> ₁ > 0,5	14	82±2,8	<i>p</i> < 0,050 <i>p</i> ₁ < 0,050
Международное нормализованное отношение, усл.ед.	40	1,15±0,09	55	0,9±0,08	<i>p</i> < 0,050	35	0,76±0,06	<i>p</i> < 0,001 <i>p</i> ₁ > 0,5	14	1,3±0,11	<i>p</i> > 0,5 <i>p</i> ₁ < 0,020
Активированное частичное тромбопластиновое время, с	40	34,0±2,4	55	29,1±2,41	<i>p</i> > 0,5	35	26,5±2,20	<i>p</i> < 0,050 <i>p</i> ₁ > 0,5	14	42,8±2,30	<i>p</i> < 0,050 <i>p</i> ₁ < 0,001
Фибриноген, г/л	40	3,8±0,21	55	4,4±0,20	<i>p</i> > 0,5	35	5,6±0,19	<i>p</i> < 0,001 <i>p</i> ₁ < 0,001	14	2,4±0,21	<i>p</i> < 0,001 <i>p</i> ₁ < 0,001
Фибринолитическая активность, мин	40	6,8±0,45	55	8,8±0,60	<i>p</i> < 0,050	35	10,5±0,55	<i>p</i> < 0,001 <i>p</i> ₁ < 0,050	14	4,8±0,30	<i>p</i> < 0,001 <i>p</i> ₁ < 0,001

ляционные сдвиги в системе гемостаза на фоне подавления фибринолитических реакций (см. табл. 2).

В то же время у 14 из 49 (28,6%) женщин с тяжелым течением преэклампсии имела место изокоагуляция, не свойственная данному сроку беременности (см. табл. 2). АЧТВ у беременных данной подгруппы резко увеличилось, выявлено также уменьшение содержания фибриногена в крови, повышение фибринолитической активности крови по сравнению с аналогичными показателями беременных с преэклампсией средней степени тяжести (см. табл. 2).

Обсуждение

Результаты проведенных нами исследований свидетельствуют о развитии у пациенток с преэклампсией выраженной дисрегуляции сосудистого тонуса, обусловленной увеличением содержания в крови эндотелина 1 при одновременном снижении уровня метаболитов оксида азота. Как известно, оксид азота обладает свойствами антиоксиданта, вазодилатора, препятствует развитию агрегации тромбоцитов [14]. В то же время эндотелин 1 антагонизирует вазодилатирующие эффекты оксида азота [11].

602

До настоящего момента не систематизированы данные о роли нарушения синтеза оксида азота в патогенезе развития гипертензивного синдрома у беременных. Многие исследователи указывают на снижение NO-синтазной активности в плаценте и, соответственно, содержания метаболитов оксида азота в крови беременных с преэклампсией [6, 11]. Однако Л.А. Иванова и соавт. отмечают нарастание NO-синтазной активности в крови при этой патологии, повышение концентрации оксида азота и его метаболитов, что авторы объясняют компенсаторными механизмами [15].

Проведенное нами изучение функционального состояния сосудистой стенки пациенток с преэклампсией позволило обнаружить повышение содержания в крови тромбоспондина, который, согласно данным литературы, антагонизирует влияние оксида азота на тромбогенную активность сосудистой стенки [16, 17].

Результаты относительно снижения уровня тромбомодулина в крови пациенток с преэклампсией согласуются с данными, полученными Э.К. Айламазяном, Е.В. Мозговой [18]. Следует отметить, что тромбомодулин — интегральный гликопротеин плазменной мембраны эндотелиальных клеток, являющийся высокоаффинным рецептором тромбина. Связанный с тромбомодулином тромбин в результате изменения конформации активного центра приобретает повышенную чувствительность в отношении инактивации его антитромбином III и полностью теряет способность взаимодействовать с фибриногеном и активировать тромбоциты [11]. Таким образом, недостаточное образование тромбомодулина в эндотелии у пациенток с тяжелой преэклампсией — один из факторов риска развития тромбофилии.

Следует отметить, что концентрация растворимых молекул межклеточной адгезии на поверхности эндотелиальных клеток увеличивается при действии различных факторов, активирующих эндотелий, в т.ч. провоспалительных цитокинов [19]. В отношении биологического значения обнаруженного нами феномена следует отметить, что повышение содержания растворимых молекул межклеточной адгезии в крови беременных с преэклампсией является фактором активации краевого стояния форменных элементов крови и последующей миграции лейкоцитов [19].

Таким образом, результаты исследования убедительно свидетельствуют о развитии эндотелиальной дисфункции при беременности, осложненной развитием преэклампсии, манифестирующим признаком которой является усиление синтеза эндотелием вазоконстрикторных, тромбогенных субстанций и адгезивных молекул при одновременном снижении содержания оксида азота, обладающего антитромбогенным и вазодилатирующим действием.

Активация свертывающей системы крови при развитии эндотелиальной дисфункции у беременных с преэклампсией является закономерной, поскольку стимуляция эндотелиальных клеток вызывает экспрессию фосфолипидов на их поверхности, и в последующем, через ряд реакций свертывания, адгезию тромбоцитов [20].

У подавляющего большинства беременных с преэклампсией были установлены гиперкоагуляционные сдвиги в системе гемостаза, но тем не менее у ряда пациенток с признаками тяжелой преэклампсии имела место изокоагуляция, не свойственная данному сроку беременности.

Следует отметить, что существенные изменения коагуляционного потенциала и фибринолитических свойств крови у беременных с преэклампсией отмечены в исследованиях ряда авторов. Так, J.M. Davidson и соавт. [2] и F.V. Pettit и соавт. [5] сообщают о гиперкоагуляционных сдвигах в системе гемостаза при преэклампсии. В то же время С.В. Кинжалова и соавт. выявили у пациенток с тяжелой преэклампсией снижение гемостатических свойств тромба, удлинение времени образования протромбиназы, снижение содержания фибриногена и фибринолитической активности по сравнению с контрольной группой [8]. В проведенном нами исследовании у подавляющего большинства беременных с тяжелой преэклампсией отмечены гиперкоагуляционные сдвиги в виде уменьшения АЧТВ, МНО, повышения содержания фибриногена в крови на фоне подавления фибринолитических реакций, однако у ряда пациенток с признаками тяжелой преэклампсии имела место изокоагуляция, не свойственная данному сроку беременности. Подобные изменения в системе гемостаза у беременных с тяжелой преэклампсией мы расценили как стадии течения ДВС-синдрома, характерного для данной гестационной патологии.

Заключение

Результаты нами исследования позволили заключить, что нарушение коагуляционного потенциала крови у пациенток с преэклампсией средней степени тяжести и тяжелой преэклампсией сочетаются с развитием эндотелиальной дисфункции.

Установление патогенетической взаимосвязи между тяжестью клинических проявлений преэклампсии и развитием эндотелиальной дисфункции, нарушениями коагуляционного потенциала крови позволяет рекомендовать новые критерии диагностики и прогнозирования течения указанной патологии гестационного периода. В этих целях необходим мониторинг показателей состояния системы гемостаза, а также уровня эндотелина 1, тромбомодулина, тромбоспондина, молекул межклеточной адгезии и метаболитов оксида азота в плазме крови.

