

ВЕСТНИК  
РОССИЙСКОЙ  
АКАДЕМИИ  
МЕДИЦИНСКИХ  
НАУК

ANNALS OF THE RUSSIAN ACADEMY  
OF MEDICAL SCIENCES



3

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.  
Индексируется в базах данных: Elsevier BV Scopus, Pub Med, Embase, EBSCO.  
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.А. КУБАНОВ**

---

## 2016/том 71/№3

---

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](mailto: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).  
The journal is included in Elsevier BV Scopus, Pub Med, Embase, EBSCO.  
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

**SCIENCE EDITOR: A.A. KUBANOV**

---

# 2016/ 71 (3)

---

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](mailto:vestnikramn@nczd.ru)

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

**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ БИОХИМИИ**

- М.Т. Луценко, И.А. Андриевская, И.В. Довжикова*  
Энергетический обмен в плаценте и роль нарушений в развитии плацентарной недостаточности при обострении цитомегаловирусной инфекции

**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ  
ИНФЕКЦИОННЫХ БОЛЕЗНЕЙ**

- А.В. Тутельян, В.М. Писарев, Н.З. Минаева, А.М. Гапонов, А.Н. Грачёва, Г.Г. Солопова*  
Генерация антибиотикотолерантных бактерий при гематологических и онкологических заболеваниях, сопровождающихся иммунокомпрометацией: новая проблема инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи

**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ  
КЛЕТочНОЙ ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ  
И ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ**

- В.М. Свистушкин, С.В. Старостина, А.В. Люндуп, М.Г. Дедова, Л.С. Будейкина, М.В. Свистушкин, М.Е. Крашенинников, Д.С. Барановский*  
Возможности клеточных технологий в лечении рубцовых поражений голосовых складок

**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ  
ОРГАНИЗАЦИИ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ**

- А.В. Березной, Р.Т. Сайгитов*  
«Цифровая революция» и инновационные бизнес-модели в здравоохранении: глобальные тренды и российские реалии
- Т.В. Куличенко, Е.Н. Байбарина, А.А. Баранов, Л.С. Намазова-Баранова, С.Г. Пискунова, Е.А. Беседина, А.Н. Садовщикова, О.Р. Юлдашев, С.А. Мухортова, И.В. Артемова, В.В. Черников, А.В. Харьков, Е.Г. Чистякова, Е.Л. Вологодина, Т.Н. Капутская, Р.Ф. Кирипова*  
Оценка качества стационарной помощи детям в регионах Российской Федерации

**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ  
ОФТАЛЬМОЛОГИИ**

- М.М. Бикбов, А.Р. Халимов, Э.Л. Усубов*  
Ультрафиолетовый кросслинкинг роговицы

**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ  
ПУЛЬМОНОЛОГИИ**

- И.В. Тихонова, Н.И. Косякова, А.В. Танканаг, Н.К. Чемерис*  
Влияние обструкции верхних дыхательных путей на микроциркуляцию кожи у больных бронхиальной астмой

**BIOCHEMISTRY: CURRENT ISSUES**

- 177** *M.T. Lucenko, I.A. Andrievskaya, I.V. Dolzhikova*  
Energy Metabolism in the Placenta and the Role of Disturbances in the Development of Placental Insufficiency at an Exacerbation of Cytomegalovirus Infection

**INFECTIOUS DISEASES:  
CURRENT ISSUES**

- 183** *A.V. Tutelyan, V.M. Pisarev, N.Z. Minaeva, A.M. Gaponov, A.N. Gracheva, G.G. Solopova*  
Generation of Antibiotic Tolerant Bacterial Persisters in Immunocompromized Patients with Hematologic and Malignant Diseases: A New Problem of Health-Care Associated Infections

**CELL TRANSPLANTOLOGY  
AND TISSUE ENGINEERING:  
CURRENT ISSUES**

- 190** *V.M. Svistushkin, S.V. Starostina, A.V. Lundup, M.G. Dedova, L.S. Budykina, V.M. Svistushkin, M.E. Krashennnikov, D.S. Baranovskii*  
The Possibilities of Cell Technologies in the Treatment of Cicatricial Lesions of the Vocal Folds

**HEALTH CARE MANAGEMENT:  
CURRENT ISSUES**

- 200** *A. Bereznoy, R. Saygitov*  
Digital Revolution and Innovative Business Models in Healthcare: Global Trends and Russian Realities
- 214** *T.V. Kulichenko, E.N. Baybarina, A.A. Baranov, L.S. Namazova-Baranova, S.G. Piskunova, E.A. Besedina, A.N. Sadvshikova, O.R. Yuldashev, S.A. Mukhortova, I.V. Artemova, V.V. Chernikov, A.V. Kharkin, E.G. Chistyakova, E.L. Vologdina, T.N. Kaputskaya, R.F. Kiripova*  
Pediatric Health Quality Assessment in Different Regions of Russian Federation

**OPHTHALMOLOGY:  
CURRENT ISSUES**

- 224** *M.M. Bikbov, A.R. Khalimov, E.L. Usubov*  
Ultraviolet Corneal Crosslinking

**PULMONOLOGY:  
CURRENT ISSUES**

- 233** *I.V. Tikhonova, N.I. Kosyakova, A.V. Tankanag, N.K. Chemeris*  
Effects of the Airway Obstruction on the Skin Microcirculation in Patients with Bronchial Asthma

### АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ЭНДОКРИНОЛОГИИ

*Т.Т. Цориев, Ж.Е. Беляя, Л.Я. Рожинская, Г.А. Мельниченко, 240*  
*Т.А. Гребенникова, Л.В. Никанкина, А.В. Ильин,*  
*И.И. Дедов*

Содержание миокинов в сыворотке крови у пациентов с эндогенным гиперкортицизмом и акромегалией: одномоментное исследование «случай–контроль»

*Л.И. Колесникова, И.М. Мадаева, Н.В. Семёнова, 248*  
*Е.В. Осипова, М.А. Даренская*

Гендерные особенности процессов свободно-радикального окисления липидов при возрастных гормонально-дефицитных состояниях

### ENDOCRINOLOGY: CURRENT ISSUES

*T.T. Tsoriev, Z.E. Belaya, L.Y. Rozhinskaya, G.A. Melnitchenko,*  
*T.A. Grebennikova, L.V. Nikankina, A.V. Ilyin, I.I. Dedov*  
Serum Myokines Levels in Patients with Endogenous Cushing Syndrome and Acromegaly: Cross-Sectional Case–Control Study

*L.I. Kolesnikova, I.M. Madaeva, N.V. Semenova, E.V. Osipova,*  
*M.A. Darenskaya*

Gender Features of Radical Oxidation of Lipids in Menopausal Women and Men in Andropause

### СОСТОЯНИЕ МЕДИЦИНСКОЙ НАУКИ

*А.В. Лисица, Е.А. Пономаренко, П.Г. Лохов, А.И. Арчаков 255*  
Постгеномная медицина: альтернатива биомаркерам

*A.V. Lisitsa, E.A. Ponomarenko, P.G. Lokhov, A.I. Archakov*  
Postgenomic Medicine: Alternative to Biomarkers

### STATE OF MEDICAL SCIENCES

### ЮБИЛЕИ

176

*Юлия Васильевна Анапына*  
*Нина Владимировна Зайцева*  
*Виталий Ильич Литвинов*  
*Дмитрий Константинович Львов*  
*Могели Шалвович Хубутия*

### ANNIVERSARIES, CONGRATULATIONS

**261** *Yulia V. Ananyina*  
**262** *Nina V. Zaitseva*  
**264** *Vitaly I. Litvinov*  
**265** *Dmitry K. Lvov*  
**267** *Mogely Sh. Khubutia*

DOI: 10.15690/vramn534

М.Т. Луценко, И.А. Андриевская, И.В. Довжикова

Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания, Благовещенск, Российская Федерация

## Энергетический обмен в плаценте и роль нарушений в развитии плацентарной недостаточности при обострении цитомегаловирусной инфекции

**Цель исследования:** определить особенности энергетического обмена в плаценте и установить его роль в развитии плацентарной недостаточности при обострении цитомегаловирусной (ЦМВ) инфекции в 25–28 недель беременности. **Методы.** В проспективное исследование по типу случай–контроль включены беременные, родоразрешившиеся на сроке 37–38 недель. Всего обследовано 50 женщин, из них 25 ЦМВ-серопозитивных с обострением ЦМВ-инфекции на 25–28-й неделе беременности и титром антител IgG к ЦМВ 1:1600 на момент исследования и 25 ЦМВ-серонегативных на тех же сроках беременности. Исследование проводилось в акушерском отделении патологии беременности и лаборатории механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при неспецифических заболеваниях легких Дальневосточного научного центра физиологии и патологии дыхания совместно с городским родильным домом при Городской клинической больнице в период с 2014 по 2015 г. Активность пируватдегидрогеназы,  $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназы и дегидрогеназы липоевой кислоты определяли гистохимическим методом на криостатных срезах свежесзамороженных тканей плацент по методу Р. Лилли. Оценка интенсивности гистохимических реакций осуществлялась цитометрическим методом по программе Scion. Морфология плаценты изучалась на парафиновых срезах, окрашенных гематоксилином-эозином по Бёмеру, пикрофуксином по Ван Гизону и альциановым синим по Стивдену. **Результаты.** Обострение ЦМВ-инфекции на 25–28-й неделе беременности приводит к снижению в плаценте интенсивности реакции на пируватдегидрогеназу в 2,4 раза, дегидрогеназу липоевой кислоты — в 2,9 раза и  $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназу — в 1,5 раза. При исследовании морфоструктуры плаценты наблюдалось увеличение числа ворсин в состоянии гибели или их некротические изменения, а также увеличение числа бессосудистых незрелых ворсин. В материнской части плаценты отмечались сужение просвета сосудов, гипертрофия мышечной и соединительнотканной оболочек. **Заключение.** Полученные данные свидетельствуют о том, что обострение ЦМВ-инфекции на 25–28-й неделе беременности вызывает снижение интенсивности энергетического обмена в плаценте за счет подавления активности ферментов  $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназного и пируватдегидрогеназного комплексов, что сопровождается нарушением морфоструктуры плацентарного барьера, развитием плацентарной недостаточности.

**Ключевые слова:** цитомегаловирус, беременность, плацента, пируватдегидрогеназный комплекс.

(Для цитирования): Луценко М.Т., Андриевская И.А., Довжикова И.В. Энергетический обмен в плаценте и роль нарушений в развитии плацентарной недостаточности при обострении цитомегаловирусной инфекции. *Вестник РАМН.* 2016;71(3):177–182. doi: 10.15690/vramn534)

177

М.Т. Lucenko, I.A. Andrievskaya, I.V. Dolzhikova

Far-Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration, Blagoveschensk, Russian Federation

## Energy Metabolism in the Placenta and the Role of Disturbances in the Development of Placental Insufficiency at an Exacerbation of Cytomegalovirus Infection

**Objective.** Determine the characteristics of placental energy metabolism and to establish its role in the development of placental insufficiency at an exacerbation of cytomegalovirus (CMV) infection in 25–28 weeks of gestation. **Methods.** In a prospective study of the case-control type included pregnant, delivery on term of 37–38 weeks. The sample of 50 pregnant women, including 25 CMV-seropositive with exacerbation of CMV infection at 25–28 weeks of gestation and with the titer of IgG antibodies to CMV 1: 1600 at the time of the study and 25 CMV-seronegative women the same pregnancy. The study was conducted at the obstetric department of pathology of pregnancy and laboratory «Etiopathogenesis mechanisms and recovery processes with non-specific lung diseases» Far Eastern Scientific Center of Physiology and Pathology of Respiration together with the urban maternity ward at City Hospital in the period from 2014 to 2015. The activity of pyruvate dehydrogenase,  $\alpha$ -ketoglutarate dehydrogenase and a dehydrogenase lipoic acid was determined by histochemical methods on cryostat sections of fresh frozen tissue placenta by the method of R. Lilly. Evaluation of the intensity of histochemical reactions carried out by the program cytophotometry Scion. The morphology of the placenta was studied in paraffin sections stained with hematoxylin Böhmer-eosin, van Gieson's picrofuchsin and alcian blue by Steedman. **Results.** Exacerbation of CMV infection at 25–28 weeks of gestation leads to a decrease in the intensity of the histochemical reaction of pyruvate dehydrogenase in 2.4 times, lipoic acid dehydrogenase — in 2.9 times, and  $\alpha$ -ketoglutarate dehydrogenase — in 1.5 times in the syncytiotrophoblast villous placenta. The placental morphological structure study showed villi in a state of death or necrotic changes, as well as increasing the number of avascular immature villi. In the maternal part of the placenta were marked constriction clearances, hypertrophy of muscle and connective tissue layers blood vessels. **The conclusion.** The findings suggest that the exacerbation of CMV infection at 25–28 weeks of pregnancy causes a decrease in the intensity of energy metabolism in the placenta by suppressing the activity of the enzymes  $\alpha$ -ketoglutarate dehydrogenase and pyruvate dehydrogenase complex, which is accompanied by disturbances of the morphological structure of the placental barrier, the development of placental insufficiency.

**Key words:** cytomegalovirus, pregnancy, placenta, pyruvate dehydrogenase complex.

(For citation): Lucenko MT, Andrievskaya IA, Dolzhikova IV. Energy Metabolism in the Placenta and the Role of Disturbances in the Development of Placental Insufficiency at an Exacerbation of Cytomegalovirus Infection. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2016;71(3):177–182. doi: 10.15690/vramn534)

## Обоснование

Как известно, многие обменные и метаболические процессы в плаценте подвержены изменениям под действием патогенных факторов, среди которых выделяют цитомегаловирусную (ЦМВ) инфекцию. Латентная ЦМВ-инфекция лежит в основе развития синдрома плацентарной недостаточности с расстройством маточно-плацентарного кровообращения и структурными маркерами патологической незрелости ворсин [1]. Как показывают исследования, в 55 и 61% случаев при самопроизвольных выкидышах живым и мертвым плодом, соответственно, преобладает вариант незрелых промежуточных ворсин, в остальных группах — диссоциированное развитие плаценты: в 68 и 73% случаев при анте-/интранатальной и перинатальной гибели плода, соответственно. Сосудисто-альтеративные нарушения в сочетании с инволютивными процессами в наибольшей степени выражены при анте-/интранатальной гибели плода [2]. Учитывая тератогенное действие цитомегаловируса на ткани и органы плода в период органогенеза, перспективным является изучение энергообменных процессов в плаценте на сроке 25–28 недель беременности, что позволит дать оценку адаптивных возможностей фетоплацентарного комплекса и закономерностей развития плацентарной недостаточности, которая имеет решающее значение в формировании пороков развития.

**Цель:** определить особенности энергетического обмена в плаценте при обострении ЦМВ-инфекции на 25–28-й неделе беременности — в период высокого риска развития нарушений маточно-плацентарно-плодового кровообращения и плацентарной недостаточности.

## Методы

### Дизайн исследования

Проведено проспективное исследование по типу случай–контроль.