Конфликт интересов

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

ЛИТЕРАТУРА

1. Макаров О.В., Ткачёва О.Н., Волкова Е.В. Преэклампсия и хроническая артериальная гипертензия у беременных. Руководство для врачей. М.: Наука. 2010. 131 с.
2. Davison J.M., Nomuth V., Jeyabalan A. New aspects in the pathophysiology of preeclampsia. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2014; 15: 2440–2448.
3. Uzan J., Carbonnel M., Piconne O. Pre-eclampsia: pathophysiology, diagnosis, and management. *Vasc. Health Risk Manag.* 2011; 7: 467–474.
4. Lenfant C. National Education Program Working Group on High Blood Pressure in Pregnancy. Working group report on high blood pressure in pregnancy. *J. Clin. Hypertens.* 2013; 3 (2): 75–88.
5. Pettit F.B., Brown M.A. The management of pre-eclampsia: what we think we know. *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 2012; 160 (1): 6–12.
6. Сергеева О.Н., Глухова Т.Н., Понукалина Е.В. Значение нарушений гуморальной регуляции сосудистого тонуса при гестозе. *Международный журнал экспериментального образования.* 2014; 5 (2): 45–47.
7. Mustafa R., Ahmed S., Gupta A., Venuto R.C. A comprehensive review of hypertension in pregnancy. *J. Pregnancy.* 2012; 10: 59–65.
8. Кинжалова С.В., Пестряева Л.А., Макаров Р.А., Борисова С.В. Состояние системы гемостаза у беременных с гипертензивными нарушениями. *Тромбоз, гемостаз и реология.* 2014; 57: 70–74.
9. Сергеева О.Н., Глухова Т.Н., Понукалина Е.В. О состоянии коагуляционного звена системы гемостаза при гестозе. *Фундаментальные исследования.* 2014; 12 (2): 327–330.
10. Зайчик А.Ш., Чурилов Л.П. Основы общей патологии. Ч. I. СПб.: ЭЛБИ. 1999. 618 с.
11. Петрищев Н.Н., Власов Т.Д. Дисфункция эндотелия. Причины, механизмы, фармакологическая коррекция. СПб.: СПбГМУ. 2003. 55 с.
12. Lamarca B. Endothelial dysfunction. An important mediator in the pathophysiology of hypertension during pre-eclampsia. *Minerva Ginecol.* 2012; 64 (4): 309–320.
13. Шеманаева Т.В. Клинико-диагностическое и прогностическое значение маркеров эндотелиоза при гестозе. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М. 2008. 24 с.
14. Лямина Н.П., Сенчихин В.Н., Силягина А.Г. Оксид азота и артериальная гипертензия. *Международный медицинский журнал.* 2002; 1–2: 218–223.
15. Иванова Л.А., Кисина Т.Е., Мозговая Е.В. Роль адгезивных молекул в патогенезе гестоза. Актуальные вопросы клинической и экспериментальной медицины. Сборник тезисов. СПб.: СПбМАПО. 2002. С. 200–202.
16. Кузнецова С.А., Крылов А.В., Киселёва Е.П. Иммунорегуляторные свойства тромбоспондина-1, компонента внеклеточного матрикса и ингибитора ангиогенеза. *Медицинская иммунология.* 2008; 10 (6): 499–506.
17. Adams J.C., Lawler J. The thrombospondins. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2004; 36: 961–968.
18. Айламазян Э.К., Мозговая Е.В. Гестоз: теория и практика. М.: Медпресс-информ. 2008. 272 с.
19. Galkina E., Ley K. Vascular adhesion molecules in atherosclerosis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2007; 27 (11): 2292–2301.
20. Тромбогеморрагические осложнения в акушерско-гинекологической практике. Руководство для врачей. Под ред. А.Д. Макарария. М.: Медицина. 2011. 1056 с.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Сергеева Ольга Николаевна, ассистент кафедры акушерства и гинекологии ФПК и ППС Саратовского ГМУ им. В.И. Разумовского

Адрес: 410012, Саратов, ул. Большая Казачья, д. 112, тел.: +7 (8452) 51-15-32, e-mail: gluchova05@mail.ru

Чеснокова Нина Павловна, доктор медицинских наук, профессор кафедры патофизиологии Саратовского ГМУ им. В.И. Разумовского

Адрес: 410012, Саратов, ул. Большая Казачья, д. 112, тел.: +7 (8452) 51-15-32

Понукалина Елена Вячеславовна, доктор медицинских наук, профессор кафедры нормальной физиологии Саратовского ГМУ им. В.И. Разумовского

Адрес: 410012, Саратов, ул. Большая Казачья, д. 112, тел.: +7 (8452) 51-15-32

Рогожина Ирина Евгеньевна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой акушерства и гинекологии ФПК и ППС ГБОУ Саратовского ГМУ им. В.И. Разумовского

Адрес: 410012, Саратов, ул. Большая Казачья, д. 112, тел.: +7 (8452) 51-15-32

Глухова Татьяна Николаевна, доктор медицинских наук, профессор кафедры акушерства и гинекологии ФПК и ППС Саратовского ГМУ им. В.И. Разумовского

Адрес: 410012, Саратов, ул. Большая Казачья, д. 112, тел.: +7 (8452) 51-15-32, e-mail: gluchova05@mail.ru

Состояние реактивной и личностной тревоги у беременных с пороками развития плода

Цель исследования: оценить уровень реактивной и личностной тревоги, а, соответственно, и степень переносимого стресса у беременных с пороками развития плода. **Методы:** проведено контролируемое нерандомизированное клиническое исследование с последовательным включением участников в группы. Психоэмоциональный статус беременных оценивали по шкале Спилбергера с определением степени реактивной и личностной тревоги в баллах, а также на основании анамнестических данных. Беременные были разделены на 2 группы. Контрольная группа — 20 женщин с физиологическим течением беременности без каких-либо нарушений в развитии плода и отсутствием в анамнезе стрессовых ситуаций. Основная группа — 40 женщин с пороками развития плода, наличием в анамнезе длительных стрессовых ситуаций, начиная с ранних сроков развития беременности. При выборе исследуемых особое внимание обращали на отсутствие в процессе беременности тех или иных заболеваний. **Результаты:** проведено ультразвуковое обследование 60 женщин в возрасте от 20 до 37 ($28,5 \pm 0,5$) лет на сроке беременности 20–38 нед с оценкой анатомического строения плода. Сравнительный анализ состояния психоэмоционального статуса беременных обеих групп позволил установить значительное повышение процентных и абсолютных показателей уровня реактивной и личностной тревоги в основной группе женщин по сравнению с контрольной. По результатам статистической обработки данных уровни реактивной и личностной тревоги в основной группе женщин по сравнению с контрольной возросли с $30,80 \pm 1,47$ до $48,13 \pm 3,84$ ($p < 0,001$) и с $32,35 \pm 1,45$ до $50,25 \pm 3,40$ ($p < 0,001$) баллов, соответственно. **Заключение:** высокий уровень реактивной и личностной тревоги у беременных с пороками развития плода позволяет заключить, что материнский стресс является потенциальным фактором риска для возникновения внутриутробных пороков развития плода. Это является основанием для рекомендации соответствующих профилактических, антистрессовых мероприятий во время такой беременности, особенно на ее ранних стадиях, когда происходят процессы формирования тканей плода.

Ключевые слова: реактивная и личностная тревога, беременность, плод, пороки развития.

(Для цитирования: Худавердян А.Д. Состояние реактивной и личностной тревоги у беременных с пороками развития плода. Вестник РАМН. 2015; 70 (5): 604–607. Doi: 10.15690/vramn.v70.i5.1449)

604

Обоснование

В настоящее время стресс, сопровождающийся, как правило, высоким уровнем реактивной и личностной тревоги, рассматривают в качестве ведущей причины формирования многих психосоматических заболеваний [1, 2]. Проблема психологического стресса стала актуальной и в акушерстве, поскольку беременные очень восприимчивы к различным воздействиям окружающей среды [3]. В ряде исследований [4, 5] отмечается неблагоприятное влияние отягощенного психологического статуса женщин на течение

беременности, развитие плода, роды и послеродовой период. Установлена роль отрицательных психосоциальных факторов в прогнозе невынашивания беременности [6, 7]. За последние годы отмечен рост врожденных пороков развития (ВПР) плода, причем большинство из них относится к заболеваниям, ставящим под угрозу здоровье и жизнь новорожденного. По данным экспертов ВОЗ, 20% случаев детской заболеваемости и инвалидности, а также 15–20% случаев детской смертности обусловлены ВПР, среди которых пороки развития центральной нервной системы занимают 2-е место, уступая ВПР системы

A.D. Khudaverdyan

Yerevan State Medical University n.a. M. Heratsi, Yerevan, Armenia

Condition of State and Trait Anxiety in Pregnant Women with Fetal Malformations

Objective: Our aim was to assess the level of state and trait anxiety, and the level of tolerated stress in pregnant women with fetus malformations.

Methods: A controlled non-randomized clinical study with sequential inclusion of participants was carried out. Psychoemotional status of pregnant women was assessed by Spielberger anxiety scale, with identification of state and trait anxiety, as well as on the basis of medical history data.

Pregnant women were divided into 2 groups. Control group — 20 women with physiological gestation course without any fetus malformations and absence of stress situations in medical history. Main group — 40 women with fetus malformations, presence of long stressful situations in medical history, starting from early gestation period. **Results:** 60 women aged 20–37 years old, at the pregnancy age of 20–38 weeks were examined by ultrasound with assessment anatomy of the fetus. Comparative analysis of the psychological and emotional status of pregnant women from both groups indicated significant increase of the state and trait anxiety level in the main group of women compared to the control in the average grew from 30.80 ± 1.47 to 48.13 ± 3.84 ($p < 0.001$) and from 32.35 ± 1.45 to 50.25 ± 3.40 ($p < 0.001$) respectively. **Conclusion:** The identified high level of state and trait anxiety in pregnant women with fetus malformations allows concluding that maternal stress is a potential risk factor for generation of intrauterine malformations of the fetus. This serves as a basis to recommend corresponding prophylactic, anti-stress measures should be taken during such pregnancy, especially at early stages, when fetus tissues formation process is taking place.

Key words: state and trait anxiety, pregnancy, fetus, malformations.

(For citation: Khudaverdyan A.D. Condition of State and Trait Anxiety in Pregnant Women with Fetal Malformations. Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2015; 70 (5): 604–607. Doi: 10.15690/vramn.v70.i5.1449)

кровообращения [8, 9], частота которых колеблется от 10 до 13 случаев на 1000 новорожденных [10]. Обращают на себя внимание данные некоторых авторов [11, 12] о возможной взаимосвязи между психоэмоциональным стрессом беременных и пороками развития плода.

Исходя из вышеизложенного, целью настоящего исследования стали оценка уровня реактивной и личностной тревоги, а соответственно, и степени переносимого стресса у беременных с пороками развития плода и определение, таким образом, возможной зависимости пороков развития плода от состояния тревожности и перенесенного беременными хронического стресса.

Методы

Дизайн исследования

Проведено контролируемое нерандомизированное клиническое исследование с последовательным включением участников в группы.

Критерии соответствия

Критерии включения

- Женщины на сроке 20–37 нед беременности.
- Женщины с нормальным течением беременности по данным стандартных клинических и лабораторных методов обследования.
- Беременные, у которых оценивались показатели тревожности до информирования о результатах ультразвуковой оценки анатомии плода.

Критерии исключения: экстрагенитальная патология, острые и хронические инфекционные болезни, генетические и эндокринные заболевания и др.

Условия проведения

Обследованы беременные женской консультации и акушерского стационара Республиканского института репродуктивного здоровья, перинатологии, акушерства и гинекологии Армении (Ереван) в период с 2012 по 2015 гг.

Описание медицинского вмешательства

Проведена диагностическая ультразвуковая эхоскопия беременных с использованием аппарата SDU-220xPLUS (Япония), снабженного блоком цветного доплеровского картирования с многоканальным секторным датчиком импульсного излучения частотой 3,5 МГц. У всех беременных проводили ультразвуковое исследование анатомического строения плода. В ходе исследования также выполняли фетометрию, плацентографию и определение количества околоплодных вод.

После проведения ультразвукового обследования оценивали состояние психоэмоционального статуса по шкале Спилбергера [13] с выявлением степени реактивной тревоги (РТ), личностной тревоги (ЛТ), а также анамнестические данные, полученные в ходе личного собеседования и анкетирования при помощи индивидуальных карт обследования. Итоговые показатели опроса оценивали в баллах. И для РТ, и для ЛТ они соответствовали низкому уровню при 20–30 баллах, умеренному — при 31–45, высокому — при 46–80.

Исходы исследования

Основным исходом исследования считали наличие ВПР у плодов, переносящих хронический психоэмоциональный стресс беременных с высокой степенью РТ и ЛТ.

Этическая экспертиза

На проведение данного исследования было дано разрешение Этического комитета Ереванского государственного медицинского университета им. М. Гераци (протокол № 4 от 18.12.2012 г.).

Статистический анализ

Математический расчет выполняли с помощью программы SPSS 16.0 и Microsoft Excel for Windows (2013). Показатели состояния РТ и ЛТ у женщин обеих групп подвергнуты статистической обработке с вычислением средней арифметической величины и ее стандартной ошибки. Статистический анализ проведен с использованием двухвыборочного t-критерия Стьюдента, позволяющего установить различия между изучаемыми группами. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Зависимость развития ВПР от психоэмоционального состояния женщин в период беременности оценивали путем сравнения процентных показателей ВПР, зарегистрированных в контрольной и основной группе.

Результаты

Участники исследования

Обследовано 60 женщин в возрасте от 20 до 38 (28,5±0,5) лет на сроке беременности 20–37 нед.

Беременные были разделены на 2 группы. Контрольная группа — 20 женщин с физиологическим течением беременности без каких-либо нарушений в развитии плода и отсутствием в анамнезе стрессовых ситуаций. Основная группа — 40 женщин с пороками развития плода, наличием в анамнезе длительных стрессовых ситуаций различной природы (смерть близких родственников, постоянные семейные конфликты, безработица и финансовые трудности, проживание в конфликтной приграничной зоне и др.), начиная с ранних сроков развития беременности. При выборе исследуемых особое внимание обращали на отсутствие в процессе беременности тех или иных заболеваний. С целью исключения у беременных возможного повышения тревожности за счет переживаний от установленного диагноза о наличии порока им сообщали лишь после оценки у них показателей тревожности.

Основные результаты исследования

Исследование психоэмоционального статуса беременных контрольной группы с помощью опросника Спилбергера позволило выявить низкий уровень РТ в 75% ($n = 15$), умеренный — в 15% ($n = 3$) и высокий — в 10% случаев ($n = 2$). При этом уровень ЛТ соответствовал низкому в 60% ($n = 12$), умеренному — в 30% ($n = 6$) и высокому — в 10% случаев ($n = 2$).

В основной группе установлено различное процентное соотношение пороков развития разных органов и систем плода. Так, пороки развития сердца плода выявлены у 29 (72,5%) обследованных; из них у 5% — тетрада Фалло, у 5% — транспозиция магистральных сосудов, у 12,5% — гипоплазия левых отделов сердца, у 10% — гипоплазия правого желудочка, у 12,5% — дефект межжелудочковой перегородки, у 12,5% — единственный желудочек, у 2,5% — фиброэластоз эндокарда, у 10% — стеноз легочной артерии, у 2,5% — стеноз аорты. При анализе показателей РТ и ЛТ у женщин с пороками развития сердца плода установлены их высокие уровни. В частности, у 18 (62,07%) из 29 женщин выявлен высокий уровень РТ, у 6 (20,7%) — умеренный и у 5 (17,24%) — низкий. Показа-

тели ЛТ также отличались от таковых контрольной группы. Они оказались высокими у 18 (62,07%), умеренными — у 8 (27,6%) и низкими — у 3 (10,34%) беременных.

В основной группе беременных пороки развития центральной нервной системы плода были выявлены в 5 (12%) случаях. Из них гидроцефалия в сочетании со спинномозговой грыжей, а также синдром Денди—Уокаера — по 2 случая, спинномозговая грыжа — в 1 случае. Высокий и умеренный уровень РТ был обнаружен у 2 и 3 беременных, соответственно, а низкий не был установлен ни у кого, в то время как уровень ЛТ был высоким у 4 женщин и умеренным — у 1. Низкие уровни и РТ и ЛТ не выявлены ни в одном случае.

Пороки развития лица (расщелина верхней губы и твердого неба) плода диагностированы у 4 (10%) беременных основной группы, из которых по 2 женщины имели высокий и умеренный уровень РТ. Высокий уровень ЛТ имел место у 3 беременных, умеренный — у 1.

Остальные пороки развития плода были представлены следующими случаями: в одном (2,5%) — кистозно-аденоматозным пороком развития правого легкого, в другом (2,5%) — пороком развития конечностей (косопласть). Показатели РТ и ЛТ в этих случаях также соответствовали высокому уровню тревоги.

В целом сравнительный анализ состояния психоэмоционального статуса беременных обеих групп показал значительное повышение уровня РТ и ЛТ в основной группе женщин по сравнению с контрольной. Так, если у беременных контрольной группы уровень РТ был низким в 75%, умеренным — в 15% и высоким — в 10% случаев, то из общего числа обследованных женщин основной группы высокий уровень РТ зафиксирован в 60%, умеренный — в 27%, низкий — в 12,5% случаев. Показатели ЛТ также возросли. Если в контрольной группе низкий уровень ЛТ зарегистрирован у 60% беременных, умеренный — у 30%, высокий — у 10%, то в основной группе составили 7,5, 25 и 67,5%, соответственно. По результатам статистической обработки данных, уровни РТ и ЛТ в основной группе женщин по сравнению с контрольной в среднем возросли с $30,80 \pm 1,47$ до $48,13 \pm 3,84$ ($p < 0,001$) и с $32,35 \pm 1,45$ до $50,25 \pm 3,40$ ($p < 0,001$) балла, соответственно.

Обсуждение

Прежде всего необходимо отметить, что, по существующим представлениям, высокие показатели тревожности, определяемые по Спилбергеру, являются психологическим маркером стресса и коррелируют с содержанием кортизола в плазме крови и амниотической жидкости беременных [14, 15].

Полученные нами данные соответствуют представлениям ряда авторов [12, 16, 17] о зависимости пороков развития плода от перенесенного матерями стресса в основном на ранних этапах беременности. Конкретные механизмы развития подобных пороков при стрессе беременных не исследованы, однако на основании полу-

ченных нами и некоторыми исследователями данных в качестве таковых могут выступать нарушения гормональных механизмов регуляции и метаболизма у беременных, переносящих хронический стресс. Обращает на себя внимание, что у 10% обследованных нами женщин контрольной группы при высоких степенях РТ и ЛТ пороков развития плода не обнаружено, точно так же как их наличие отмечено у некоторых беременных с низким и умеренным уровнями РТ и ЛТ. Это указывает на то, что причины их развития сложны и могут иметь в своей основе нарушения генетического характера, кровотока в системе мать—плод, дифференциации тканей в эмбриональном периоде развития и пр. Исходя из этого можно допустить, что возникающие при высокой тревожности и стрессе беременных существенные нарушения нейрогуморальных механизмов регуляции функций и, в частности, гормонального баланса в системе мать—плод могут выступать, с одной стороны, в качестве пусковых, провоцирующих факторов развития различных патологических проявлений у плода, а, с другой, с учетом общеизвестного морфогенетического действия гормонов, проникновение избыточных концентраций стресс-гормонов из организма матери в организм плода может привести к нарушению процессов дифференциации и роста различных тканей плода с пороками их развития. В проведенных нами экспериментальных и клинических исследованиях установлено нарушение баланса различных стресс-гормонов [4], кровотока в системе мать—плод, а также морфофункционального состояния плаценты у беременных, переносящих стресс [18], на что указывают и другие исследователи [19, 20].