### Критерии соответствия

**Критериями включения в исследование** явились обострение ЦМВ-инфекции на 25–28-й неделе беременности с клиническими признаками острой респираторной вирусной инфекции, стойкая клиническая ремиссия герпесвирусной инфекции.

**Критерии исключения из исследования:** первичная ЦМВ-инфекция, обострение других воспалительных заболеваний экстрагенитальной патологии, наличие инфекций, передающихся половым путем.

Клинический диагноз первичной ЦМВ-инфекции устанавливали по наличию в периферической крови анти-тел (иммуноглобулин, Ig) класса М к ЦМВ, низкоавидных IgG (индекс авидности <65%), а также ДНК ЦМВ, выявляемой методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в крови или моче; обострение ЦМВ-инфекции — по наличию IgM к ЦМВ, высокоавидных IgG (индекс авидности >65%), а также ДНК ЦМВ в соскобах с буккального эпителия и слизистой оболочки шейки матки.

### Условия проведения

Первый этап включал стационарное обследование беременных на 25–28-й неделе беременности в акушерском отделении патологии беременности Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания».

Второй этап проводился в стационаре городского родильного дома Областного государственного учреждения здравоохранения «Городская клиническая больница» при сроке 37–38 недель и включал оценку течения беременности и родов.

Морфологические исследования плаценты выполнялись в лаборатории механизмов этиопатогенеза и восстановительных процессов дыхательной системы при неспецифических заболеваниях легких ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания».

### Исходы исследования

В качестве основного оцениваемого результата рассматривали активность ферментов  $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназного и пируватдегидрогеназного комплексов, морфологическую структуру плаценты.

Дополнительно оценивали течение беременности и родов.

### Продолжительность исследования

Исследование проводилось в 2014–2015 гг.

### Описание медицинского вмешательства

Проводился забор крови из локтевой вены на 25–28 и 37–38-й неделе беременности, плаценты — на 37–38-й неделе.

### Методы регистрации исходов

У обследуемых взятие крови для ПЦР производили в стандартные вакуумные пробирки с коагулянтом в количестве 5 мл. Для серологических исследований использовали кровь, не содержащую антикоагулянты. Выделение мононуклеарных клеток крови для ПЦР проводилось с использованием раствора фиколл-урографина плотностью 1,077 г/мл (ООО «НПО ДНК-технология», Россия). Серологические исследования выполняли в парных сыворотках с интервалом 10–14 сут. Утренняя порция мочи для ПЦР-анализа собиралась в стерильный контейнер объемом 60 мл. Забор буккального эпителия и содержимого цервикального канала производили стерильным тупфером в стандартные пластиковые пробирки с физиологическим раствором объемом 0,5 мл.

Для морфологических исследований материал фиксировали в 10% нейтральном формалине, обезвоживали в спиртах и заливали в парафин по общепринятой методике. Для анализа общего плана строения плаценты парафиновые срезы окрашивали гематоксилином-эозином по Бёмеру (Bömer); для оценки состояния соединительной ткани — по Ван Гизону. Наличие кислых гликозаминогликанов выявляли при помощи метода Сидмена путем окраски альциановым синим.

Активность пируватдегидрогеназы,  $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназы и дегидрогеназы липоевой кислоты определяли гистохимическим методом на криостатных срезах свежемороженых тканей плаценты [3].

Метод основан на восстановлении соли тетразолия в формазан электронами, акцептируемыми от субстрата через кофермент НАД ( $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназа, дегидрогеназа липоевой кислоты) и НАДФ (пируватдегидрогеназа). Криостатные срезы свежемороженых тканей плаценты помещали в инкубационный раствор на 30 мин при 37°C. После этого срезы промывали дистиллированной водой и фиксировали в 10% нейтральном формалине, затем вновь промывали дистиллированной водой, слегка подсушивали и заключали в глицерин-желатин. Конт-

Таблица 1. Состав и количество реагентов, используемых в гистохимических реакциях

Наименование реакции	Состав инкубационного раствора	Количество
Пируватдегидрогеназа	0,1 М фосфатный буфер pH 7,4	1 мл
	Нитросиний тетразолий (ICN Biomedicals, США)	1 мг
	НАДФ (Applichem, Германия)	1 мг
	Na-пируват (ICN Biomedicals, США)	10 мг
$\alpha$ -Кетоглутаратдегидрогеназа	0,1 М фосфатный буфер pH 7,4	1 мл
	Нитросиний тетразолий (ICN Biomedicals, США)	1 мг
	НАД (Sigma, США)	1 мг
	Натриевая соль $\alpha$ -кетоглутаровой кислоты (ICN Biomedicals, США)	16,8 мг
Дегидрогеназа липоевой кислоты	0,1 М фосфатный буфер pH 7,4	1 мл
	Нитросиний тетразолий (ICN Biomedicals, США)	1 мг
	НАД (Sigma, США)	1 мг
	Липоевая кислота (Sigma, США)	10 мг

рольные срезы инкубировали в среде, содержащей вместо субстрата адекватное количество фосфатного буфера.

Реакции выполнялись по следующим прописям (табл. 1).

Полученные препараты изучали с помощью цитофотомикроскопа МЕЛ (Япония), связанного с компьютером по программе «Scion» (США). Активность продуктов реакции на ферменты пируватдегидрогеназного комплекса рассчитывалась автоматически при цитофотометрическом исследовании и выражалась в пикселях/мкм<sup>2</sup>.

**Этическая экспертиза**

Обследование проводили с учетом требований Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki, 2008) и Правил клинической практики в Российской Федерации, утвержденных приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 № 266. Исследование выполнено в рамках НИР 059 и может считаться не противоречащим основам медицинской этики. Дополнительные рекомендации комиссия по этике при ФГБНУ «Дальневосточный научный центр физиологии и патологии дыхания» не дала (протокол № 68 от 24.04.2012). Все женщины подписали письменное информированное согласие.

**Статистический анализ**

Статистический анализ и обработку данных проводили с использованием пакета прикладных программ Statistica v. 6.0 (StatSoft Inc., США). Для определения достоверности различий использовали непарный параметрический критерий Стьюдента. Для определения достоверности различий в случае негауссовых распределений — непараметрические критерии Колмогорова–Смирнова и Манна–Уитни. Критический уровень значимости был принят за 5% (0,05). Данные представлены как среднее арифметическое и стандартная ошибка среднего арифметического (M±m).

**Результаты**

**Участники исследования**

В основную группу вошли 25 ЦМВ-серопозитивных беременных с обострением ЦМВ-инфекции на 25–28-й неделе беременности, родоразрешившихся на сроке 37–38 недель, с титром антител класса G к ЦМВ 1:1600. Контрольную группу составили 25 ЦМВ-серонегативных беременных на тех же сроках беременности.

Средний возраст в основной группе составил 24,3±0,4 года и значимо не отличался от контрольной группы — 23,2±0,3 года (p>0,05).

**Основные результаты исследования**

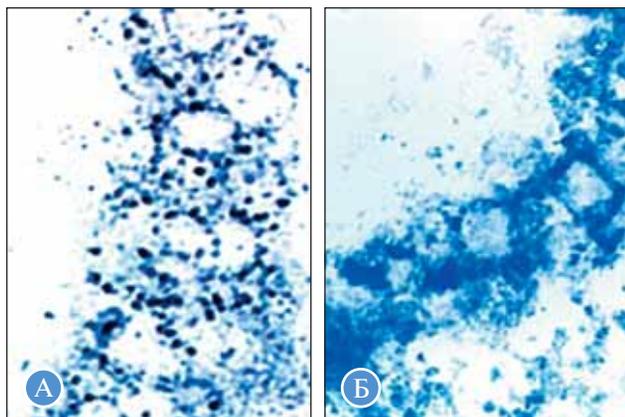
В ходе исследования криостатных срезов свежемороженых тканей плацент основной группы выявлено снижение интенсивности гистохимических реакций на ферменты пируватдегидрогеназного комплекса — пируватдегидрогеназу (рис. 1),  $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназу (рис. 2) и дегидрогеназу липоевой кислоты (рис. 3), что свидетельствовало о нарушении энергетического обмена.

При цитофотометрическом анализе таких препаратов были выявлены количественные показатели активности исследуемых ферментов пируватдегидрогеназного комплекса (табл. 2). Наиболее выраженное снижение энзиматической активности в 2,9 и 2,4 раза (p<0,001) было характерно для дегидрогеназы липоевой кислоты и пируватдегидрогеназы, соответственно. Для  $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназы зарегистрировано снижение цитофотометрических показателей в 1,5 раза (p<0,01).

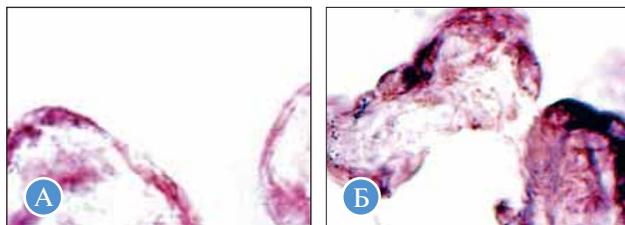
При дальнейшем морфологическом исследовании парафиновых срезов тех же плацент были выявлены существенные изменения морфоструктуры трофобласта и стромы ворсин, плодовых и маточных сосудов. Отмечалось увеличение числа погибших ворсин плаценты от 10 до 12 на 1000 подсчитанных (рис. 4, А). Синцитиотрофобласт большинства ворсин был истончен (рис. 4, Б). Наряду с этим наблюдалось уменьшение числа плодовых сосудов ворсин, что способствовало появлению очагов некротических изменений соединительной ткани, вызывающих нарушение плацентарно-плодового кровообращения.



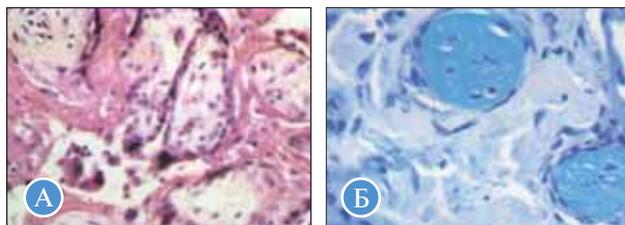
Рис. 1. Синцитиотрофобласт ворсинки плаценты в 37–38 недель беременности. Обострение цитомегаловирусной инфекции в 25–28 недель беременности. Гистохимическая реакция на пируватдегидрогеназу по Р. Лилли в контрольной (А) и основной группах (Б). Ув. 15×90



**Рис. 2.** Синцитиотрофобласт ворсинки плаценты в 37–38 недель беременности. Обострение цитомегаловирусной инфекции в 25–28 недель беременности. Гистохимическая реакция на  $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназу по Р. Лилли в контрольной (А) и основной группах (Б). Ув. 15×90



**Рис. 3.** Синцитиотрофобласт ворсинки плаценты в 37–38 недель беременности. Обострение цитомегаловирусной инфекции в 25–28 недель беременности. Гистохимическая реакция на дегидрогеназу липоевой кислоты по Р. Лилли в контрольной (А) и основной группах (Б). Ув. 10×90



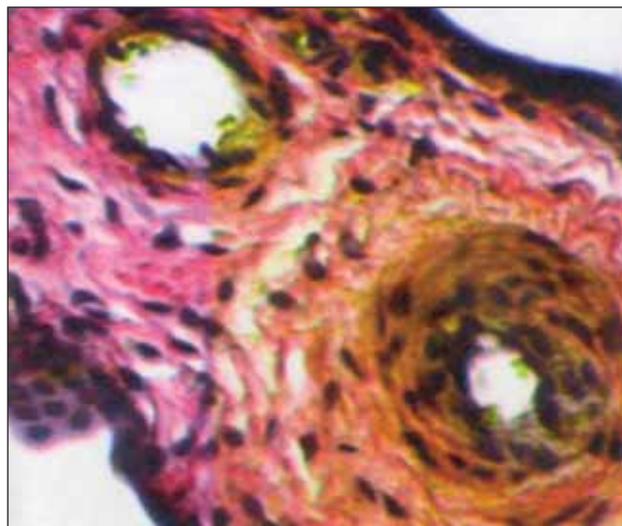
**Рис. 4.** Плацента в 37–38 недель беременности. Обострение цитомегаловирусной инфекции в 25–28 недель беременности. А — деструктивные изменения ворсин: отсутствие кровеносных сосудов, разрастание соединительной ткани, истончение синцитиотрофобласта. Окраска гематоксилином-эозином по Бёмеру. Ув. 10×40. Б — некроз стромы ворсин. Окраска на гликозаминогликаны альциановым синим по Стивдену. Ув. 15×40

В материнской части плаценты многие сосуды имели узкий просвет с гипертрофированной мышечной и соединительнотканной оболочкой (рис. 5), что приводило к уменьшению доступа материнской крови к ворсинкам, а также снижению обменных процессов между кровью матери и плода.

**Таблица 2.** Цитофотометрические показатели активности ферментов пируватдегидрогеназного комплекса в плаценте при обострении цитомегаловирусной инфекции на 25–28-й неделе беременности

Показатели	Основная группа	Контрольная группа
Пируватдегидрогеназа, пиксель/мкм <sup>2</sup>	35,00±0,95*	85,00±1,20
Дегидрогеназа липоевой кислоты, пиксель/мкм <sup>2</sup>	23,50±0,85*	68,30±1,7
$\alpha$ -Кетоглутаратдегидрогеназа, пиксель/мкм <sup>2</sup>	29,50±1,25**	45,00±1,7

*Примечание.* \* — достоверность различий по отношению к контрольной группе при  $p < 0,001$ ; \*\* — достоверность различий по отношению к контрольной группе при  $p < 0,01$ .



**Рис. 5.** Материнская часть плаценты в 37–38 недель беременности. Обострение цитомегаловирусной инфекции в 25–28 недель беременности. Кровеносные сосуды с резко суженым просветом и гипертрофированной мышечной и соединительнотканной оболочкой. Окраска пикрофуксином по Ван Гизону. Ув. 10×40

#### Дополнительные результаты исследования

У обследуемых ЦМВ-серопозитивных женщин основной группы беременность осложнялась хронической плацентарной недостаточностью (53,3%;  $p < 0,001$ ) компенсированной (94%;  $p < 0,001$ ) и субкомпенсированной (6%) формы, задержкой роста плода (11%). По данным ультразвукового исследования у этих же беременных диагностированы нарушения со стороны амниотической жидкости (35%). В контрольной группе беременных компенсированная форма хронической плацентарной недостаточности выявлялась в 5% случаев.

У 93% беременных основной группы роды произошли в срок 37–38 недель, у 7% — преждевременные.

#### Обсуждение

Как известно, углеводы и некоторые аминокислоты, прежде чем перейти в заключительный этап катаболизма для образования диоксида углерода и воды, превращаются в оксалоацетат-КоА и ацетил-КоА. Последний включается в цикл лимонной кислоты [4–6].