Заключение

Выявленный высокий уровень РТ и ЛТ у беременных женщин с пороками развития плода позволяет заключить, что материнский стресс является потенциальным фактором риска для возникновения внутриутробных пороков развития у плода. Это является основанием для рекомендации соответствующих профилактических, антистрессовых мероприятий во время такой беременности, особенно на ее ранних стадиях, когда происходят процессы формирования тканей плода.

Источник финансирования

Работа поддержана научным грантом Государственного комитета по науке Министерства высшего образования и науки Республики Армения.

Конфликт интересов

Автор данной статьи подтвердила отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абрамченко В.В., Коваленко Н.В. Перинатальная психология, теория, методология, опыт. СПб.: Изд-во С.-Пб. ун-та. 2001. 348 с.
2. Тарабрина Н.В. Практикум по психологии посттравматического стресса. СПб. 2011. 272 с.
3. Коваленко Н.П. Перинатальная психология. СПб.: Ювента. 2000. 206 с.
4. Худавердян А.Д., Сароян М. Ю., Худавердян Д.Н., Арутюнян А.А. Влияние психоэмоционального стресса на содержание адренкортикотропного гормона и кортизола в крови

- беременных крыс и их потомства. *Медицинская наука Армении*. 2014; 4 (3): 3.
5. Maina G., Saracco P., Giolito M.R., Danelon D., Bogetto F., Todros T. Impact of maternal psychological distress on fetal weight, prenat and intrauterine growth retardation. *J. Affect Disord*. 2008; 111: 214–220.
 6. Абрамченко В.В. Психосоматическое акушерство. СПб: Сотис. 2001. 311 с.
 7. Вараксина Г.Н. Психовегетативные изменения у женщин с невынашиванием беременности. Мат-лы Всероссийской конференции. *Иваново*. 2001. С. 108.
 8. Кашина Е.В. Клинико-морфологические особенности врожденных пороков развития ЦНС в онтогенезе у детей. Автореф. дис... канд. мед. наук. *Хабаровск*. 2008. 28 с.
 9. Prenatal diagnosed anomalies of the central nervous system: the experience of ten years. Abstracts of the 20th World Congress on ultrasound in Obstetrics and Gynecology. С. Kari, N. Deole (eds.). 2010; 36 (Issue 1): 224–225.
 10. Затибян Е.П. Коарктация аорты у плода. Точность и ошибки диагностики. *Sono Ace – Ultra sound*. 2013; 25: 17–21.
 11. Дегтярёв Ю.Г. Факторы риска в возникновении врожденных пороков развития. *Медицинский журнал (Беларусь)*. 2014; 2: 4–10.
 12. Liang J.Z., Olsen J., Toft H.S., Jiong Li, Nohr E.A., Obel C., Vestergaard M. Prenatal maternal bereavement and congenital heart defects in off spring: A Registry Based Study. *Pediatrics*. 2013; 131 (4): 1225–1230.
 13. Spielberger C.D., Gorush R.I., Lushene R.E. STAI manual for the state trait anxiety inventory. *Palo Alto, CA: Consulting Psychologists Press*. 1970. URL: <http://hdl.handle.net/10477/2895> (Available: 23.06.2015).
 14. Glover V., Bergman K., Sarkar P., O'Connor T.G. Association between maternal and amniotic fluid cortisol is moderated by maternal anxiety. *Psychoneuroendocrinology*. 2009; 34 (3): 430–435.
 15. Sarkar P., Bergman K., Fisk N.M., Glover V. Maternal anxiety at amniocentesis and plasma cortisol. *Prenat. Diagn*. 2006; 26 (6): 505–509.
 16. Carmichael S.L., Shaw G.M., Yang W., Abrams B., Lammer E.J. Maternal stressful events and risks of birth defects. *Epidemiology*. 2007; 18 (3): 356–361.
 17. Suarez L., Cardarelli K., Hendricks K. Maternal stress social support and risk of neural defects among Mexican Americans. *Epidemiology. Ann. Epidemiol*. 2003; 13 (2): 81–88.
 18. Азнаурян А.В., Худавердян А.Д., Сароян М.Ю., Абрамян Р.А. Структурно-функциональная характеристика плаценты при психоэмоциональном стрессе. *Экспериментальная и клиническая медицина*. 2012; 3: 13–17.
 19. Dipietro J.A. Maternal stress in pregnancy: considerations for fetal development. *J. Adolesc. Health*. 2012; 51: 3–8.
 20. O'Donnell J.K., Jensen B.A., Freeman L., Khalife N., Thomas G.O., Glover V. Maternal prenatal anxiety and down regulation of placental 11 β HSD2. *Psychoneuroendocrinology*. 2012; 37 (6): 818–826.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Худавердян Анна Драстаматовна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры акушерства и гинекологии № 2 Ереванского государственного медицинского университета им. М. Гераши
Адрес: 0025, Ереван, Армения, ул. Корюна, д. 2, **тел.:** +374 (60) 62-12-21, **e-mail:** anna.khudaverdyan2@mail.ru

Межъядерные интернейроны в стволе мозга человека

Цель исследования: произвести сравнение структурной организации межъядерных интернейронов, участвующих в обмене оксида азота, сероводорода и монооксида углерода в каудальных отделах ствола мозга человека. **Методы:** проведено кросс-секционное исследование. Гистохимическим и иммуногистохимическим методами исследовали межъядерные интернейроны, экспрессирующие нейрональную синтазу окиси азота, цистатионин β-синтазу и гемоксигеназу-2, которые находятся между гиганто- и мелкоклеточным ретикулярными ядрами (клеточная группа 1); ретикулярным мелкоклеточным ядром и ядром одиночного пути (клеточная группа 2); в окружении ретикулярного латерального ядра (клеточная группа 3). **Результаты:** работа выполнена на 6 трупах мужчин 18–44 (средний возраст 38) лет, умерших в результате причин, не связанных с повреждением центральной нервной системы. Установлены отличия организации меж- и внутриядерных интернейронов, а также локальные особенности структуры межъядерных интернейронов, которые более отчетливо прослеживаются между клеточной группой 1, включающей относительно большое число крупных нейронов, и клеточными группами 2 и 3 ($p < 0,001$). В последних 2 группах преобладают мелкие клетки с высокой концентрацией нейрональной синтазы окиси азота и гемоксигеназы-2. **Заключение:** несмотря на то, что межъядерных интернейронов значительно меньше, чем внутриядерных, они имеют структурные предпосылки для управления интеграционными процессами в мозге. Межъядерные интернейроны продуцируют газотрансмиттеры и классические медиаторы нервного импульса, формируют локальные цепи интернейронов между вазомоторными ядрами, обмениваются многочисленными связями с выше- и нижележащими отделами мозга.

Ключевые слова: синтаза окиси азота, цистатионин β-синтаза, гемоксигеназа-2, продолговатый мозг, межъядерные интернейроны.

(Для цитирования: Черток В.М., Коцюба А.Е., Старцева М.С. Межъядерные интернейроны в стволе мозга человека. *Вестник РАМН*. 2015; 70 (5): 608–613. Doi: 10.15690/vramn.v70.i5.1450)

608

Обоснование

При описании цитоархитектоники вазомоторных ядер продолговатого мозга объектом исследования обычно служат внутриядерные интернейроны [1–3]. Вместе с тем между ядрами находятся клетки, которые, как недавно было показано, обладают особыми функциональными свойствами, отличающими их от внутриядерных интернейронов [4, 5]. По некоторым данным, суммарное число межъядерных интернейронов в каудальном отделе ствола мозга составляет 4–6% от общего числа нервных клеток [6]. Особенно часто эти клетки встречаются в вентромедиальной части продолговатого мозга на стыке гиганто- и мелкоклеточного ретикулярных ядер, мелкоклеточного ядра и ядра одиночного пути, вокруг ретикулярного ла-

терального ядра [7]. В вазомоторной области продолговатого мозга они объединяют интернейроны, включающие классические медиаторы нервного импульса, — ацетилхолин, норадреналин и серотонин [8–10]. Нельзя исключить, что межъядерные интернейроны содержат и газотрансмиттеры — новый класс сигнальных молекул, принимающих активное участие в регуляции вазомоторики [2, 11, 12]. Однако данных о наличии газообразных посредников в этих клетках в доступной литературе мы не встретили.

Целью нашего исследования стало сравнительное изучение структурной организации межъядерных интернейронов, участвующих в обмене оксида азота, сероводорода и монооксида углерода, в каудальных отделах ствола мозга человека.

V.M Chertok, A.E. Kotsyuba, M.S. Startseva

Pacific State Medical University, Vladivostok, Russian Federation

Interneurons Brainstem of the Human

Objective: To conduct a comparative study of the structural organization of internuclear interneurons involved in the metabolism of nitrogen monoxide, hydrogen sulphide and carbon monoxide in the caudal brain stem humans. **Methods:** The cross-sectional study was performed. We used histochemical and immunohistochemical methods to study the internuclear interneurons expressing neuronal nitric oxide synthase, cystathionine β-synthase and heme oxygenase-2 which are located between the giant and small cell reticular nuclei (cell group 1), small cell reticular nucleus and the nucleus of the solitary tract (cell group 2) or is surrounded by reticular lateral nucleus (cell group 3). **Results:** The work was carried out on the corpses of 6 men 18–44 years old who died from causes unrelated to the damage of the central nervous system. We revealed the differences between internuclear organization and intranuclear interneurons and local structural features of internuclear interneurons that are more clearly visible between the cell group 1 including a relatively large number of large neurons and cell groups 2 and 3 ($p < 0,001$). In the latter two groups small cells with high concentrations of the neuronal nitric oxide synthase and heme oxygenase-2 dominated. **Conclusion:** Despite the fact that the number of internuclear interneurons significantly is less than the number of intranuclear cells, they have structural prerequisites to control integration processes in the brain. Internuclear interneurons produce gasotransmitters and classical mediators of nerve impulse, form a local chain of interneurons between vasomotor nuclei, share many links with the above and the lower parts of the brain.

Key words: nitric oxide synthase, cystathionine β-synthase, heme oxygenase-2, the medulla oblongata, internuclear interneurons.

(For citation: Chertok V.M., Kotsyuba A.E., Startseva M.S. Interneurons Brainstem of the Human. *Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2015; 70 (5): 608–613. Doi: 10.15690/vramn.v70.i5.1450)

Методы

Дизайн исследования

Проведено кросс-секционное исследование.

Критерии соответствия

В работе использовали материал судебно-медицинских вскрытий 6 практически здоровых мужчин в возрасте 18–44 лет, погибших от механической травмы, не связанной с повреждением центральной нервной системы.

Условия проведения

Материал для исследования получен не позднее 3–4 ч после наступления смерти при проведении аутопсий в ГУЗ ПК «Бюро судебно-медицинской экспертизы» г. Владивостока.

Продолжительность исследования

Работа проводилась в период с 2007 по 2014 г.

Методы регистрации исходов

Кусочки продолговатого мозга после извлечения его из полости черепа фиксировали при 4 °С в течение 4 ч в 4% растворе параформальдегида, приготовленном на 0,1 М натрий-фосфатном буфере (рН = 7,4). Затем материал пропитывали в холодном 30% растворе сахарозы на 0,1 М фосфатном буфере и готовили серийные криостатные срезы толщиной 30–40 мкм, ориентированные во фронтальной и сагиттальной плоскости.

Иммуноцитохимическое исследование проводили с использованием антисыворотки против нейрональной формы синтазы окиси азота (nNOS), которая в физиологических условиях является морфологическим маркером в нервных клетках оксида азота, цистатионин β-синтазы (CBS; маркер сероводорода), гемоксигеназы-2 (НО; маркер монооксида углерода). Иммуноцитохимическое выявление указанных ферментов включает несколько последовательных этапов: прединкубацию, обработку в растворе первичных антител, обработку вторичными антителами и постановку иммунопероксидазной реакции. В работе использованы первичные поликлональные антитела кролика против nNOS (Сауман, США), лошади — против CBS и НО-2 (Абсам, Великобритания), в разведении 1:200, 1:500 и 1:1000, соответственно. Вторичные биотинилированные антитела (Vector Labs, США), комплекс авидинбиотинилированной пероксидазы хрена (Vectastain Elite ABC Kit, VectorLabs, США), субстраты для обнаружения пероксидазы (VIP Substrate Kit, DAB Substrate Kit, VectorLabs, США) использовали в соответствии с инструкциями фирмы-производителя.

Криостатные срезы после трехкратной промывки в 0,1 М фосфатном буфере (рН = 7,2) обрабатывали в течение 1 ч в 2% растворе бычьего сывороточного альбумина и 0,25% растворе «Тритон Х-100». Для проведения иммунопероксидазного окрашивания срезы дополнительно инкубировали в 3% растворе перекиси водорода для блокирования эндогенных пероксидаз. Инкубацию с первичными антителами в соответствующих концентрациях проводили на предметных стеклах при 4 °С в течение 18 ч. Затем срезы инкубировали в течение 2 ч в растворе вторичных антител. Для идентификации продуктов реакции под контролем микроскопа срезы инкубировали в субстрате для обнаружения пероксидазы: для nNOS и НО-2 с помощью диаминбензидина (DAB Substrate Kit, VectorLabs, США), для CBS — субстрата красного цвета (VIP Substrate Kit, VectorLabs, США). Затем срезы промывали, обезвоживали по стандартной методике и

заклучали в полистерол. Для оценки специфичности реакции проводили окрашивание срезов без первичных или вторичных антител.

В работе использовали также гистохимический метод на NADPH-диафорузу, позволяющий наряду с активностью фермента довольно полно исследовать структурные особенности нейронов.

Изучали клеточные группы межядерных интернейронов (МЯ), находящиеся между гигантоклеточным и мелкоклеточным ретикулярными ядрами (МЯ1), мелкоклеточным ядром и ядром одиночного пути (МЯ2), а также в окружении ретикулярного латерального ядра (МЯ3). Для этого из каудальной части продолговатого мозга каждого образца изготавливали серии не менее чем из 16 последовательных срезов. Первый срез из каждой серии окрашивали метиленовым синим или использовали для выявления NADPH-диафоразы (NADPH-d), второй — nNOS (NO-нейроны), третий — CBS (H2S-нейроны), четвертый — НО-2 (СО-нейроны). Ядра ориентировали по характерным признакам в сагиттальной и фронтальной плоскости, а их местоположение и границы уточняли на препаратах, окрашенных метиленовым синим. Пространственные отношения между исследуемыми группами клеток изучали описанным ранее методом [13]. Препараты просматривали под микроскопом Axiovert 200M (Carl Zeiss, Германия) и фотографировали при помощи цифровой фотокамеры DSC-P12 (Sony, Япония) в положении трансфокатора 3. Подсчет числа и определение размеров нейронов производили на монтажах, сформированных программой AxioVision 4.8, учитывая только те клетки (не менее 100), которые имели отчетливо видимое ядро.

Этическая экспертиза

Исследования трупного материала проводились в соответствии с нормами и правилами междисциплинарного комитета по этике при ТГМУ (дело № 25 заседания Этического комитета при ТГМУ от 16 февраля 2009 г.).

Статистический анализ

Вычисляли среднюю площадь профильного поля интернейронов (мкм²), их общее число при окраске препаратов метиленовым синим и долю, приходящуюся отдельно на NO-, H2S и СО-нейроны, средний показатель оптической плотности преципитата (СПОП), концентрацию (относительную плотность) клеток из расчета на 1 мм². Для количественной обработки материала использовали пакет компьютерных программ АСАИ Allegro-МС (Россия). Данные количественного анализа представляли в виде среднего значения и стандартной ошибки среднего. Для оценки значимости цифровых данных применяли *t*-критерий Стьюдента. Значения *p* < 0,05 считали статистически значимыми.

Результаты

Объект исследования

В работе использовали материал судебно-медицинских вскрытий 6 практически здоровых мужчин в возрасте 18–44 лет, погибших от механической травмы, не связанной с повреждением центральной нервной системы. Материал для исследования получен не позднее 3–4 ч после наступления смерти при проведении аутопсий в ГУЗ ПК «Бюро судебно-медицинской экспертизы» г. Владивостока.

Основные результаты исследования

Между компактно расположенными интернейронами вазомоторных ядер определяются небольшие группы и отдельно лежащие межъядерные клетки (МК; рис. 1, а, в, д), среди которых выявляются интернейроны, экспрессирующие nNOS, CBS или HO (рис. 1, б, г, е). Во всех исследованных клеточных группах (МЯ1-3) преобладают интернейроны веретеновидной и треугольной формы, реже встречаются округлые и полигональные клетки, в единичных случаях — звездчатые.