Главным источником ацетил-КоА является пирувиноградная кислота, образуемая в реакциях катаболизма глюкозы [7–9]. Превращение пирувата в ацетил-КоА происходит при участии набора ферментов структурно объединенных в пируватдегидрогеназный комплекс [10–12]. Образование ацетил-КоА — необратимый этап катаболизма. Этот комплекс регулируется как в сторону усиления активности, так и ингибирования со стороны продуктов метаболизма и факторами, поступающими из-

вне [13–15]. Так, пируватдегидрогеназный комплекс активизируется под влиянием инсулина [16, 17] через ионы кальция. В миокарде пируватдегидрогеназный комплекс усиливается адреналином [17]. Не исключена возможность нарушения активности пируватдегидрогеназного комплекса вследствие накопления в организме токсинов, которые образуются при различных инфекционных процессах, в том числе ЦМВ-инфекции.

Цитодеструктивное действие ЦМВ на плаценту часто приводит к нарушению функционирования многих ферментных реакций, входящих в энергетический процесс, что подтверждается результатами выполненного исследования. Было установлено подавление активности  $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназного и более выраженного пируватдегидрогеназного комплексов. Выявленные различия представляют результат сложного механизма регуляции пируватдегидрогеназного комплекса по сравнению с  $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназным. Одним из условий снижения активности пируватдегидрогеназного комплекса является уменьшение уровня одного из основных коферментов — липоевой кислоты, которая наиболее уязвима для перекисей жирных кислот. Другой неблагоприятный фактор — нарушение этапов работы цитратного цикла в плаценте.  $\alpha$ -Кетоглутарат, образующийся из изоцитрата, ингибируется белками тегмента ЦМВ, что приводит к подавлению активности сукцинил-КоА, обеспечивающего завершение пируватдегидрогеназного цикла до формирования ацетил-КоА.

Такие расстройства энергетического обмена в плаценте, выявляемые при обострении ЦМВ-инфекции на 25–28-й неделе беременности, становятся причиной ее морфологической дезадаптации, выражающейся в увеличении числа погибших ворсин, их некротическом изменении, появлении большого числа бессосудистых незрелых ворсин. Все это на фоне недостаточности маточного кровотока, вызванной сужением просвета сосудов, приводит к нарушению кровоснабжения плаценты и ишемии ворсин. Последнее, как известно, изменяет транспортную

функцию плацентарного барьера, что является признаком плацентарной недостаточности, имеющей неблагоприятные последствия для плода и новорожденных [18]. В нашем исследовании обострение ЦМВ-инфекции на 25–28-й неделе сопровождалось развитием осложнений беременности — плацентарной недостаточности, задержкой роста плода.

## Заключение

Обострение ЦМВ-инфекции на 25–28-й неделе беременности повышает риск возникновения плацентарной недостаточности, вызванной изменением энергетического обмена в плаценте вследствие ингибирования пируватдегидрогеназного комплекса и активности цикла Кребса на этапе формирования  $\alpha$ -кетоглутаратдегидрогеназным комплексом сукцинил-КоА. Совокупность выявленных патологических процессов в плаценте обуславливает нарушения маточно-плацентарно-плодового кровообращения, развития и прогрессирования плацентарной недостаточности.

## Источник финансирования

Исследование выполнено в рамках НИР 059: «Механизмы повреждающего действия цитомегаловирусной инфекции на ключевые этапы органогенеза плода и морфофункциональное состояние фетоплацентарного комплекса на различных этапах гестации», финансирование за счет средств Федерального агентства научных организаций.

## Конфликт интересов

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

## ЛИТЕРАТУРА

- Fisher S, Genbacev O, Maidji E, Pereira L. Human cytomegalovirus infection of placental cytotrophoblasts in vitro and in utero: implications for transmission and pathogenesis. *J Virol.* 2000;74(15):6808–6820. doi: 10.1128/jvi.74.15.6808–6820.2000.
- Артемчик Т.А., Германенко И.Г., Клецкий С.К. Патоморфологическое исследование плацент при цитомегаловирусной инфекции // *Медицинский журнал.* — 2012. — №3. — С. 10–13. [Artemchik TA, Germanenko IG, Kletskii SK. Patomorphological research in placenta at cytomegalovirus infection. *Med Zhurnal.* 2012;(3):10–13. (In Russ).]
- Лилли Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия. — М.: Мир; 1969. 640 с. [Lilli R. *Patogistologicheskaya tekhnika i prakticheskaya gistokhimiya.* Moscow: Mir; 1969. 640 p. (In Russ).]
- Starai VJ, Escalante-Semerena JC. Acetyl-coenzyme A synthetase (AMP forming). *Cell Mol Life Sci.* 2004;61(16):2020–2030. doi: 10.1007/s00018-004-3448-x.
- Chen Y, Daviet L, Schalk M, et al. Establishing a platform cell factory through engineering of yeast acetyl-CoA metabolism. *Metabol Eng.* 2013;15:48–54. doi: 10.1016/j.ymben.2012.11.002.
- Kozak BU, van Rossum H, Benjamin K, et al. Replacement of the *Saccharomyces cerevisiae* acetyl-CoA synthetases by alternative pathways for cytosolic acetyl-CoA synthesis. *Metabolic Eng.* 2014;21:46–59. doi: 10.1016/j.ymben.2013.11.005.
- Kozak BU, van Rossum HM, Luttik MA, et al. Engineering acetyl coenzyme A supply: functional expression of a bacterial pyruvate dehydrogenase complex in the cytosol of *Saccharomyces cerevisiae*. *MBio.* 2014;5(5):e01696. doi: 10.1128/mBio.01696-14.
- Patel MS, Roche TE. Molecular biology and biochemistry of pyruvate dehydrogenase complexes. *FASEB J.* 1990;4(14):3224–3233.
- Witzmann S, Bisswanger H. The pyruvate dehydrogenase complex from thermophilic organisms: thermal stability and re-association from the enzyme components. *Biochim Biophys Acta.* 1998;1385(2):341–352. doi: 10.1016/s0167-4838(98)00078-8.
- Oud B, Flores CL, Gancedo C, et al. An internal deletion in MTH1 enables growth on glucose of pyruvate-decarboxylase negative, non-fermentative *Saccharomyces cerevisiae*. *Microb Cell Fact.* 2012;11:131. doi: 10.1186/1475-2859-11-131.
- Cronan JE, Zhao X, Jiang Y. Function, attachment and synthesis of lipoic acid in *Escherichia coli*. *Adv Microb Physiol.* 2005;50:103–146. doi: 10.1016/S0065-2911(05)50003-1.
- Schonauer MS, Kastaniotis AJ, Kursu VA, et al. Lipoic acid synthesis and attachment in yeast mitochondria. *J Biol Chem.* 2009;284(35):23234–23242. doi: 10.1074/jbc.M109.015594.
- Кнорре Д.Г., Мызина С.Д. Биологическая химия. — М.; 2003. — 185 с. [Knorre DG, Myzina SD. *Biologicheskaya khimiya.* Moscow; 2003. 185 p. (In Russ).]
- Скулачев В.П. Эволюция биологических механизмов запасаения энергии // *Соросовский образовательный журнал.* — 1996. — №3. — С. 4–10. [Skulachev VP. *Evolutsiya biologicheskikh mekhanizmov zapasaniya energii.* *Sorosovskii obrazovatel'nyi zhurnal.* 1996;(3):4–10. (In Russ).]

15. Perham RN. Domains, motifs, and linkers in 2-oxo acid dehydrogenase multienzyme complexes: a paradigm in the design of a multifunctional protein. *Biochemistry*. 1991;30(35):8501–8512. doi: 10.1021/bi00099a001.
16. Petersen KF, Shulman GI. Etiology of insulin resistance. *Am J Med*. 2006;119(5 Suppl 1):S10–16. doi: 10.1016/j.amjmed.2006.01.009.
17. Witteles RM, Tang WH, Jamali AH, et al. Insulin resistance in idiopathic dilated cardiomyopathy: a possible etiologic link. *J Am Coll Cardiol*. 2004;44(1):78–81. doi: 10.1016/j.jacc.2004.03.037.
18. Стрижаков А.Н., Тимохина Т.Ф., Баев О.Р. Фетоплацентарная недостаточность: патогенез, диагностика, лечение // *Вопросы гинекологии, акушерства и перинатологии*. — 2003. — Т. 2. — №2. — С. 53–63. [Strizhakov AN, Timokhina TF, Baev OR. Fetoplacental insufficiency: pathogenesis, diagnostics, treatment. *Problems of gynecology, obstetrics, and perinatology*. 2003;2(2):53–63. (In Russ).]

#### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Луценко Михаил Тимофеевич**, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, руководитель лаборатории механизмов этиопатогенеза восстановительных процессов дыхательной системы при неспецифических заболеваниях легких

**Адрес:** 675000, Амурская область, Благовещенск, ул. Горького, д. 95А, **тел.:** +7 (4162) 77-28-15,

**e-mail:** Lucenkomt@mail.ru

**Андриевская Ирина Анатольевна**, доктор биологических наук, главный научный сотрудник лаборатории механизмов этиопатогенеза восстановительных процессов дыхательной системы при неспецифических заболеваниях легких

**Адрес:** 675000, Амурская область, Благовещенск, ул. Горького, д. 95А, **тел.:** +7 (4162) 77-28-15,

**e-mail:** irina-andrievskaja@rambler.ru

**Довжикова Инна Викторовна**, доктор биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории механизмов этиопатогенеза восстановительных процессов дыхательной системы при неспецифических заболеваниях легких

**Адрес:** 675000, Амурская область, Благовещенск, ул. Горького, д. 95А, **тел.:** +7 (4162) 77-28-15,

**e-mail:** dov\_kova100@rambler.ru

DOI: 10.15690/vramn687

А.В. Тутельян<sup>1, 2, 4</sup>, В.М. Писарев<sup>1, 2, 3</sup>, Н.З. Минаева<sup>1</sup>, А.М. Гапонов<sup>1, 2, 3</sup>,  
А.Н. Грачёва<sup>2</sup>, Г.Г. Солопова<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Центральный НИИ эпидемиологии, Москва, Российская Федерация

<sup>2</sup> Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачёва, Москва, Российская Федерация

<sup>3</sup> НИИ общей реаниматологии им. В.А. Неговского, Москва, Российская Федерация

<sup>4</sup> Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Москва, Российская Федерация

# Генерация антибиотикотолерантных бактерий при гематологических и онкологических заболеваниях, сопровождающихся иммунокомпрометацией: новая проблема инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи

183

**Обоснование.** Антибиотикотолерантность (АТ) — одна из причин феномена антибиотикоустойчивости — обеспечивает ускользание нереплицирующихся и метаболически инертных микроорганизмов (персистеров) от воздействия любых антибиотиков вследствие отсутствия биологических мишеней воздействия последних, тем самым создавая потенциал для хронизации инфекций. **Цель:** установление факта гетерогенности клинических изолятов условно-патогенных микроорганизмов *Escherichia coli* и *Pseudomonas aeruginosa*, выделенных от детей с онкогематологическими заболеваниями, по содержанию персистеров, несущих феномен АТ. **Методы.** Детей с онкогематологическими заболеваниями разделили на 2 группы в зависимости от интенсивности антибиотикотерапии инфекционных осложнений (менее или более 5 антибиотиков за госпитализацию). В биоматериале, полученном от больных детей, *in vitro* определяли количество цiproфлоксацин-индуцированных бактерий-персистеров. **Результаты.** Среди изученных штаммов, около 1/3 характеризуется высоким содержанием персистеров, обеспечивающих быстрое восстановление численности популяции после антибиотической атаки *in vitro*. Содержание персистеров не коррелировало с определенной ранее минимальной подавляющей концентрацией цiproфлоксацина ( $r=0,148$ ;  $n=25$ ;  $p>0,05$ ). Высокий уровень формирования персистеров у штаммов условно-патогенных микроорганизмов *E. coli* и *P. aeruginosa* ассоциирован с более высоким уровнем инфекционных осложнений и неблагоприятным течением основного заболевания у детей, страдающих онкогематологическими заболеваниями. Штаммы *E. coli* и *P. aeruginosa*, выделенные из крови, бронхоальвеолярного лаважа, мочи и мазков со слизистых оболочек пациентов, получивших массивную антибиотикотерапию (5 и более антибиотиков в течение 2–3-недельного курса лечения), достоверно чаще характеризовались высоким уровнем содержания персистеров (более 1000 КОЕ/мл), по сравнению со штаммами, выделенными от детей, в лечении которых использовано меньшее число антибактериальных препаратов. **Выводы.** Количественная оценка персистирующих форм патогенных и условно-патогенных микроорганизмов у больных, страдающих онкогематологическими заболеваниями, может быть рекомендована к включению в алгоритм исследований при клинико-микробиологическом мониторинге больных и внутрибольничной среды.

**Ключевые слова:** персистеры, онкогематология, дети.

**(Для цитирования:** Тутельян А.В., Писарев В.М., Минаева Н.З., Гапонов А.М., Грачёва А.Н., Солопова Г.Г. Генерация антибиотикотолерантных бактерий при гематологических и онкологических заболеваниях, сопровождающихся иммунокомпрометацией: новая проблема инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи. *Вестник РАМН*. 2016;71(3):183–189. doi: 10.15690/vramn687)

## Обоснование

Первые случаи устойчивости микроорганизмов к антибиотикам, описанные вскоре после открытия последних [1, 2], легли в основу изучения основных причин последующей эры «эпидемии антибиотикоустойчивости». В настоящее время признаются две основные биологические причины феномена устойчивости к антибиотикам — антибиотикорезистентность (АР) и антибиотикотолерантность (АТ) [3–5]. Если АР основана на распространении генов устойчивости среди «своих» бактерий, то АТ обусловлена иными механизмами фенотипических изменений штаммов на уровне генной экспрессии, проявляющихся

прекращением пролиферации и замедлением уровня метаболизма бактерий [6–8]. В отличие от более изученного феномена — АР, антибиотикотолерантность обеспечивает ускользание нереплицирующихся и метаболически инертных микроорганизмов (персистеров) от воздействия любых антибиотиков вследствие отсутствия биологических мишеней воздействия последних [9–11].

АТ несет потенциал сохранения персистирующих инфекций, которые могут длительное время быть бессимптомными. Так, в биопленках персистеры могут составлять более 10% всех микробных клеток в виде dormantных (молчащих, не проявляющих признаки жизни) бактерий, являясь, даже после успешной антибиотикотерапии, ре-

зервуаром для новой инфекции [12, 13]. Опасность фенотипической реверсии персистеров в пролиферирующие штаммы делает любой организм практически безоружным перед инфекцией. Более подвержены такому риску больные или выздоровевшие, организм которых испытывал воздействие окислительного стресса (цитотоксическая терапия, воспалительные реакции). Показано, что именно окислительный стресс в микроокружении бактерий вызывает адаптивные реакции микроорганизмов, приводящие к фенотипической изменчивости, заключающейся в изменении уровня пролиферации и метаболизма, продвижению по пути к анабиозоподобному состоянию микроорганизма, обеспечивающих выживание всей микробной популяции в условиях действия летальных для нее факторов [11–14]. Такой стресс могут вызывать и антибиотики [15–17].