Гистохимическим методом на NADPH-d выявляются МК, которые отличаются характером взаимоотношений между собой, числом, структурой и длиной отростков (рис. 2, а-в). Тела МК или тесно прилежат, образуя кластеры из 3-4 клеток, или разделены небольшим расстоянием друг от друга. Довольно часто одиночные МК относительно далеко отстоят от соименных клеток, образуя связи с ними или внутриядерными интернейронами, а также с внутримозговыми сосудами, различными по протяженности и функциональной принадлежности отростками (см. рис. 2, а, б). Как длинные, так и короткие отростки клеток нередко контактируют между собой, участвуя тем самым в организации дендро-дендритных и дендро-аксональных взаимодействий (см. рис. 2, б, в). Постоянно выявляются интенсивно окрашенные NADPH-d-позитивные дендриты, отходящие от тела МЯ. Некоторые окончания дендритов напоминают куст из нескольких коротких расходящихся веточек или при последовательной бифуркации основного ствола удаляются на значительное (до 800 мкм) расстояние от тела клетки. По ряду переходных картин складывается впечатление, что первые чаще встречаются среди клеток небольшого размера, площадью до 200 мкм². Они определяются во всех трех клеточных группах (МЯ1-МЯ3); вторые встречаются у более крупных клеток, которые значительно чаще определяются среди МЯ1. По ходу длинных отростков нередко видны многочисленные удлиненные утолщения, распо-

610

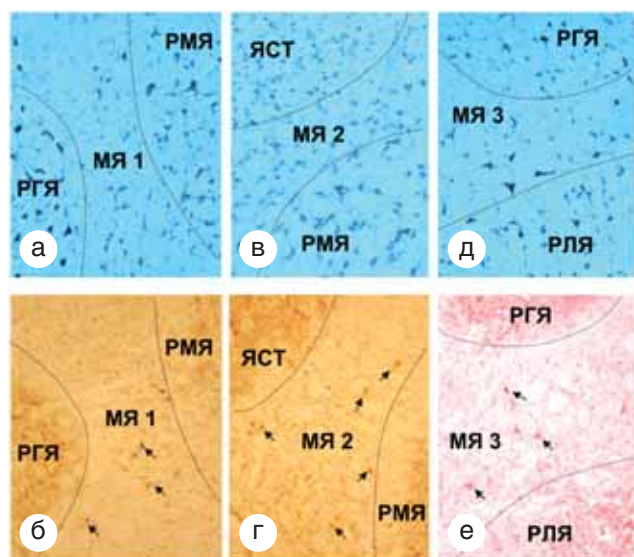


Рис. 1. МЯ1, расположенные между гигантоклеточным (РГЯ) и мелкоклеточным (РМЯ) ретикулярными ядрами (а, б); МЯ2 (в, г) — между ретикулярным мелкоклеточным ядром (РМЯ) и ядром одиночного пути (ЯСТ); МЯ3 (д, е) — в окружении ретикулярного латерального ядра (РЛЯ), содержащие nNOS (б), HO (г) и CBS (е).

Примечание. МЯ — межъядерные нейроны (указаны стрелками). Окраска метиленовым синим (а, в, д), иммуногистохимия (б, г, е). Об. 3.2, ок. 10.

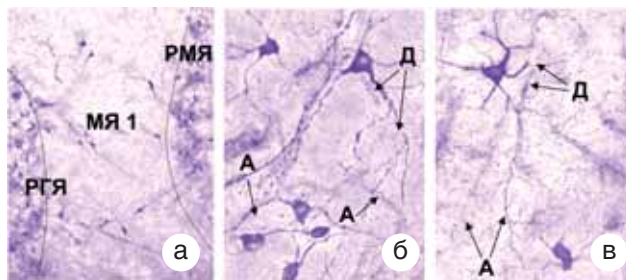


Рис. 2. Структура межъядерных интернейронов (МЯ) продолговатого мозга человека.

Примечание. А — аксон, Д — дендрит. Метод на NADPH-d. а — об. 3.2, ок. 10; б, в — об. 20, ок. 10.

ложенные примерно на одинаковом расстоянии друг от друга, отличающиеся от основного ствола высокой интенсивностью реакции (см. рис. 2, б). Дендриты обычно небольших по размеру МК контактируют как с ветвями или телами других МЯ, так и клеток, находящихся на периферии, лежащих поблизости вазомоторных ядер, участвуя таким образом в образовании локальной межъядерной нейронной цепи (см. рис. 2, а). Дендриты более крупных клеток, как правило, организуются в пучки, которые, начинаясь массивным основанием, истончаются по мере удаления от тела клетки, отдавая несколько более тонких горизонтальных, восходящих или нисходящих отростков, в т.ч. и в другие отделы мозга (см. рис. 2, б), хотя различия ориентации и довольно сложное переплетение отростков на препаратах подчас создают серьезные трудности в выяснении источников образования и характере связей конкретных ветвей.

В отличие от дендритов, аксоны в подавляющем большинстве случаев обладают низкой активностью NADPH-d и потому слабо контурируются на окружающем фоне. Постоянно они выявляются у крупных МК, лежащих около ретикулярного гигантоклеточного ядра (см. рис. 2, в). Обычно аксон начинается утолщенным выпячиванием конической формы, продолжающимся в тонкий ствол, который почти сразу (или пройдя некоторое расстояние) делится, отдавая короткие разнонаправленные терминальные веточки с типичными для аксона многочисленными мелкими четкообразными утолщениями.

Гистограмма позволяет проследить особенности количественного распределения nNOS-, HO- и CBS-позитивных интернейронов различных размерных групп (рис. 3, а). Как видно, наиболее часто встречаются клетки небольших размеров площадью от 150 до 200 мкм². На их долю приходится не менее 50% общего числа иммунопозитивных клеток. Другую, не столь многочисленную группу (18-24%), составляют нейроны площадью от 350 до 500 мкм². Клетки мельче 100 и крупнее 500 мкм² встречаются редко. При этом экспрессию nNOS и HO чаще наблюдали в более мелких интернейронах, CBS — в крупных.

В мелких клетках, экспрессирующих nNOS и HO, интенсивность иммуногистохимической реакции в 1,5-4 раза выше, чем в крупных интернейронах (рис. 3, б). Среди CBS-позитивных клеток такой зависимости не прослеживается: плотность отложения продукта реакции невысока во многих мелких и крупных интернейронах. В связи с этим СПОП среди крупных и мелких клеток, содержащих CBS, мало отличается и значимо ниже, чем включающих nNOS и HO ($p < 0,001$), среди которых постоянно выявляется группа мелких клеток с высокой интенсивностью реакции (см. рис. 1, б, г, е).

Количественные исследования с необходимым уровнем значимости позволяют установить локальные отличия организации мелких и крупных клеток, экспрессирующих nNOS, NO или CBS. Крупные иммунопозитивные клетки встречаются чаще в МЯ1, чем в МЯ2 и особенно в МЯ3, в связи с чем в последних двух клеточных группах значения доли этих клеток значимо ниже ($p < 0,001$), чем в первой (рис. 3, в). В отношении мелких интернейронов наблюдается обратная зависимость. Между МЯ2 и МЯ3 эти различия несущественны ($p > 0,05$). Локальные отличия интенсивности реакции отчетливо прослеживаются между NO- и СО-нейронами: в МЯ2 и МЯ3 значения доли и СПОП существенно выше, чем в МЯ1 (рис. 3, в, г). В группе H₂S-нейронов отличия величины показателей между исследуемыми клеточными группами МК выражены слабо и в большинстве случаев не превышают статистически значимой погрешности ($p > 0,05$).

Концентрация МК различной медиаторной принадлежности невелика во всех клеточных группах (рис. 3, д). Наиболее высокие значения показателя установлены среди nNOS- и NO-позитивных интернейронов, значимо ниже они в соответствующих клеточных группах, содержащих CBS ($p < 0,001$). Последние, в отличие от других газотрансмиттерных нейронов, в МЯ1–МЯ3 располагаются относительно равномерно ($p > 0,05$). Концентрация СО-нейронов в МЯ1 существенно ниже, чем в МЯ2 и МЯ3 ($p < 0,001$), между которыми значимых различий нет

($p > 0,05$). Наиболее выражены локальные отличия плотности расположения среди NO-нейронов: только в этом случае между всеми клеточными группами определяются существенные отличия значений концентрации интернейронов ($p < 0,001$).

Обсуждение

В конечном мозге, топохимию интернейронов которого в последние годы изучают особенно активно, установлена тесная связь между медиаторной принадлежностью клеток и их интеграционной способностью по отношению к нейронам, сосудам и глии [14–16]. Ведущую роль в этом процессе неизменно отводят ГАМКергическим интернейронам, которые при стимуляции способны изменять ряд функциональных параметров мозга, включая местную гемодинамику. В stole мозга с его нейрохимическим разнообразием нейронов функцию интегратора в нейрососудистых механизмах приписывают широкому кругу классических медиаторов [8–10], а в последние годы — все чаще газообразным посредникам. Этому имеются веские аргументы: в интернейронах вазомоторных ядер и в стенке мозговых сосудов иммуногистохимическими методами доказано наличие ферментов, необходимых для синтеза этих веществ [2, 3, 12], а физиологическими — сосудодвигательное действие NO, H₂S и CO [17–19].