Вопросы, связанные с генерацией антибиотикотолерантных персистеров среди патогенных и условно-патогенных микроорганизмов (УПМ), до сих пор являются дискуссионными [18–20]. Отсутствуют сведения о распространенности штаммов УПМ *Escherichia coli* и *Pseudomonas aeruginosa* с высокой способностью формировать клетки-персистеры в ответ на воздействие антибактериальных препаратов среди клинических изолятов, выделенных от больных злокачественными новообразованиями. Поскольку клиническое значение персистирующих форм условно-патогенных бактерий-возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи еще далеко не ясно, основной целью настоящей работы стал количественный анализ формирования персистеров *E. coli* и *P. aeruginosa* в группе иммунокомпрометированных больных с повышенным риском повторных инфекций — детей с онкогематологическими и другими заболеваниями в зависимости от интенсивности антибиотикотерапии.

## Методы

### Дизайн исследования

Проведено клинико-бактериологическое, рандомизированное методом случайной выборки, исследование количественного содержания АР и АТ бактерий в биологических образцах, полученных от детей с онкогематологическими заболеваниями. Дети были разделены на две подгруппы в зависимости от интенсивности антибиотикотерапии, которую проводили по медицинским показаниям с учетом течения инфекционного процесса. Были сформулированы две гипотезы для исследования. Первая гипотеза — штаммы, содержащие большое количество персистеров, встречаются довольно часто среди случайно отобранных клинических изолятов УПМ, выделенных от детей с онкогематологическими заболеваниями — проверялась на основе анализа случайно отобранных, бактериологически охарактеризованных штаммов, полученных от детей, госпитализированных в 2012–2014 гг. Вторая гипотеза — массивная антибиотикотерапия детей с иммунокомпрометацией сопровождается преимущественной колонизацией пациентов штаммами УПМ, характеризующимися более высоким уровнем генерации персистеров — проверялась на основании разделения детей, обследованных в течение 2015 г., на две группы в соответствии с критериями соответствия.

### Критерии соответствия

Критерием для включения в группу 1 являлось назначение пяти или более антибиотиков в течение 2–3-недельного курса лечения (в соответствии с медицинскими показаниями), в группу 2 — менее интенсивная антибиотикотерапия.

A.V. Tutelyan<sup>1, 2, 4</sup>, V.M. Pisarev<sup>1, 2, 3</sup>, N.Z. Minaeva<sup>1</sup>, A.M. Gaponov<sup>1, 2, 3</sup>,  
A.N. Gracheva<sup>2</sup>, G.G. Solopova<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Central Institute of Epidemiology, Moscow, Russian Federation

<sup>2</sup> Dmitry Rogachev's Federal Scientific and Clinical Centre of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology  
Moscow, Russian Federation

<sup>3</sup> V.A. Negovsky Research Institute of General Reanimation, Moscow, Russian Federation

<sup>4</sup> I.M. Setchenov Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation

## Generation of Antibiotic Tolerant Bacterial Persisters in Immunocompromized Patients with Hematologic and Malignant Diseases: A New Problem of Health-Care Associated Infections

**Background:** Antibiotic tolerance (AT) represents one of the causes of the phenomenon of antibiotic resistance that allows escape of non-replicating metabolically inert microorganisms (persisters) from any antibiotics attack because molecular targets of antibiotics are lacking thereby creating the potential for chronic infections. **Aims:** Determine the heterogeneity of the strains of opportunistic pathogens *E. coli* and *P. aeruginosa* isolates from children with hematologic malignancies containing bacterial persisters that cause the AT phenomenon. **Methods:** Children with hematological malignancies were divided into 2 groups according to the intensity of antibiotic treatment of infectious complications. Ciprofloxacin-induced persisters were quantitatively determined in the biological materials obtained from sick children. **Results:** Within the clinical isolates of *E. coli* and *P. aeruginosa*, about a third of the strains belong to high-persisting. The numbers of persistent forms of bacteria did not correlate with a minimal inhibitory concentration values ciprofloxacin ( $r=0.148$ ,  $n=25$ ,  $p>0.05$ ). Interestingly, higher level of formation of persistent *E. coli* and *P. aeruginosa*, is associated with higher frequencies of infection attacks, massive antibiotic use and unfavorable course of the disease in children. **Conclusions:** Therefore, detecting the persistent forms of bacterial pathogens including those associated with the health-care associated infection, specifically, in immunocompromised patients, should be included into the contemporary algorithms of microbiological observation and monitoring of patients and intrahospital environment.

**Key words:** persisters, oncology, children.

(For citation: Tutelyan A.V., Pisarev V.M., Minaeva N.Z., Gaponov A.M., Gracheva A.N., Solopova G.G. Generation of Antibiotic Tolerant Bacterial Persisters in Immunocompromized Patients with Hematologic and Malignant Diseases: A New Problem of Health-Care Associated Infections. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2016;71(3):183–189. doi: 10.15690/vramn687)

Критерии исключения — отсутствие информации о выделенных штаммах или число штаммов, полученных от каждого пациента менее 2.

#### Условия проведения

Исследование проходило в ФГБУ «ФНКЦ детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Д. Рогачёва» Минздрава России (на первом этапе — 25 детей, на втором этапе — 21 ребенок; возраст до 17 лет, а также четверо родителей).

#### Продолжительность исследования

Исследование проводилось в течение 2012–2015 гг.

#### Исходы исследования

##### Основные исходы исследования:

- на первом этапе — пропорция персистеров среди общего числа выделенных и охарактеризованных штаммов УПМ, полученных от детей с онкогематологическими заболеваниями;
- на втором этапе — число штаммов УПМ, образующих большое количество персистеров, среди иммунокомпromетированных детей, получивших антибиотикотерапию разной интенсивности.

**Дополнительным исходом исследования** стала оценка корреляции между интенсивностью генерации персистеров и резистентностью к антибиотикам среди штаммов УПМ (т.е. между АТ и АР), выделенных на протяжении второго этапа исследования.

#### Анализ в подгруппах

Выделенные подгруппы анализировали дополнительно по полу, возрасту, диагнозу, однако по данным критериям различий между подгруппами выявлено не было ( $p > 0,05$ ).

#### Методы регистрации исходов

В качестве референсных штаммов (контроль) использовали штамм K12 (ATCC 25922) для *E. coli* и штамм PAO1 (ATCC 27853) для *P. aeruginosa*, которые до начала экспериментов хранились при  $-70^{\circ}\text{C}$  в криопротективной среде, содержащей 25% глицерина.

Определение чувствительности клинических штаммов бактерий к ципрофлоксацину, учет и интерпретацию результатов проводили в соответствии с требованиями Европейского комитета по определению чувствительности микроорганизмов к антибиотикам (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, EUCAST). Для приготовления инокулята использовали метод прямого суспендирования в стерильном изотоническом растворе колоний чистой 18–24-часовой культуры бактерии, выросшей на плотной неселективной питательной среде. Бактериальную суспензию доводили до плотности 0,5 по стандарту мутности Мак Фарленда (при автоматизированном учете на фотометре — 0,05–0,08 и длине волны 620 нм), что приблизительно соответствует концентрации  $1-3 \times 10^8$  КОЕ/мл. Определение минимальных подавляющих концентраций (МПК) ципрофлоксацина проводили на питательных средах МХА (Мюллера–Хинтона агар) и МХБ (Мюллера–Хинтона бульон) методом последовательных разведений в питательной среде. Для определения МПК заданные концентрации ципрофлоксацина (с двукратным шагом) вносили в питательную среду, которую затем засеивали культурой исследуемого штамма бактерий и после инкубации в течение 16–20 ч при  $35^{\circ}\text{C}$  оценивали наличие/отсутствие видимого роста. Результаты отмечали по наличию роста бактериальной

культуры. В каждой серии экспериментов с целью соблюдения условий их проведения параллельно производили контрольное определение чувствительности референс-штаммов к ципрофлоксацину методом последовательных разведений.

Определение уровня персистеров в клинических изолятах *E. coli* проводили в соответствии с методикой N. Kaldalu и соавт. [21] в собственной модификации. Культуру исследуемого штамма выращивали 16–18 ч в пробирках с бульоном Луриа (ЛБ) на шейкере (220 об/мин) при  $37^{\circ}\text{C}$ , после чего культуру разводили ЛБ в 1000 раз, переносили мерно в пробирки по 3 мл, помещали на шейкер (220 об/мин) и культивировали при  $37^{\circ}\text{C}$  с мониторингом оптической плотности культуры на фотометре каждые 30 мин. Длительность культивирования устанавливали для каждого штамма (от 1,5 до 2,5 ч) по достижению оптической плотности бактериальной суспензии равной 0,05–0,08 при 620 нм, что соответствует  $1-3 \times 10^8$  КОЕ/мл (стандартизованная культура), затем проводили контроль плотности суспензии бактериальной культуры (число клеток в 1 мл). На следующем этапе к стандартизованной культуре добавляли ципрофлоксацин в конечной концентрации, равной 12,5-кратной величине МПК в 1 мл бактериальной суспензии. Смесь хорошо перемешивали, инкубировали на шейкере (220 об/мин) при  $37^{\circ}\text{C}$ . Через 1,5 и 3,5 ч от начала инкубации проводили контроль антибактериального действия ципрофлоксацина — путем определения степени гибели культуры. Параллельно через 3,5 ч от начала инкубации отбирали пробы, содержащие клетки-персистеры испытуемого штамма (3,5 ч — точка отбора клеток-персистеров). Все колонии бактерий, выросшие на 2–3-и сут на ЛА (после обработки исходной культуры ципрофлоксацином в течение 3,5 ч), подвергали изучению на видовую принадлежность и чувствительность к ципрофлоксацину. В случае если выросшая культура бактерий соответствовала исходной культуре по фенотипическим признакам и уровню чувствительности к ципрофлоксацину, то предполагалось, что выделены клетки-персистеры изучаемого штамма *E. coli*.

Определение ципрофлоксацин-индуцированных клеток-персистеров у клинических штаммов *P. aeruginosa* проводили в соответствии с методикой N. Möker и соавт. [22] в модификации авторов настоящего исследования. Культуру исследуемого штамма выращивали 16–18 ч в пробирках с МХБ на шейкере (220 об/мин) при  $37^{\circ}\text{C}$ , после чего культуру отмывали путем двукратного центрифугирования в PBS (8000 об/мин в течение 10 мин). Отмытую культуру ресуспендировали в МХБ до оптической плотности равной 0,05–0,08 при 620 нм, что соответствует  $1-3 \times 10^8$  КОЕ/мл (стандартизованная культура), затем проводили контроль плотности суспензии бактериальной культуры (число клеток в 1 мл). На следующем этапе к стандартизованной культуре добавляли ципрофлоксацин, в количестве равном 20-кратной величине МПК в 1 мл бактериальной суспензии. Через 1,5; 3,5 и 6 ч от начала инкубации проводили контроль антибактериального действия ципрофлоксацина путем определения степени гибели культуры. Параллельно через 3,5 ч от начала инкубации отбирали пробы, содержащие клетки-персистеры испытуемого штамма (3,5 ч — точка отбора клеток-персистеров). Все колонии бактерий, выросшие на 2–3-и сутки (после обработки исходной культуры ципрофлоксацином в течение 3,5 и 6 ч) подвергали изучению на видовую принадлежность и чувствительность к ципрофлоксацину. В случае если выросшая культура бактерий соответствовала исходной

культуре по фенотипическим признакам и уровню чувствительности к ципрофлоксацину, то предполагалось, что выделены клетки-персистеры изучаемого штамма *P. aeruginosa*.

### Этическая экспертиза

Исследование выполнено в соответствии с принятыми международными и российскими этическими принципами и нормами. Биологический материал был доступен исследователям уже после выписки всех больных из клиники и не содержал основных персональных индикаторов (фамилии и имени). Исследователям были неизвестны персональные данные детей и их родителей, за исключением возраста, веса и роста детей. Родители детей были информированы о том, что результаты любого обследования могут быть использованы в научных целях без указания персональных данных, и дали добровольное информированное согласие на возможность использования биологических материалов своих детей в научных целях. Использование биологического материала и анализ данных были проведены исследователями после завершения лечения детей без их персональной идентификации, поэтому само исследование никак не могло отразиться на лечении или каких-либо других интересах детей или их родителей. Таким образом, дополнительное одобрения данного исследования на заседании Локального этического комитета ФНКЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачёва не потребовалось.

### Статистический анализ

Данные были статистически обработаны при помощи программы GraphPad InStat (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA, США). Степень ассоциации параметров характеризовали с помощью показателя соотношения шансов (odds ratio, OR) с учетом положительного прогностического значения (positive prognostic value, PPV), чувствительности и специфичности метода. Для бинарных показателей применяли точный критерий Фишера, для количественных показателей — критерий Манна–Уитни. Достоверными считались различия при  $p < 0,05$ .

## Результаты

### Объект исследования

В группу исследования вошел 21 ребенок в возрасте до 17 лет, госпитализированный в ФНКЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачёва в течение 2015 г., в основном со злокачественными опухолевыми или другими заболеваниями, сопровождающимися иммунокомпрометацией, из них 5 с острым лимфобластным лейкозом, 2 с острым миелобластным лейкозом, 4 с саркомой Юинга, 3 с первичным иммунодефицитным состоянием; по одному пациенту было с опухолью почки, В-клеточной лимфомой, фиброматозом дна полости рта, апластической анемией, лимфомой Беркитта, новообразованием гортани и трахеи и стенозом гортани. Дополнительно исследовали биообразцы, полученные от некоторых родителей пациентов ( $n=4$ ).

Бактерии выделяли из крови, бронхоальвеолярного лаважа, мочи, смывов со слизистой оболочки ротовой полости и зева, а также из отделяемого ран при хирургических вмешательствах у лиц данной категории. У всех выделенных штаммов исследовали спектр чувствительности к антибиотикам (феномен AP) методом серийных разведений с использованием автоматического микробиологического анализатора AutoScan-4 (Siemens, Германия) и размер фракции персистирующих клеток (феномен AT),

который определяли по характеристике кривой роста после воздействия антибактериального агента с установленной чувствительностью, взятого в концентрации в 100 раз превышающей МПК для данного препарата в отношении исследуемого штамма.