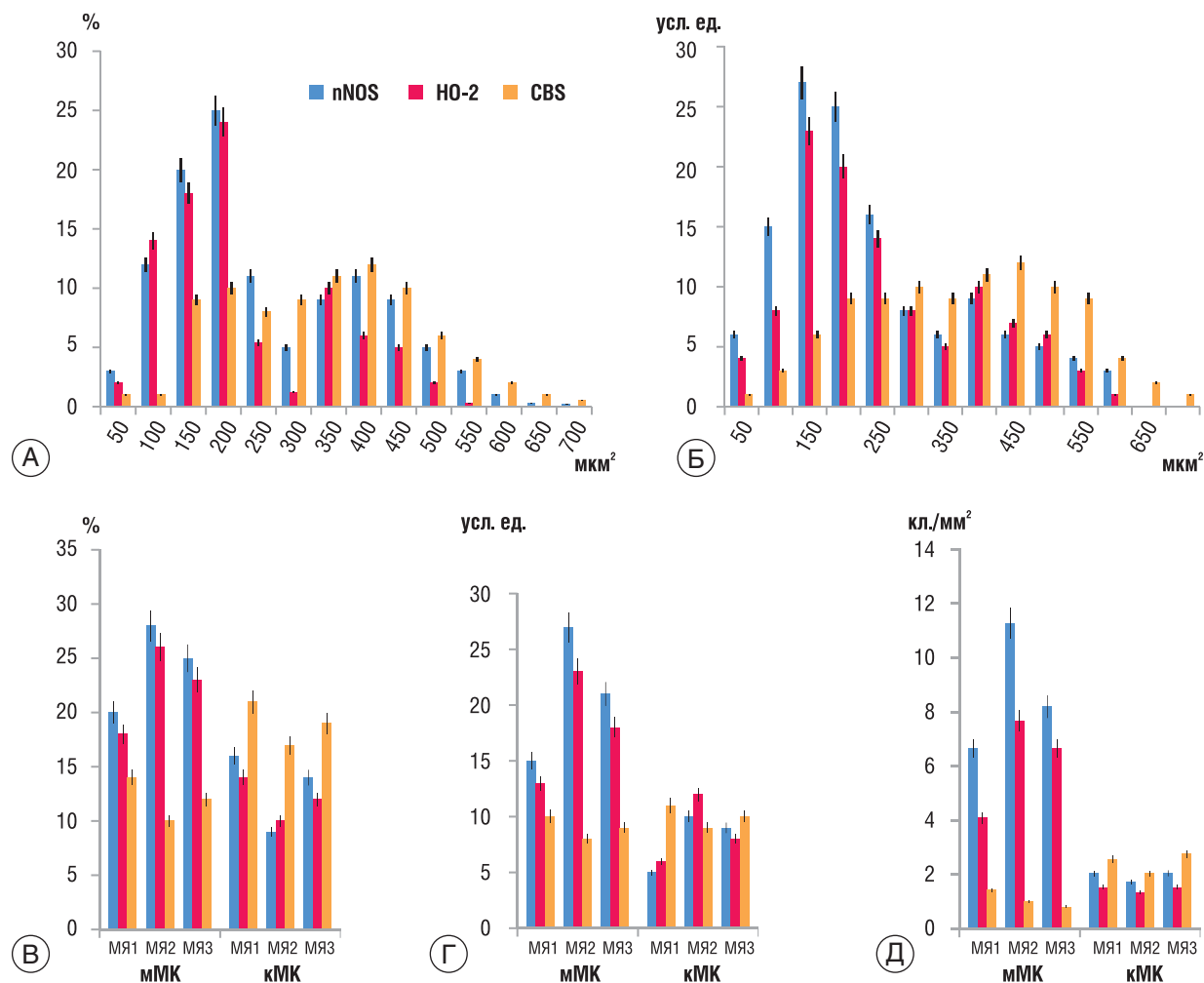


Рис. 3. Доля (А) и СПОП (Б) среди клеток различной медиаторной принадлежности в МЯ1–МЯ3; локальные отличия доли мМК и кМК (В), СПОП (Г) и концентрация интернейронов (Д), экспрессирующих nNOS, NO и CBS в МЯ1–МЯ3.

Примечание. МЯ — межъядерные нейроны, СПОП — средний показатель оптической плотности преципитата.

Материалы, приведенные в данной работе, свидетельствуют о том, что экспрессия nNOS, HO и CBS наблюдается и в другой популяции интернейронов, которые находятся между ретикулярными и неретикулярными ядрами продолговатого мозга. Эта относительно многочисленная группа клеток отличается размерами, формой, длиной и структурой отростков, характером образуемых связей, интенсивностью иммуногистохимической реакции. Не так давно было установлено, что МК не однородны и функционально [4, 5]. В исследованиях, выполненных с применением микроэлектронной техники, показано, что реакция мелких и крупных МК на раздражение афферентных систем имеет определенные особенности. Оказалось, что мелкие клетки прежде всего обеспечивают межнейронное взаимодействие афферентных и эфферентных сигналов в локальных участках мозга. Для них характерна определенная дифференцировка межнейронных связей, поэтому смещения полисенсорных сигналов не происходит. Крупные клетки, находясь в состоянии постоянного тонического возбуждения, стабильно посылают импульсы в вышележащие отделы мозга и на периферию. Многие из таких нейронов обладают ауторитмической (pacemaker like) активностью [20]. Сигналы, достигающие симпатических центров, находящихся в боковых рогах спинного мозга, обеспечивают поддержание сосудистого тонуса [8, 21]. Эти нейроны идентифицированы с помощью пероксидазной метки, вводимой в область бокового рога спинного мозга, и антидромной электрической стимуляцией интермедиолатеральных клеточных столбов в грудной части спинного мозга [1, 22, 23]. Действительно, у мелких и крупных МК структура отростков и характер образуемых ими связей существенно отличаются. При окраске на NADPH-d преимущественно у мелких клеток выявляются интенсивно окрашенные дендриты, напоминающие куст из нескольких коротких расходящихся веточек. Они контактируют с лежащими поблизости МК или интернейронами, находящимися на периферии функционально различных вазомоторных ядер, участвуя в образовании локальных межъядерных нейронных цепей. Аналогичные картины описаны в стволе мозга при использовании импрегнационных методов, на основании чего авторы приходят к заключению о решающем значении этих клеток в интеграционной деятельности нервных центров [4]. У более крупных МК отростки при последовательной бифуркации основного ствола удаляются на значительное расстояние от тела клетки, отдавая несколько более тонких горизонтальных, восходящих или нисходящих ветвей в другие отделы мозга. Такие клетки имеют миелинизированные или немиелинизированные аксоны и угнетаются активацией механорецепторов синокаротидной зоны, а возбуждаются хеморецепторными афферентными входами [1]. Помимо вазомоторных рефлексов, длинные отростки этих клеток осуществляют проведение сигнала к ядрам гипоталамуса в процессе формирования эмоционально-поведенческих реакций и координацию процессов кровообращения и дыхания [24].

В мелких клетках концентрация nNOS и HO в несколько раз выше, чем в крупных интернейронах. Среди CBS-позитивных клеток такой зависимости не обнаружено: плотность отложения продукта реакции не слишком

высока как в мелких, так и в большинстве крупных интернейронов. В связи с этим средние значения интенсивности реакции в CBS-позитивных МК существенно ниже, чем среди клеток, экспрессирующих nNOS и HO, которые включают большую группу мелких клеток с высоким содержанием этих ферментов.

Межъядерные иммунопозитивные интернейроны, как правило, располагаются одиночно или небольшими группами, состоящими из 2–4 клеток, поэтому плотность их расположения невелика. Наиболее высокие значения концентрации установлены нами среди nNOS-позитивных интернейронов, но и они значительно меньше цифр, полученных для внутриядерных нейронов соответствующей медиаторной принадлежности [3, 7]. Еще реже выявляются МЯ, содержащие HO и CBS. При сравнительном исследовании обнаружены определенные локальные отличия организации МК. Более отчетливо они прослеживаются между МЯ1 — клеточной группой, включающей относительно большое число крупных нейронов, в т.ч. гигантских [21], и МЯ2–МЯ3. Среди nNOS- и HO-позитивных нейронов последних двух групп МЯ существенно выше значения всех количественных показателей.

Заключение

Несмотря на то, что межъядерных интернейронов значительно меньше, чем внутриядерных клеток, МК имеют необходимые структурные предпосылки для успешного управления интеграционными процессами в мозге. Они занимают стратегически важные участки в продолговатом мозге, продуцируют газотрансмиттеры и классические медиаторы нервного импульса, формируют локальные цепи интернейронов между вазомоторными ядрами, обмениваются многочисленными связями с выше- и нижележащими отделами мозга, что обеспечивает им широкие возможности для межнейронного взаимодействия. Ограниченного числа газотрансмиттерных клеток может быть вполне достаточно для существенного влияния на функции мозга, поскольку газообразные посредники проявляют себя не как классические медиаторы, реализующие свое влияние через поверхностные рецепторы целевых клеток, а как объемные нейротрансмиттеры, создающие вокруг себя «поля воздействия». Оказывая влияние на присутствующие здесь МК, продуцирующие ацетилхолин, норадреналин, серотонин, они способны выполнять в мозге многообразные функции: от управления сложными каскадными процессами, создающими условия для функционального объединения отдельных нейронов в нервные центры, до локальной регуляции нейронной активности и ее сопряжения с интенсивностью местного кровотока.

Конфликт интересов

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

ЛИТЕРАТУРА

1. Guyenet P.G. Role of the ventral medulla oblongata in blood pressure regulation. In: Central Regulation of Autonomic Functions. A.D. Loewy, K.M. Spayer (eds.). NY: Oxford University Press. 1990. 145–167.
2. Черток В.М., Коцюба А.Е., Коцюба Е.П. Гемоксигеназа-2 в нейронах головного и спинного мозга человека. *Вестник РАМН*. 2012; 6: 36–41.