### Основные результаты исследования

На первом этапе исследования определяли, насколько часто встречаются штаммы, содержащие большое количество персистеров, среди случайно отобранных штаммов УПМ, выделенных от детей с онкогематологическими заболеваниями (с острым лимфобластным лейкозом и хроническим лимфолейкозом). В разных биологических образцах (кровь, моча, бронхоальвеолярный лаваж, отделяемое ран) определяли наличие бактериального роста, характеризовали чувствительность к антибиотикам (в т.ч. к ципрофлоксацину), определяли наличие персистеров (молчащих, непролиферирующих бактерий, выявляемых после обработки бактериальных культур ципрофлоксацином в очень высокой дозе — в 12,5–20 раз превышающей МПК — и способных при пересеве в новую среду без антибиотиков активно пролиферировать, образуя легко поддающиеся автоматическому учету колонии (подробно метод описан в разделе «Методы регистрации исходов»). Обнаружено, что штаммы УПМ от разных больных характеризовались различным содержанием персистеров (от менее 10 КОЕ/мл исходной суспензии до более 50000 КОЕ/мл). Культуры бактерий, содержащие более 1000 колоний, было принято считать штаммами, образующими большое количество персистеров. За время госпитализации от каждого больного получали по 2–4 культуры. Если хотя бы один раз за время госпитализации у пациента выявляли штамм, образующий большое количество персистеров, такой больной учитывался как выделяющий бактерии с высоким содержанием персистеров. При исследовании 74 штаммов (*E. coli* — 41 штамм, *P. aeruginosa* — 33 штамма) было обнаружено, что в 12 штаммах *E. coli* (29%) и 8 штаммах *P. aeruginosa* (24%) фракция персистеров превышала аналогичный показатель соответствующего референсного штамма в 100–1000 раз. У остальных выделенных штаммов фракция бактерий-персистеров также была больше, чем у референсных штаммов, но различия не превышали 2–10-кратного диапазона. Таким образом, более чем в 1/4 случайно отобранных штаммов наиболее распространенных УПМ *E. coli* и *P. aeruginosa*, полученных от детей с онкогематологическими заболеваниями, в условиях клинического стационара встречались бактерии-персистеры. Это соответствует выдвинутой гипотезе о значительной частоте генерации бактерий-персистеров в биообразцах, полученных от детей онкогематологического стационара.

На втором этапе исследования определяли, в какой степени массивная антибиотикотерапия детей с иммунокомпрометацией приводит к повышенной генерации УПМ со свойствами персистеров по сравнению с менее интенсивной антибиотикотерапией. Проверка гипотезы о значении интенсивности антибиотикотерапии в генерации персистеров проверялась на основании разделения детей, исследованных на протяжении 2015 г., на две группы: больные группы 1 получали многократные курсы антибиотикотерапии (пять и более курсов за период госпитализации — массивная антибиотикотерапия; средняя и наиболее частая продолжительность госпитализации — 2–3 нед); группу 2 составили больные с менее агрессивной антибиотикотерапией.

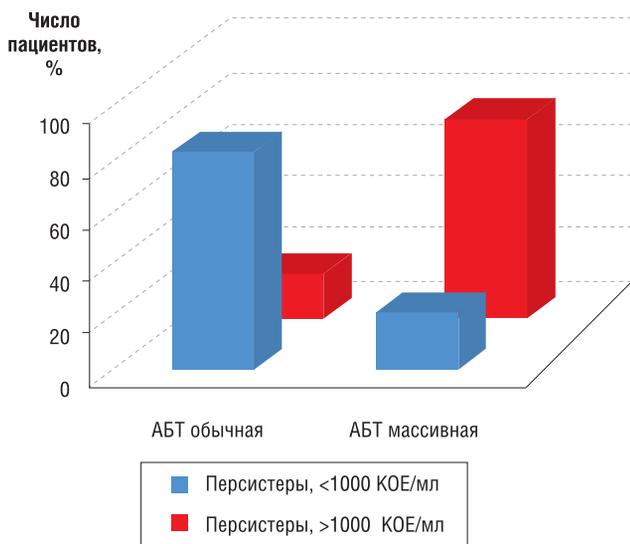
Проведенный независимым аналитиком анализ данных, поступивших от клиницистов и микробиологов,

выявил, что в биообразцах детей группы 1 (массивная антибиотикотерапия по медицинским показаниям в дополнение к протоколу антибиотикотерапии) наблюдалось значительно больше персистеров, чем в образцах, полученных от детей с менее агрессивным курсом лечения (7 из 9 против 2 из 12, соответственно;  $p=0,0092$  по точному методу Фишера, двусторонний тест, адекватный данному объему выборки) (рис.).

Соотношение шансов для большого содержания персистеров в биообразцах по отношению к меньшему на основании фактора массивности антибиотикотерапии составило 17,5 ( $p<0,01$ ); чувствительность — 0,778 (95% CI 0,4–0,972), специфичность — 0,833 (95% CI 0,516–0,979); значения положительного и отрицательного предиктора были высокими (PPV=0,75 и NPV=0,846, соответственно;  $p<0,01$ ). Таким образом, более интенсивная антибиотикотерапия ассоциируется со значительным накоплением персистерных форм УПМ, а это соответствует представлению, что антибиотики способствуют генерации персистирующих форм бактерий.

**Дополнительные результаты**

Анализ данных об АР выделенных штаммов от детей и их родителей показал, что размер субпопуляции бактерий-персистеров (определяемый по числу колониеобразующих единиц после пересева в свежую среду бактерий, подвергнутых антибиотической атаке в высокой дозе) не коррелировал с величиной МПК антибиотиков ( $r=0,148$ ,  $p>0,05$ ,  $n=25$ ). Таким образом, стандартная оценка чувствительности патогенных и условно-патогенных бактерий к антибиотикам методом определения МПК полностью не отражает истинную эффективность антибиотика в отношении исследуемого штамма, поскольку не учитывает генерации персистеров. Результаты свидетельствуют о целесообразности учета не только АР, но и АТ клинических штаммов при решении вопросов устойчивости к антибиотикам, а также о необходимости проведения широкомасштабных исследований для учета антибиотикотолерантных персистеров с целью определения их возможного вклада в хроническое течение инфекций, вызываемых УПМ,



**Рис.** Генерация персистеров у детей с онкогематологическими заболеваниями

*Примечание.* АБТ — группы пациентов, получающих обычную (менее 5 антибиотиков в течение курса лечения) или массивную (5 и более назначений антибиотиков) терапию. Результаты статистической обработки указаны в тексте.

и эпидемиологию инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи.

**Обсуждение**

Полученные данные впервые позволили выявить связь между интенсивностью антибиотикотерапии и генерацией персистеров УПМ у иммунокомпрометированных детей-пациентов с онкогематологическими заболеваниями. Более интенсивная антибиотикотерапия у иммунокомпрометированных детей ассоциировалась со значительным накоплением персистеров, что соответствует представлениям о том, что антибиотики способствуют генерации персистирующих форм бактерий [5, 15, 16].

Давно известное со времен Ливенгука (1702 г., цит. по [23]) существование dormantных примитивных форм живых существ сегодня начинают рассматривать с позиций их возможного значения в инфекционной патологии человека — при воспалительных заболеваниях и хронических инфекциях, в т.ч. туберкулезе [24–26]. В настоящее время недостаточно рассматривать только АР как единственную основную проблему, связанную с устойчивостью бактерий, в том числе УПМ, к антибиотикам [27, 28]. Бактериальная инфекция, в особенности вызванная грамотрицательными УПМ, нередко непосредственно угрожает жизни иммунокомпрометированных пациентов с онкологическими заболеваниями [29, 30], однако возможное значение персистерных форм в развитии УПМ-инфекции остается пока неизвестным, хотя и вполне обоснованно предполагается [31, 32]. В настоящее время для этой категории больных, особенно среди детей с онкогематологическими заболеваниями, ставится вопрос не только о правильном и своевременном назначении антибиотиков [29, 30], но и о целесообразности их применения у отдельных пациентов [28]. Предполагается, что, несмотря на небольшое количество персистеров в популяции бактерий, их последующее накопление потенциально может служить резервуаром инфекции после антибиотикотерапии [33–35].

В литературе отсутствуют данные о распространенности штаммов УПМ *E. coli* и *P. aeruginosa* с высокой способностью формировать клетки-персистеры в ответ на воздействие антибактериальных препаратов среди больных злокачественными новообразованиями. Полученные в ходе настоящего исследования результаты впервые продемонстрировали важность определения персистирующей субпопуляции в штаммах УПМ *E. coli* и *P. aeruginosa*, выделенных от больных данной группы. Результаты апробации и оптимизации в Центре детской онкогематологии метода идентификации бактерий-персистеров, сопоставленные с лабораторными и клиническими данными, представляют целесообразность масштабирования клинических исследований, направленных на внедрение методов идентификации и количественной оценки субпопуляции антибиотикотолерантных бактерий-персистеров. Наши предварительные исследования выявили существование генетических вариантов УПМ, что в комплексе с представленными в данной статье результатами свидетельствует в пользу проведения мониторинга гетерогенных персистерных популяций после антибиотикотерапии с целью расширения критериев персонализации такого лечения и предотвращения накопления персистерных популяций в организме. Подобные исследования позволили бы создать доказательную базу с целью расширения критериев рационализации антибиотикотерапии и обеспечения персонализации не только на уровне АР, но и АТ.

### Заключение

С помощью разработанных подходов определены методы идентификации клеток-персистеров в клинических изолятах УПМ. Эти результаты имеют непосредственное отношение к созданию тест-систем для диагностики персистирующих штаммов УПМ у больных (в особенности при инфекциях, связанных с оказанием медицинской помощи) и создают основу для выяснения механизмов генерации персистеров после антибиотикотерапии. Разработанные методы позволили стратифицировать больных детей с иммунокомпрометацией и неблагоприятным течением заболевания на группы с высоким уровнем персистирующих форм бактерий *E. coli* и *P. aeruginosa* (более 1000 колоний персистеров, см. рис.) и детей с более благоприятным течением заболевания и относительно низким содержанием бактерий-персистеров (менее 1000 колоний персистеров, см. рис.). Эти группы существенно отличались по уровню назначения антибиотиков: дети с массивным применением антибиотиков (т.е. нуждавшиеся в дополнительных курсах антибиотиков в период госпита-

лизации) преимущественно находились в первой группе,  $p < 0,001$ . Полученные результаты свидетельствуют, что широкое использование антибиотиков у детей с онкогематологическими заболеваниями является фактором риска повышенной генерации персистеров у таких больных и, следовательно, может служить фактором, определяющим большую вероятность развития оппортунистических инфекций.

### Источник финансирования

Исследование было поддержано РФФИ, № 13-04-40229 и № 13-04-40230-Н (КОМФИ).

### Конфликт интересов

Авторы статьи подтверждают отсутствие конфликта интересов, о которых необходимо сообщить в связи с данной публикацией.

### ЛИТЕРАТУРА

- Abraham EP, Chain E. An enzyme from bacteria able to destroy penicillin. *Nature*. 1940;146(3713):837. doi: 10.1038/146837a0.
- Bigger JW. Treatment of staphylococcal infections with penicillin by intermittent sterilization. *Lancet*. 1944;244(6320):497–500. doi: 10.1016/S0140-6736(00)74210-3.
- Levin BR. Microbiology: Noninherited resistance to antibiotics. *Science*. 2004;305(5690):1578–1579. doi: 10.1126/science.1103077.
- Gillings MR, Stokes HW. Are humans increasing bacterial evolvability? *Trends Ecol Evol*. 2012;27(6):346–352. doi: 10.1016/j.tree.2012.02.006.
- Kahrstrom CT. Antimicrobials: persisters come under fire. *Nat Rev Microbiol*. 2014;12(1):3. doi: 10.1038/nrmicro3181
- Mc Dermott W. Microbial persistence. *Yale J Biol Med*. 1958;30(4):257–229.
- Balaban NQ, Merrin J, Chait R, et al. Bacterial persistence as a phenotypic switch. *Science*. 2004;305(5690):1622–1625. doi: 10.1126/science.1099390.
- Lewis K. Persister cells. *Annu Rev Microbiol*. 2010;64:357–372. doi: 10.1146/annurev.micro.112408.134306.
- Balaban NQ. Persistence: mechanisms for triggering and enhancing phenotypic variability. *Curr Opin Genet Dev*. 2011;21(6):768–775. doi: 10.1016/j.gde.2011.10.001.
- Kint CI, Verstraeten N, Fauvart M, Michiels J. New-found fundamentals of bacterial persistence. *Trends Microbiol*. 2012;20(12):577–585. doi: 10.1016/j.tim.2012.08.009.
- Verstraeten N, Knapen W, Fauvart M, Michiels J. A historical perspective on bacterial persistence. *Methods Mol Biol*. 2016;1333:3–13. doi: 10.1007/978-1-4939-2854-5\_1.
- Lewis K. Multidrug tolerance of biofilms and persister cells. *Curr Top Microbiol Immunol*. 2008;322:107–131. doi: 10.1007/978-3-540-75418-3\_6.
- Römling U, Balsalobre C. Biofilm infections, their resilience to therapy and innovative treatment strategies. *J Intern Med*. 2012;272(6):541–561. doi: 10.1111/joim.12004.
- Эль-Регистан Г.И., Николаев Ю.А., Мулюкин А.Л., и др. Явление персистенции — формы и механизмы выживаемости популяций // *Медицинский алфавит*. — 2014. — Т. 2. — №10. — С. 49–54. [El'-Registan GI, Nikolaev YuA, Mulyukin AL, et al. Yavlenie persistentsii — formy i mekhanizmy vyzhivaemosti populyatsii. *Meditsinskii alfavit*. 2014;2(10):49–54. (In Russ).]
- Kim JS, Heo P, Yang TJ, et al. Bacterial persisters tolerate antibiotics by not producing hydroxyl radicals. *Biochem Biophys Res Commun*. 2011;413(1):105–110. doi: 10.1016/j.bbrc.2011.08.063.
- Lewis K. Persister cells: molecular mechanisms related to antibiotic tolerance. *Handb Exp Pharmacol*. 2012(211):121–133. doi: 10.1007/978-3-642-28951-4\_8.
- Li Y, Zhang Y. PhoU is a persistence switch involved in persister formation and tolerance to multiple antibiotics and stresses in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2007;51(6):2092–2099. doi: 10.1128/aac.00052-07.
- Balaban NQ, Gerdes K, Lewis K, McKinney JD. A problem of persistence: still more questions than answers? *Nat Rev Microbiol*. 2013;11(8):587–591. doi: 10.1038/nrmicro3076.
- Conlon BP, Rowe SE, Lewis K. Persister cells in biofilm associated infections. *Adv Exp Med Biol*. 2015;831:1–9. doi: 10.1007/978-3-319-09782-4\_1.
- Delarze E, Sanglard D. Defining the frontiers between antifungal resistance, tolerance and the concept of persistence. *Drug Resist Updat*. 2015;23:12–19. doi: 10.1016/j.drug.2015.10.001.
- Kaldalu N, Joers A, Ingelman H, Tenson T. A general method for measuring persister levels in *Escherichia coli* cultures. *Methods Mol Biol*. 2016;1333:29–42. doi: 10.1007/978-1-4939-2854-5\_3.
- Moker N, Dean CR, Tao J. *Pseudomonas aeruginosa* increases formation of multidrug-tolerant persister cells in response to quorum-sensing signaling molecules. *J Bacteriol*. 2010;192(7):1946–1955. doi: 10.1128/JB.01231-09.
- Keilin D. The problem of anabiosis or latent life: history and current concept. *Proc R Soc Lond B Biol Sci*. 1959;150(939):149–191. doi: 10.1098/rspb.1959.0013.
- Potgieter M, Bester J, Kell DB, Pretorius E. The dormant blood microbiome in chronic, inflammatory diseases. *FEMS Microbiol Rev*. 2015;39(4):567–591. doi: 10.1093/femsre/fuv013.
- Fauvart M, De Groote VN, Michiels J. Role of persister cells in chronic infections: clinical relevance and perspectives on anti-persister therapies. *J Med Microbiol*. 2011;60(6):699–709. doi: 10.1099/jmm.0.030932-0.
- Wayne LG, Sohaskey CD. Nonreplicating persistence of mycobacterium tuberculosis. *Annu Rev Microbiol*. 2001;55:139–163. doi: 10.1146/annurev.micro.55.1.139.
- Trecarichi EM, Tumbarello M. Antimicrobial-resistant Gram-negative bacteria in febrile neutropenic patients with cancer: current epidemiology and clinical impact. *Curr Opin Infect Dis*. 2014;27(2):200–210. doi: 10.1097/QCO.000000000000038.25.

28. Khurana M, Lee B, Feusner JH. Fever at diagnosis of pediatric acute lymphoblastic leukemia: are antibiotics really necessary? *J Pediatr Hematol Oncol.* 2015;37(7):498–501. doi: 10.1097/MPH.0000000000000417.
29. Nolt D, Lindemulder S, Meyrowitz J, et al. Preventive antibiotics in pediatric patients with acute myeloid leukemia (AML). *Pediatr Blood Cancer.* 2015;62(7):1149–1154. doi: 10.1002/pbc.25463.
30. Blennow O, Ljungman P. The challenge of antibiotic resistance in haematology patients. *Br J Haematol.* 2016;172(4):497–511. doi: 10.1111/bjh.13816.
31. Cohen NR, Lobritz MA, Collins JJ. Microbial persistence and the road to drug resistance. *Cell Host Microbe.* 2013;13(6):632–642. doi: 10.1016/j.chom.2013.05.009.
32. Lewis K. Persister cells, dormancy and infectious disease. *Nat Rev Microbiol.* 2007;5(1):48–56. doi: 10.1038/nrmicro1557.
33. Grant SS, Hung DT. Persistent bacterial infections, antibiotic tolerance, and the oxidative stress response. *Virulence.* 2013;4(4):273–283. doi: 10.4161/viru.23987.
34. Fothergill JL, Winstanley C, James CE. Novel therapeutic strategies to counter *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2012;10(2):219–235. doi: 10.1586/eri.11.168.
35. Тутельян А.В., Гапонов А.М., Писарев В.М., Эльрегистан Г.И. Дормантное состояние микроорганизмов и профилактика инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи // *Терапевтический архив.* — 2015. — Т. 87. — №11. — С. 103–108. [Tutelyan AV, Gaponov AM, Pisarev VM, Elregistan GI. Microbial dormancy and prevention of healthcare-associated infections. *Ter Arkh.* 2015;87(11):103–108. (In Russ).]

### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Тутельян Алексей Викторович**, доктор медицинских наук, заведующий лабораторией инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, Центрального НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора; профессор кафедры эпидемиологии ИПО Первого МГМУ им. И.М. Сеченова

Адрес: 111123, Москва, ул. Новогиреевская, д. 3А, тел.: +7 (495) 305-57-55, e-mail: bio-tav@yandex.ru

**Писарев Владимир Митрофанович**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией молекулярных механизмов критических состояний НИИ общей реаниматологии им. В.А. Неговского

Адрес: 107031, Москва, ул. Петровка, д. 25, стр. 2, тел.: +7 (495) 694-27-08, e-mail: vpisarev@gmail.com

**Минаева Наталья Захаровна**, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, Центрального НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора

Адрес: 111123, Москва, ул. Новогиреевская, д. 3А, тел.: +7 (495) 672-11-90, e-mail: natm9797@ya.ru

**Гапонов Андрей Михайлович**, кандидат медицинских наук, заведующий лабораторией инфекционной иммунологии ФНКЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачёва

Адрес: 117997, Москва, ул. Саморы Машела, д. 1, тел.: +7 (495) 287-65-70, e-mail: zorba@yandex.ru

**Грачёва Александра Николаевна**, бактериолог отдела инфекционного контроля ФНКЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачёва

Адрес: 117997, Москва, ул. Саморы Машела, д. 1, тел.: +7 (495) 287-65-70, e-mail: alnickgrach@mail.ru

**Солопова Галина Геннадьевна**, кандидат медицинских наук, заведующая отделом инфекционного контроля ФНКЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачёва

Адрес: 117997, Москва, ул. Саморы Машела, д. 1, тел.: +7 (495) 287-65-70, e-mail: galigen@yahoo.co.uk

В.М. Свистушкин, С.В. Старостина, А.В. Люндуп, М.Г. Дедова, Л.С. Будейкина,  
М.В. Свистушкин, М.Е. Крашенинников, Д.С. Барановский

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

## Возможности клеточных технологий в лечении рубцовых поражений голосовых складок

Статья представляет собой краткий обзор публикаций мировой литературы, посвященных исследованиям по использованию методов регенеративной медицины в лечении рубцовых поражений голосовых складок. Патологические изменения голосовых складок, возникающие в результате травм, хирургических манипуляций, воспалительного процесса, являются одной из наиболее частых причин стойкой дисфонии. Результаты лечения рубцовых поражений голосовых складок инъекционно-имплантационным методом существенно ограничены в связи с тем, что не обеспечивают восстановления ультраструктуры голосовой складки. Авторами изложены современные данные о строении голосовых складок на клеточном уровне. Рассмотрены патологические процессы, происходящие в разные стадии рубцевания. Освещены применяемые технологии фонохирургии и консервативного лечения, их эффективность и недостатки. Представлен анализ экспериментальных исследований, проводимых в мире, демонстрирующих возможности клеточных технологий в восстановлении микроструктуры голосовых складок, что может быть использовано для лечения стойкой дисфонии. Обозначены актуальные, остающиеся нерешенными вопросы, что обуславливает необходимость проведения дальнейших экспериментальных и клинических исследований при лечении данной патологии.

**Ключевые слова:** регенеративная медицина, тканевая инженерия, клеточная терапия, голосовые складки, стволовые клетки, дисфония, рубцы голосовых складок, мезенхимальные стволовые клетки.

(Для цитирования: Свистушкин В.М., Старостина С.В., Люндуп А.В., Дедова М.Г., Будейкина Л.С., Свистушкин М.В., Крашенинников М.Е., Барановский Д.С. Возможности клеточных технологий в лечении рубцовых поражений голосовых складок. Вестник РАМН. 2016;71(3):190–199. doi: 10.15690/vramn586)

190

### Введение

Голос — основной способ общения, необходимый для адаптации человека в окружающей среде и социальной реализации. Нарушение голосовых функций имеет значительные негативные последствия не только для социальной и профессиональной сфер жизнедеятельности человека, но и для здоровья. Одной из самых частых причин расстройства дыхательной и фонаторной функций являются рубцовые изменения голосовых складок. Рубцы в гортани как исход неспецифической воспалительной реакции могут возникать в результате широкого спектра патологических процессов, таких как перенапряжение и

неправильное голосоведение, острый или хронический ларингит, особенно в сочетании с рефлюксной болезнью, ожог, тупая или острая травма гортани, включая ятрогенные повреждения при интубации. Хирургические операции, затрагивающие глубокие слои слизистой оболочки голосовых складок, также могут стать причиной формирования рубцов. Изменение структуры голосовых складок обуславливает нарушение их вибрации и сопровождается стойкими расстройствами голоса. S.M. Cohen и соавт. указывают на примерно одинаковую распространенность дисфоний во всех странах, более высокую среди женщин (1,2 против 0,74% у мужчин). Средний возраст больных составляет 46,3 года.

V.M. Svistushkin, S.V. Starostina, A.V. Lundup, M.G. Dedova, L.S. Budykina,  
V.M. Svistushkin, M.E. Krashennnikov, D.S. Baranovskii

I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation

## The Possibilities of Cell Technologies in the Treatment of Cicatricial Lesions of the Vocal Folds

The article is a brief review of publications devoted to the problem of persistent dysphonia. The main cause of voice disorders is the scarring of the vocal folds resulting from trauma, surgical manipulation, inflammatory process. Treatment of cicatricial lesions of the vocal folds remains a challenge, as far as existing methods do not ensure the recovery of the ultrastructure of the vocal folds. The authors present modern data on the structure of the vocal folds at the cellular level. Considered pathologic processes occur in different stages of scarring. Applied technologies of phonosurgery and conservative treatment, their effectiveness and shortcomings are covered. Analysis of experimental research conducted in the world demonstrates the promise of using the methods of tissue engineering to treat scarring of the vocal folds and to restore the microstructure of the latter. Identified current issues remain unresolved, which leads to the need for further experimental and clinical studies in the treatment of this pathology.

**Key words:** regenerative medicine, tissue engineering, cell therapy, vocal folds, cell technologies, dysphonia, scarring of the vocal folds, mesenchymal stem cells.

(For citation: Svistushkin V.M., Starostina S.V., Lundup A.V., Dedova M.G., Budykina L.S., Svistushkin V.M., Krashennnikov M.E., Baranovskii D.S. The Possibilities of Regenerative Medicine in the Treatment of Cicatricial Lesions of the Vocal Folds. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2016;71(3):190–199. doi: 10.15690/vramn586)

Лечение больных с рубцовым поражением голосовых складок по-прежнему остается одним из самых непростых разделов в ларингологии, обусловленных главным образом крайне сложной микроструктурой голосовых складок [1].

Голосовые складки являются единственной тканью в организме человека, способной вибрировать с частотой 100–1000 Гц [2–4]. В свою очередь, способность голосовой складки к вибрации предопределена особыми биомеханическими свойствами ее ткани, которые определяются морфологическим строением. Слизистая оболочка голосовых складок покрыта многослойным плоским неороговевающим эпителием, состоящим из базальных, поверхностных клеток, имеющих микроворсинки, а также дендритных клеток, проникающих через базальную мембрану, состоящую в основном из якорных белков (коллаген VII типа, фибронектин) и обеспечивающую прикрепление эпителия к собственной пластинке [2, 5, 6].

Собственная пластинка слизистой оболочки отчетливо разделена на три слоя — поверхностный (пространство Рейнке), промежуточный и глубокий, различающихся по клеточному составу и строению внеклеточного матрикса. Наиболее распространенным типом клеток в собственной пластинке являются фибробласты [2, 7].

Внеклеточный матрикс определяет биомеханические свойства ткани голосовых складок, что в свою очередь обуславливает качественные характеристики голоса. Основными компонентами внеклеточного матрикса являются коллаген, эластин, углеводы и липиды, а также интерстициальные белки — гиалуроновая кислота, декорин, версикан и фибромодулин. Коллаген, преимущественно I типа, придает механическую прочность, тем самым позволяя сохранять форму при возникновении деформирующей силы [2, 8, 9]. Собственная пластинка содержит коллаген I, II и III типа, а зона базальной мембраны — коллаген IV и VII типа [10, 11]. Эластин позволяет ткани голосовых складок обратимо растягиваться и возвращаться к первоначальной форме после прекращения влияния деформирующей силы. В промежуточном слое преобладают эластические волокна, в то время как глубокий слой содержит наибольшее количество коллагеновых фибрилл, образующих продольные пучки вдоль голосовых складок [12].

Гиалуроновая кислота выполняет функцию амортизации, компенсируя хроническую вибрацию, связанную с фонацией: чем выше ее содержание, тем выше вязкость ткани голосовых складок. Версикан обладает способностью связывать молекулы воды и тем самым заполняет собственную пластинку [2, 13, 14].

Собственно голосовую связку образуют промежуточный и глубокий слои собственной пластинки с большой плотностью за счет увеличения содержания фибриллярных белков (коллаген, эластин), которые с помощью *m. vocalis* поддерживают натяжение. Поверхностный слой содержит наименьшее количество эластических и коллагеновых волокон, что определяет его способность вибрировать, осуществляя полное смыкание голосовых складок и фонацию. В промежуточном слое собственной пластинки слизистой оболочки имеются два так называемых желтых пятна (*macula flava*) — плотные участки, состоящие из разнонаправленных коллагеновых, ретикулярных и эластических волокон. Основная клеточная масса *macula flava* — фибробластоподобные звездчатые клетки, которые всегда имеют высокую белоксинтезирующую функцию и содержат включения витамина А. Предположительно, они принимают участие в синтезе и

регуляции направления фибриллярных белков, а также в организации компонентов межклеточного матрикса [15, 16].

В физиологии голосообразования одним из ключевых моментов является возникновение механических поперечных волн слизистой оболочки (вибрации голосовой складки) при прохождении воздушного потока через голосовую щель. От амплитуды и частоты колебаний голосовых складок зависит сила, основной тон, обертоны, частотный диапазон и другие качественные характеристики голоса. В свою очередь, в основе морфофункциональной способности голосовой складки к вибрации лежат уникальные биомеханические свойства ее ткани [17].

Травмирование голосовых складок проявляется нарушением макро- и микроструктуры ткани. В ответ на повреждение запускаются процессы регенерации, главная цель которых — замещение тканевого дефекта и восстановление эпителиального покрова. Нарушение последовательности этапов репарации может привести к еще более выраженным функциональным ограничениям по сравнению с первоначальным дефектом от воздействия повреждающего фактора [15, 18].

В течение суток после повреждения раневая поверхность покрывается фибрином, одновременно ткани начинают инфильтрироваться поступающими моноцитами и нейтрофилами. Максимум клеточной инфильтрации наблюдается ко 2–3-м сут. На 3-й день отмечается частичная эпителизация, к 5-му дню раневая поверхность полностью покрыта утолщенным эпителиальным слоем, появляется матрикс новообразованного коллагена [15, 19, 20]. Более плотный и неорганизованный коллаген образуется к 10-му дню. Нарушаются взаимоотношения и между другими белками межклеточного матрикса, которые замещаются утолщенными пучками коллагена без какой-либо пространственной упорядоченности, что приводит к увеличению ригидности и плотности ткани, выражающейся потерей уникальных реологических характеристик, необходимых для звукообразования. В рубце снижено количество эластина, декорина, фибромодулина; значительно увеличено количество фибронектина и коллагена I типа. На 21-е сут значительно возрастает плотность новообразованной ткани. Первые три месяца рубец считается ранним, реорганизация коллагена продолжается до 12 мес [2, 21].

Патологическое влияние рубцов голосовых складок на механизмы голосообразования проявляется:

- 1) неполным закрытием голосовой щели и, как следствие, утечкой воздуха из нижележащих отделов дыхательных путей;
- 2) нарушением вибрационных свойств голосовых связок, ведущим к снижению амплитуды колебаний, уменьшению или, чаще, полному исчезновению «волн» слизистой оболочки.