3. Babich E.V., Chertok V.M., Kotsyuba A.E. Нитроксидагические нейроны в ядрах продолговатого мозга у нормо- и гипертензивных крыс. *Bull. Exper. Biology and Med.* 2009; 148 (2): 193–195.
4. Kringelbach M.L., Berridge K.C. Towards a functional neuroanatomy of pleasure and happiness. *Trends Cogn. Sci.* 2009; 13: 223–228.
5. Elliott L., Mancall M.D., David G., Brock M.D. Gray's Clinical Neuroanatomy: The Anatomic Basis for Clinical Neuroscience. Philadelphia: Elsevier Saunders. 2011. 433 p.
6. Scheibel M.E., Scheibel A.B. Reticular formation of the brain. Boston. 1958. P. 31–55.
7. Chertok V.M., Kotsyuba A.E., Kotsyuba E.P., Startseva M.S. Two pools of interneurons in the bulbar region of the cardiovascular center of rats. *Dokl. Biological Sciences.* 2015; 463 (1): 178–182.
8. Цырлин В.А. Бульбарный вазомоторный центр — морфофункциональная и нейрохимическая организация. *Артериальная гипертензия.* 2003; 9 (3): 77–81.
9. Kotsyuba A.E., Chertok V.M., Kotsyuba E.P. Comparative characteristics of serotonergic neurons in some nuclei of rat medulla. *Cell and Tissue Biology.* 2011; 5 (4): 503–510.
10. Коцюба А.Е., Черток В.М. Гистохимическая и иммуногистохимическая локализация холинацетилтрансфераз в ядрах продолговатого мозга крыс. *Цитология.* 2013; 55 (11): 821–827.
11. Catalano C., Rastelli S. Blood pressure control: hydrogen sulfide, a new gasotransmitter, takes stag. *Nephrology Dialysis Transplantation.* 2009; 24 (5): 1394–1396.
12. Черток В.М., Коцюба А.Е. Новые нейротрансмиттеры и их роль в центральных механизмах регуляции кровообращения. *Тихоокеанский медицинский журнал.* 2013; 4: 27–36.
13. Черток В.М., Коцюба А.Е., Старцева М.С. Применение метода компьютерного совмещения изображений для топохимического картирования нейронов мозга. *Тихоокеанский медицинский журнал.* 2014; 3: 95–98.
14. Cauli V., Hamel E. Revisiting the role of neurons in neurovascular coupling. *Front Neuroenergetics.* 2010; 2 (9): 1–7.
15. Yu F.H., Mantegazza M., Westenbroek R.E., Robbins C.A., Kalume F., Burton K.A., Spain W.J., McKnight G.S., Scheuer T., Catterall W.A. Reduced sodium current in GABAergic interneurons in a mouse model of severe myoclonic epilepsy in infancy. *Nature Neurosci.* 2006; 9 (9): 1142–1149.
16. Tepper J.M., Tecuapetla F., Koós T., Ibáñez-Sandoval O. Heterogeneity and diversity of striatal GABAergic interneurons. *Front. Neuroanat.* 2010; 4: 1–18.
17. Andresen J.J., Shafi N.I., Durante W., Bryan R.M. Effects of carbon monoxide and heme oxygenase inhibitors in cerebral vessels of rats and mice. *Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol.* 2006; 291: 223–230.
18. Coletta C., Papapetropoulos A., Erdelyi K., Olah G., Modis K., Panopoulos P., Asimakopoulou A., Gerö D., Sharina I., Martin E., Szabo C. Hydrogen sulfide and nitric oxide are mutually dependent in the regulation of angiogenesis and endothelium-dependent vasorelaxation. *Proc. Natl. Acad. Sci USA.* 2012; 109 (23): 9161–9166.
19. Kondo K., Bhushan S., King A.L., Prabhu S.D., Hamid T., Koenig S., Predmore B.L., Gojon G.Sr., Gojon G., Jr., Wang R., Karusula N., Nicholson C.K., Calvert J.W., Lefler D.J. H₂S protects against pressure overload-induced heart failure via upregulation of endothelial nitric oxide synthase. *Circulation.* 2013; 127: 1116–1127.
20. Granata A.R., Kitai S.T. Intracellular analysis in vivo different barosensitive bulbospinal neurones in the rat rostral ventrolateral medulla. *J. Neurosci.* 1992; 12: 1–20.
21. Лебедев В.П. Бульбоспинальный уровень нервной регуляции сосудов. В кн.: Физиология кровообращения. Регуляция кровообращения. Л.: Наука. 1986. С. 230–267.
22. Lai Y.Y., Clements J.R., Wu X.Y., Shalita T., Wu J.P., Kuo J.S., Siegel J.M. Brainstem projections to the ventromedial medulla in cat: retrograde transport horseradish peroxidase and immunohistochemical studies. *J. Comp. Neurology.* 1999; 408: 419–436.
23. McAllen R.M. Mediation of fastigial pressor response and a somatosympathetic reflex by ventral medullary neurones in the cat. *J. Physiol.* 1985; 368: 423–433.
24. Бокерия Л.А., Лищук В.А. Концепция регуляции сердечно-сосудистой системы — от управления функциями к согласованию возможностей (часть 1 — физиологические предпосылки). *Клиническая физиология кровообращения.* 2008; 2: 53–67.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Черток Виктор Михайлович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой анатомии человека ТГМУ

Адрес: 690002, Владивосток, пр-т Острякова, д. 2, тел.: +7 (423) 245-34-73, e-mail: chertokv@mail.ru

Коцюба Александр Евгеньевич, доктор медицинских наук, доцент, доцент кафедры анатомии человека ТГМУ

Адрес: 690034, Владивосток, пр-т Острякова, д. 2, тел.: +7 (423) 231-59-08, e-mail: akotc@mail.ru

Старцева Марина Сергеевна, старший преподаватель, кафедры физики и математики ТГМУ

Адрес: 690016, Владивосток, пр-т Острякова, д. 2, тел.: +7 (423) 245-17-22, e-mail: startsevams@mail.ru

Геннадий Григорьевич Онищенко



21 октября 2015 г. исполнилось 65 лет академику РАН Геннадию Григорьевичу Онищенко.

Геннадий Григорьевич искренне уважаем, давно и хорошо известен как выдающаяся личность в медицинской науке и отечественном здравоохранении.

23-летним юношей, успешно окончив санитарно-гигиенический факультет Донецкого медицинского института имени Максима Горького, Г.Г. Онищенко начал свою трудовую деятельность в системе Министерства путей сообщения СССР в качестве санитарного врача, прошел путь от врача-эпидемиолога на Донецкой железной дороге, главного врача санэпидстанции Московского метрополитена, главного врача Центральной санэпидстанции МПС СССР до первого заместителя Министра здравоохранения России, заместителя руководителя Госкомсанэпиднадзора, затем руководителя Роспотребнадзора и главного государственного санитарного врача Российской Федерации, а ныне — помощника премьер-министра нашей страны.

На всех этапах своей деятельности наряду с огромной профессиональной организаторской работой в отечественном здравоохранении Г.Г. Онищенко активно занимается научной работой. Он автор более 800 научных трудов, в том числе около 50 монографий и книг.

Г.Г. Онищенко — один из ведущих эпидемиологов страны. Он был непосредственным участником

и организатором противоэпидемического обеспечения при технологических и природных катастрофах, включая события в Армении (Нагорный Карабах и Спитак) в 1988 г., в Чечне в 1995 и 2000 гг., в Южной Осетии в 2008 г.

Существенный научный вклад Геннадий Григорьевич внес в изучение эпидемиологии и организацию борьбы с особо опасными и эмерджентными инфекциями, в том числе геморрагическими и подобными лихорадками, ВИЧ-инфекцией и другими, нашедшими отражение в его статьях и монографиях.

Г.Г. Онищенко принимает непосредственное участие в разработке федеральных законов, направленных на обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия населения России, реализации ряда федеральных целевых программ, решении важных практических вопросов профилактики как инфекционных, так и значимых неинфекционных заболеваний.

Свои профессиональные научно-исследовательские и практические достижения Г.Г. Онищенко успешно сочетает с масштабной научно-организационной и общественной деятельностью в важных правительственных комиссиях, Российской академии наук, научных обществах, редколлегиях ряда медицинских журналов и других, что высоко и заслуженно оценивается на государственном и академическом уровне.

Бюро Отделения медицинских наук РАН, редакция журнала «Вестник РАМН», коллеги, ученики сердечно поздравляют Геннадия Григорьевича со славным юбилеем, желают ему отличного здоровья, счастья, неиссякаемой бодрости и творческой активности, новых идей, успехов в трудовой деятельности!



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

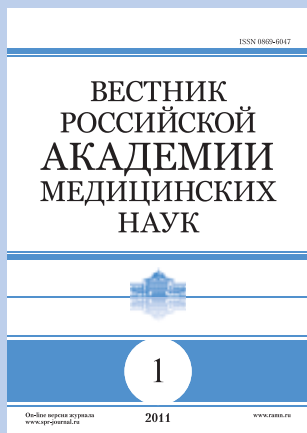
e-mail: orgkomitet@nczd.ru; zmir@sumail.ru



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