Колебания становятся асинхронными и нерегулярными, что клинически проявляется развитием стойкой дисфонии. В настоящее время разработан ряд методик, позволяющих частично восстановить эти свойства и, соответственно, звуковые характеристики голоса у пациентов с рубцами голосовых складок. Эти методики можно разделить на консервативные (фонопедия и медикаментозное лечение) и оперативные (объединяемые общим понятием фонохирургия) вмешательства. Проведение консервативного лечения целесообразно в ранние сроки формирования рубца (до 6 мес) до завершения реорганизации коллагена, что позволяет снизить его механическую плотность. При небольших рубцах фонопедия демонстрирует хорошие результаты и может

оказаться единственным необходимым методом реабилитации голоса [17, 21].

Современная хирургия рубцовых поражений голосовых складок включает в себя операции по коррекции формы голосовых складок путем тиропластики или различных инъекционных методов, пластику голосовых складок трансплантатами слизистой оболочки, внутрислизистые инъекции и пластику пространства Рейнке, лазерное воздействие и подслизистое удаление рубцов [10, 21–33].

Несмотря на разнообразие методик, функциональный результат фонохирургических операций при рубцах голосовых складок не всегда положителен. Существующие способы лечения частично уменьшают потерю воздуха и усталость при фонации за счет достижения смыкания голосовых складок, увеличения объема и улучшения локальной геометрии, но при этом основной тон, обертона, частотный диапазон и сила голоса остаются практически без изменений. Это объясняется тем, что описанные методы не восстанавливают ультраструктуру слоев собственной пластинки слизистой оболочки, которая обеспечивает нормальную вибрацию за счет уникальной архитектоники и состава белков межклеточного матрикса [31, 34–56]. Разработка способов лечения, обеспечивающих регенерацию собственной пластинки, позволила бы эффективно восстанавливать голосовую функцию и реабилитировать больных с рубцовыми поражениями голосовых складок.

#### **Возможности тканевой инженерии в лечении рубцов голосовых складок**

Новые технологии, относящиеся к области тканевой биоинженерии, призваны решать задачу восстановления нормальной функции поврежденной ткани путем применения биомедицинских клеточных продуктов, компонентами которых являются клетки из различных источников, матриксы, в основном биоразлагаемые, и сигнальные молекулы. Такие сигнальные молекулы, как ростовой фактор, являются одним из главных потенциальных регуляторов клеточных функций в голосовых складках. В экспериментах *in vitro* и *in vivo* было доказано увеличение синтеза гиалуроновой кислоты и уменьшение синтеза коллагена фибробластами голосовых складок человека под действием фактора роста гепатоцитов (HGF) и основного фактора роста фибробластов (bFGF) [57–60]. Еще одной потенциальной клеточной мишенью является трансформирующий фактор роста бета (TGF- $\beta$ ), синтезируемый воспалительными клетками. Его роль в патогенезе образования рубца заключается в запуске Smad-сигнального пути фибробластов, регуляции трансформации последних в миофибробласты, усилении экспрессии коллагена, фибронектина и снижении синтеза декорина. В литературе представлены данные исследования, посвященного инактивации этого пути. Основные недостатки применения цитокиновой терапии с использованием как отдельных компонентов, так и «коктейлей» из них заключаются в быстрой деградации молекул в месте аппликации, что обуславливает необходимость повторных процедур; также в настоящее время не существует примеров изолированного успешного применения ростовых факторов для лечения рубцовых повреждений [61].

J. Huber и соавт. предложена методика регенерации голосовых складок с помощью имплантируемого каркаса внеклеточного матрикса свиньи [62]. Перспективным направлением исследований является изучение гелей и

гидрогелей в качестве каркасного материала для инъекций в голосовые складки, так как они имеют большой потенциал для регенерации голосовых связок и улучшения вязкоупругих свойств. На сегодняшний день для этой цели в ряде работ использованы гидрогели на основе гиалуроновой кислоты и коллагена [14, 48, 63]. A. Dahlqvist и соавт. в экспериментальном исследовании показали лучшие реологические свойства скарифицированных голосовых складок кролика при введении в рану гиалуроновой кислоты в сравнении с коллагеном [64].

В литературе описан способ локального введения фибробластов и фибробластоподобных клеток для восстановления голосовой складки [65]. Наилучшим образом для этого пригодны фибробластоподобные клетки, получаемые из подслизистой основы голосовых складок реципиента. Показано, что они обладают аналогичными свойствами с мезенхимальными стволовыми клетками (МСК), совпадающими маркерами клеточной поверхности и сходным потенциалом к дифференцировке, однако применение такого метода сопряжено с техническими трудностями по забору клеточного материала [66]. R. Hu и соавт. также показали, что МСК из жировой ткани, культивируемые в среде с добавлением фактора роста соединительной ткани (CTGF), морфологически и по своим поверхностным маркерам мало отличаются от нативных фибробластов голосовых складок. При этом МСК из жировой ткани превосходят фибробласты собственной пластинки слизистой оболочки голосовых связок по качеству восстановления внеклеточного матрикса, демонстрируя более высокие темпы регрессии коллагена [67].

Клетки неороговевающего плоского эпителия, покрывающего голосовую складку, также могут быть получены в условиях *in vitro* из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток при культивировании в геле, содержащем гиалуроновую кислоту и фибробласты голосовых складок. Однако пока нет результатов исследований, подтверждающих эффективность клеточной терапии с использованием одних эпителиальных клеток при рубцовых поражениях голосовых складок [68].

Особый интерес для ученых представляет возможность запустить процесс восстановления поврежденных тканей и замещения отдельных дефектов органов непосредственно собственными стволовыми клетками реципиента. С этой целью наиболее часто используют эффекты/свойства МСК, имеющих доказанный высокий терапевтический потенциал. Их паракринное влияние выражается в воздействии на окружающую ткань, что изменяет течение воспалительного процесса, итогом которого становится образование рубцовой ткани. Есть данные о синтезе мезенхимальными стволовыми клетками ряда иммуномодулирующих факторов роста, цитокинов и хемокинов: так, Ле Блан и соавт. обнаружили иммуносупрессивные свойства МСК и способность ограничивать пролиферацию лимфоцитов и цитотоксическую трансформацию Т-клеток [18]. В очаге альтерации МСК усиливают секрецию противовоспалительных цитокинов и медиаторов, таких как IL10, HGF. В других работах было показано, что при совместном культивировании МСК и макрофагов последние развиваются по профилю с уменьшенными провоспалительными свойствами [2, 69].

Стволовые клетки способны мигрировать к пораженному участку органа не только при локальном введении, но и из системного кровотока; дифференцироваться в фибробласты, одновременно восполняя недостающий клеточный резерв, индуцируя регенерацию тканей, по-

давяя воспалительные реакции, стимулируя ангиогенез и способствуя деградациии грубой рубцовой ткани [6, 70]. Однако системное введение МСК с целью заживления поврежденных голосовой складки представляется нецелесообразным в связи с миграцией и избирательным накоплением МСК в костном мозге, печени и легких реципиента, где локализуется большая часть пересаженных клеток [70].

Перспективным в фонохирургии является локальное введение МСК непосредственно в область повреждения голосовой связки или зону рубца [70, 71]. При этом необходимое число имплантируемых клеток значительно ниже по сравнению с таковым при системном введении. В качестве источника клеточного материала при этом может выступать и хорошо изученный костномозговой резерв, и подкожная жировая клетчатка, и даже сами голосовые складки реципиента [70, 71]. При экспериментальных введениях МСК (костномозговых или жировых) в голосовую складку животных во время формирования рубца отмечается выраженный антифибротический эффект. Так, уже через месяц после инъекции отмечено снижение плотности коллагена I типа с компенсаторным увеличением объемной доли гиалуроновой кислоты, что приводит к восстановлению вибрационных характеристик голосовых складок [69]. Исследование V. Angelou и соавт. демонстрирует больший регенераторный потенциал жировых МСК по сравнению с гиалуроновой кислотой при введении их в зрелый рубец голосовых складок [72]. В работе B. Svensson показано, что имплантация МСК человека в свежую рану голосовых складок кролика значительно улучшает, по сравнению с контрольной группой, репаративные процессы и вибрационные свойства голосовых складок через 1 мес. Представляют интерес результаты, полученные через 3 мес после иссечения рубца голосовой складки с одномоментным введением МСК, демонстрирующие отсутствие статистически значимых различий в механических свойствах (эластический модуль и динамическая вязкость), содержании коллагена I типа, толщине собственной пластинки слизистой оболочки в основной и контрольной (с неповрежденными голосовыми складками) группах [15]. В голосовых складках кролика МСК выживали в течение 1 мес, но не сохранялись более 10 нед, а через 3 мес полностью отсутствовали какие-либо ткани, содержащие ДНК человека. Это означает, что улучшенные показатели реологических и гистологических характеристик голосовых складок с трансплантированными МСК связаны не с пролиферацией стволовых клеток, а с их прямым воздействием на окружающую ткань [15].

J. Cedervall и соавт. сообщают об аналогичных экспериментах, но с применением эмбриональных стволовых клеток (ЭСК). По их результатам, введение ЭСК в поврежденные голосовые складки кролика также обеспечивает улучшение процессов репарации: нормализуются реологические свойства; но регенерация голосовых складок кролика осуществляется за счет пролиферации и дифференцировки введенных человеческих ЭСК в хрящевую, мышечную, эпителиальную и соединительную ткани, аналогичные по строению с нативными тканями животного. Кроме того, через 1 мес после имплантации часть клеток сохраняла свою плюрипотентность. Полученные данные свидетельствуют об огромном регенераторном потенциале ЭСК, но при этом клиническое применение ограничено из-за риска малигнизации (тератокарциномы) [73].

Развитие получило и направление имплантации стволовых клеток в комбинации со специальными сохраняю-

щими и стимулирующими их регенераторный потенциал субстратами. Н. Park с группой ученых в ходе исследований по разработке оптимальной среды для имплантации стволовых клеток в голосовые складки изучали влияние различных гидрогелей на дифференцировку и пролиферацию МСК жировой ткани и пришли к выводу, что темпы дифференцировки стволовых клеток можно частично сдерживать избытком гиалуроновой кислоты. Гидрогели на основе фибрина, его комплексов с гиалуроновой кислотой и коллагеном, напротив, стимулируют дифференцировку клеток в удлинённые, с морфологией близкой к фибробластам голосовых складок, и усиливают экспрессию эластина. По мнению авторов, имплантируемый в голосовые складки гидрогель со стволовыми клетками, помимо обеспечения правильного развития и сохранения стволовых клеток, должен обладать механическими свойствами, необходимыми для обеспечения фонации до завершения регенерации [74]. Y. Kim и соавт. установили, что регенераторные процессы в голосовых складках при имплантации МСК можно ускорить с лучшим восстановлением внеклеточного матрикса изначальным введением в рубцовую область суспензии МСК в геле, уже содержащем гиалуроновую кислоту/альгинат гидрогель [69]. Аналогичных результатов можно добиться путем применения комбинированных гелей на основе кадаверных субстратов. В качестве примера может выступать МСК-содержащий гель из подслизистой оболочки тонкой кишки, использование которого обеспечивает создание более полноценной клеточной ниши для МСК, а, следовательно, ускорение их адгезии, пролиферации, дифференцировки и более длительное выживание. Имплантированные МСК обеспечивают вытеснение коллагена в рубцовой зоне гиалуроновой кислотой, эластином и фибронектином наряду с собственным активным делением. При этом улучшение вязкоэластических свойств голосовой складки подтверждается увеличением амплитуды ее вибраций при фонации [75].

Экспериментальные исследования по использованию методов регенеративной медицины в лечении рубцовых поражений голосовых складок обобщены и представлены в табл.

## Заключение

Таким образом, представленные данные свидетельствуют, что развитие технологий регенеративной медицины открывает клиницистам новые возможности в лечении пациентов с рубцовым поражением голосовых складок. Эффективность многих методик пока не имеет достаточного клинического подтверждения, но полученные результаты экспериментальных исследований наглядно показывают перспективность развития данного направления. Малоперспективным представляется использование цитокиновых препаратов для местного применения, точкой приложения которых являются определенные сигнальные пути и другие клеточные мишени. С одной стороны, это связано с быстрой деградацией молекул, элиминацией их из очага рубцевания и, соответственно, необходимостью повторных аппликаций, с другой — со сложностью и недостаточной изученностью процессов, ведущих к активации фибробластов и последующему фиброзу. Наиболее многообещающей и перспективной является разработка методов, сочетающих применение МСК, имплантированных в специально разработанный биоразлагаемый каркас с параметрами, близкими к характеристикам собственной

Таблица. Экспериментальные исследования по использованию методов регенеративной медицины в лечении рубцовых поражений голосовых складок

Вид исследования: Животные / Человек	Тип повреждения	Средство лечения и способ применения	Результат	Ссылки
<b>Факторы роста</b>				
<i>Доклинические исследования</i>				
10 крыс старшей возрастной группы	Неповрежденные голосовые складки (ГС)	Основной фактор роста фибробластов (bFGF). 2 инъекции в ГС с периодичностью 1 нед	Статистически значимое увеличение количества гиалуроновой кислоты по сравнению с контрольной группой. Отсутствие различий в содержании коллагена во внеклеточном матриксе	[57]
20 кроликов	Острая скарификационная травма голосовых складок щипцами для биопсии	Фактор роста гепатоцитов (HGF). Однократная инъекция сразу после скарификации. Срок наблюдения — 2 мес	Статистически значимое уменьшение депозитов коллагена I типа. Улучшение морфологических и реологических характеристик по сравнению с контрольной группой	[58]
Эксперимент <i>in vitro</i>	Культирование фибробластов собственной пластинки слизистой оболочки голосовых складок в среде с добавлением ростовых факторов	Фактор роста гепатоцитов HGF. Трансформирующий фактор роста бета — TGFβ1	Усиление экспрессии гиалуроновой кислоты, уменьшение экспрессии коллагена I типа, отсутствие влияния на экспрессию фибронектина фактора роста гепатоцитов	[59]
11 крыс (основная группа)	Острая скарификационная травма голосовых складок	4 инъекции в область дефекта ГС с периодичностью 1 нед, начиная с момента скарификации. Срок наблюдения — 2 мес	Статистически значимое увеличение количества гиалуроновой кислоты по сравнению с контрольной группой. Отсутствие различий в экспрессии коллагена I типа и форме голосовых складок	[76]
<i>Клинические исследования</i>				
10 пациентов (6 мужчин, 4 женщины). Средний возраст — 70,1 года	Нативные голосовые складки. Пресбифония	1–7 инъекций bFGF в голосовые складки в дозе 10 мкг. Срок наблюдения — 6 мес	Значительное улучшение максимального времени фонации, среднего потока и снижение охриплости. Сохранение результатов в течение года. Отсутствие ближайших и отсроченных неблагоприятных эффектов	[60]
<b>Клеточная терапия</b>				
<i>Каркасы без клеток</i>				
<i>Доклинические исследования</i>				
20 кроликов	Острая скарификационная травма голосовых складок щипцами для биопсии	Однократная инъекция Saibulan™-GSX 5% (гиалуроновая кислота) в область дефекта сразу после эксцизии	Статистически достоверное различие в экспрессии проколлагена, фибронектина и TGFβ1 в основной и контрольной группах к 5-му дню после операции	[48]
30 собак	Частичное удаление голосовых складок	Имплантация внеклеточного матрикса слизистой оболочки голосовых складок свиньи в область дефекта ГС	При гистологическом исследовании через 3 мес выявлена частичная регенерация плоского эпителия, структур собственной пластинки слизистой и голосовой мышцы	[62]

Таблица. Экспериментальные исследования по использованию методов регенеративной медицины в лечении рубцовых поражений голосовых складок (Продолжение)

Вид исследования: Животные / Человек	Тип повреждения	Средство лечения и способ применения	Результат	Ссылки
Кролики	Неповрежденные голосовые складки	Однократная инъекция коллагена, гиалуроновой кислоты либо тефлона в голосовые складки. Срок наблюдения — 6 мес	Сравнение механических свойств (динамической вязкости) ГС трех групп выявило минимальные различия с нормой при инъекции гиалуроновой кислоты	[64]
<i>Клинические исследования</i>				
83 пациента с различными доброкачественными поражениями ГС	Хирургическая коррекция (иссечение пораженного участка) ГС в условиях прямой ларингоскопии при общей анестезии	Имплантация этерифицированной гиалуроновой кислоты в область операционного дефекта ГС перед укладкой слизистого лоскута	Отсутствие статистически значимых различий голосовых параметров в основной и контрольной группах в ближайшем послеоперационном периоде. Значительно более выраженная положительная динамика в качестве голоса в отдаленном периоде (4 года) у пациентов после имплантации гиалуроновой кислоты	[63]
<i>Клетки без каркасов</i>				
<i>Доказательные исследования</i>				
9 собак	Острая травма лазерным воздействием	Три еженедельные инъекции аутологичных фибробластов слизистой оболочки щеки (5–6 пассажей), начиная с момента травмы	Приближение характеристик волн слизистой оболочки и акустических параметров вибрации ГС к норме через несколько месяцев после инъекции фибробластов	[65]
Исследование <i>in vitro</i>	Сравнение характеристик фибробластов собственной пластинки ГС и мезенхимальных стволовых клеток (МСК) костного мозга и жировой ткани	Изучение маркеров клеточной поверхности и потенциала дифференцировки	Фибробласты собственной пластинки ГС и МСК костного мозга и жировой ткани обладают совпадающими маркерами клеточной поверхности и сходным потенциалом к дифференцировке	[66]
17 собак	Острая скарификационная травма голосовых складок	Однократная инъекция в область дефекта ГС сразу после скарификации МСК жировой ткани, культивированных в среде, содержащей фактор роста соединительной ткани; либо инъекция фибробластов собственной пластинки слизистой ГС. Срок наблюдения — 6 мес	МСК из жировой ткани превосходят фибробласты по качеству восстановления экстрацеллюлярного матрикса, демонстрируя более высокие темпы регрессии коллагена	[67]
Крысы	Свежий дефект голосовых складок после экцизии зрелого рубца	Инъекция МСК костного мозга либо жировой ткани непосредственно в область дефекта. Срок наблюдения — 3 мес	Сходные регенеративные способности клеток из обоих источников. (Уменьшение депозитов коллагена I типа, увеличение количества гиалуроновой кислоты). Большая экспрессия гиалурон-синтазы 1 и 2, фактора роста гепатоцитов в группе МСК жировой ткани	[71]

Таблица. Экспериментальные исследования по использованию методов регенеративной медицины в лечении рубцовых поражений голосовых складок (Окончание)

Вид исследования: Животные / Человек	Тип повреждения	Средство лечения и способ применения	Результат	Ссылки
74 кролика	Зрелые рубцы голосовых складок (18 мес с момента травмы)	Инъекция аутологических МСК жировой ткани непосредственно в область рубца. Инъекция геля гиалуроновой кислоты в группе сравнения	Сравнение с группой контроля: • толщина собственной пластинки слизистой ГС стремится к исходным значениям; • уменьшение количества и организация коллагена ламинарным образом; • восстановление количества гиалуроновой кислоты	[72]
12 кроликов	Свежий дефект голосовых складок после экцизии зрелого рубца	Инъекция человеческих МСК костного мозга непосредственно в область дефекта. Срок наблюдения — 10 нед	Статистически значимое улучшение механических свойств ГС, снижение количества коллагена, уменьшение толщины собственной пластинки слизистой ГС. Клетки не выживают в месте инъекции более 1 мес	[15]
11 кроликов	Острая скарификационная травма голосовых складок	Однократная инъекция в область дефекта ГС сразу после скарификации человеческих эмбриональных стволовых клеток	Значительное улучшение механических и морфологических характеристик ГС. Дифференцировка клеток в эпителиальную, хрящевую и мышечную ткань	[73]
<b>Клетки + каркас</b>				
Исследование <i>in vitro</i>	Сравнение свойств МСК жировой ткани при культивировании в различных гидрогелях	Группы: • гиалуроновая кислота; • фибрин; • коллаген; • фибрин-коллаген; • фибрин-гиалуроновая кислота	Состав гидрогеля, используемого в качестве матрицы для МСК, влияет на свойства клеток. Гидрогель гиалуроновой кислоты сохраняет темпы дифференцировки и пролиферации клеток. Гидрогели на основе фибрина, его соединений с гиалуроновой кислотой и коллагеном, напротив, стимулируют дифференцировку клеток в удлиненные, с морфологией, близкой к фибробластам ГС, и усиливают экспрессию эластана	[74]
24 кролика	Острая травма голосовых складок электрокоагулятором	Однократная инъекция в область дефекта ГС сразу после травмы суспензии МСК, МСК + геля из подслизистой оболочки тонкой кишки либо геля без клеток	В группе МСК + гель достигнуты наилучшие механические свойства ГС, увеличение гиалуроновой кислоты и уменьшение депозитов коллагена I типа по сравнению с другими методами лечения	[75]
Кролики	Острая скарификационная травма голосовых складок	Однократная инъекция в область дефекта ГС сразу после скарификации человеческих МСК жировой ткани в теле, содержащем гиалуроновую кислоту / альгинат гидрогель	Лучшее восстановление внеклеточного матрикса и механических характеристик ГС при инъекции МСК в теле, содержащем гиалуроновую кислоту / альгинат гидрогель	[69]

пластинки голосовой складки, что позволит создать оптимальную тканевую микросреду для реализации регенераторного потенциала МСК.

действию развития малых форм предприятий в научно-технической сфере: программа «УМНИК» (договор №7371ГУ/2015).

### Источник финансирования

Поисково-аналитическая работа проведена в рамках научной программы, поддержанной грантом Фонда со-

### Конфликт интересов

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

### ЛИТЕРАТУРА

- Cohen SM, Kim J, Roy N, et al. Prevalence and causes of dysphonia in a large treatment-seeking population. *Laryngoscope*. 2012;122(2):343–348. doi: 10.1002/lary.22426.
- Bartlett RS, Thibeault SL. *Bioengineering the vocal fold: a review of mesenchymal stem cell applications*. In: George A, ed. *Advances in biomimetics*. InTech; 2011. doi: 10.5772/13803.
- Hunter EJ, Svec JG, Titze IR. Comparison of the produced and perceived voice range profiles in untrained and trained classical singers. *J Voice*. 2006;20(4):513–526. doi: 10.1016/j.jvoice.2005.08.009.
- Guimaraes I, Abberton E. Fundamental frequency in speakers of Portuguese for different voice samples. *J Voice*. 2005;19(4):592–606. doi: 10.1016/j.jvoice.2004.11.004.
- Sivasankar M, Erickson E, Rosenblatt M, Branski RC. Hypertonic challenge to porcine vocal folds: effects on epithelial barrier function. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2010;142(1):79–84. doi: 10.1016/j.otohns.2009.09.011.
- Fisher KV, Telsner A, Phillips JE, Yeates DB. Regulation of vocal fold transepithelial water fluxes. *J Appl Physiol (1985)*. 2001;91(3):1401–1411.
- Hirano M, Sato K, Nakashima T. Fibroblasts in human vocal fold mucosa. *Acta Otolaryngol*. 1999;119(2):271–276. doi: 10.1080/00016489950181800.
- Thibeault SL, Gray SD, Bless DM, et al. Histologic and rheologic characterization of vocal fold scarring. *J Voice*. 2002;16(1):96–104. doi: 10.1016/s0892-1997(02)00078-4.
- Gray SD. Cellular physiology of the vocal folds. *Otolaryngol Clin North Am*. 2000;33(4):679–697. doi: 10.1016/s0030-6665(05)70237-1.
- Mossallam I, Kotby MN, Ghaly A. *Histopathological aspects of benign vocal fold lesions associated with dysphonia*. In: Kirchner JA, ed. *Vocal fold histopathological*. San Diego, CA: College-Hill; 1986. p. 65–80.
- Courey MS, Shohet JA, Scott MA, Ossoff RH. Immunohistochemical characterization of benign laryngeal lesions. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 1996;105(7):525–531. doi: 10.1177/000348949610500706.
- Hammond TH, Zhou R, Hammond EH, et al. The intermediate layer: a morphologic study of the elastin and hyaluronic acid constituents of normal human vocal folds. *J Voice*. 1997;11(1):59–66. doi: 10.1016/s0892-1997(97)80024-0.
- Gray SD, Titze IR, Alipour F, Hammond TH. Biomechanical and histologic observations of vocal fold fibrous proteins. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2000;109(1):77–85. doi: 10.1177/000348940010900115.
- Gray S, Titze I, Chan R, Hammond T. Vocal fold proteoglycans and their influence on biomechanics. *Laryngoscope*. 1999;109(6):845–854. doi: 10.1097/00005537-199906000-00001.
- Svensson B. *Restoration of scarred vocal folds with stem cell implantation - analyses in a xenograft model*. Stockholm: Karolinska institutet; 2011.
- Hirano MY, Kakita Y. *Cover-body theory of vocal fold vibration*. In: *Speech Science*. Ed by Daniloff R. College-Hill Press, Diego; 1985.
- Ремакль М., Эккель Х.Э. Хирургия гортани и трахеи. Пер. с англ. / Под ред. Ю.К. Янова. — М.: Изд-во Панфилова, Бином; 2014. 352 с. [Remakl' M, Ekkel' KhE. *Khirurgiya gortani i trakhei*. Transl. from English. Ed by Yanov Yu.K. Moscow: Izd-vo Panfilova, Binom; 2014. 352 p. (In Russ).]
- Le Blanc K, Ringden O. Immunomodulation by mesenchymal stem cells and clinical experience. *J Intern Med*. 2007;262(5):509–525. doi: 10.1111/j.1365-2796.2007.01844.x.
- Branski RC, Rosen CA, Verdolini K, Hebda PA. Acute vocal fold wound healing in a rabbit model. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2005;114(1):19–24. doi: 10.1177/000348940511400105.
- Campagnolo AM, Tsuji DH, Sennes LU, et al. Histologic study of acute vocal fold wound healing after corticosteroid injection in a rabbit model. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2010;119(2):133–139. doi: 10.1177/000348941011900211.
- Benninger MS, Alessi D, Archer S, et al. Vocal fold scarring: current concepts and management. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 1996;115(5):474–482. doi: 10.1016/s0194-5998(96)70087-6.
- Ford CN, Bless DM. A preliminary study of injectable collagen in human vocal fold augmentation. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 1986;94(1):104–112. doi: 10.1177/019459988609400117.
- Damrose EJ, Berke GS. Advances in the management of glottic insufficiency. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg*. 2003;11(6):480–484. doi: 10.1097/00020840-200312000-00013.
- Sulica L, Rosen CA, Postma GN, et al. Current practice in injection augmentation of the vocal folds: indications, treatment principles, techniques, and complications. *Laryngoscope*. 2010;120(2):319–325. doi: 10.1002/lary.20737.
- Remacle M, Marbaix E. Further morphologic studies on collagen injected into canine vocal folds. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 1991;100(12):1007–1014. doi: 10.1177/000348949110001209.
- Marbaix E, Remacle M. GAX-collagen in the human vocal fold. *Ear Nose Throat J*. 1991;70(12):857–860.
- Lee BJ, Wang SG, Goh EK, et al. Histologic evaluation of intracordal autologous cartilage injection in the paralyzed canine vocal fold at two and three years. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2006;134(4):627–630. doi: 10.1016/j.otohns.2005.12.013.
- Lee BJ, Wang SG, Goh EK, et al. Intracordal injection of autologous auricular cartilage in the paralyzed canine vocal fold. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2004;131(1):34–43. doi: 10.1016/j.otohns.2004.02.019.
- Mikaelian DO, Lowry LD, Sataloff RT. Lipoinjection for unilateral vocal cord paralysis. *Laryngoscope*. 1991;101(5):465–468. doi: 10.1288/00005537-199105000-00003.
- Zapanta PE, Bielamowicz SA. Laryngeal abscess after injection laryngoplasty with micronized AlloDerm. *Laryngoscope*. 2004;114(9):1522–1524. doi: 10.1097/00005537-200409000-00002.
- Ward PH, Hanson DG, Abemayor E. Transcutaneous Teflon injection of the paralyzed vocal cord: a new technique. *Laryngoscope*. 1985;95(6):644–649. doi: 10.1288/00005537-198506000-00002.
- Rihkanen H. Vocal fold augmentation by injection of autologous fascia. *Laryngoscope*. 1998;108(1):51–54. doi: 10.1097/00005537-199801000-00010.
- Koufman JA. Laryngoplasty for vocal cord medialization: an alternative to Teflon. *Laryngoscope*. 1986;96(7):726–731. doi: 10.1288/00005537-198607000-00004.

34. Friedrich G. Basic principles for indications in phonosurgery. *Laryngorhinootologie*. 1995;74(11):663–665. doi: 10.1055/s-2007-997821.
35. Schneider B, Denk DM, Bigenzahn W. Functional results after external vocal fold medialization thyroplasty with the titanium vocal fold medialization implant. *Laryngoscope*. 2003;113(4):628–634. doi: 10.1097/00005537-200304000-00008.
36. Schramm VL, May M, Lavorato AS. Gelfoam paste injection for vocal cord paralysis: temporary rehabilitation of glottic incompetence. *Laryngoscope*. 1978;88(8):1268–1273. doi: 10.1288/00005537-197808000-00007.
37. Dedo HH, Carsouou B. Histologic evaluation of Teflon granulomas of human vocal cords. A light and electron microscopic study. *Acta Otolaryngol*. 1982;93(1-6):475–484. doi: 10.3109/00016488209130907.
38. Carroll TL, Rosen CA. Long-term results of calcium hydroxylapatite for vocal fold augmentation. *Laryngoscope*. 2011;121(2):313–319. doi: 10.1002/lary.21258.
39. Ellis JC, McCaffrey TV, DeSanto LW, Reiman HV. Migration of Teflon after vocal cord injection. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 1987;96(1):63–66. doi: 10.1177/019459988709600111.
40. McCulloch TM, Hoffman HT. Medialization laryngoplasty with expanded polytetrafluoroethylene. Surgical technique and preliminary results. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 1998;107(5):427–432. doi: 10.1177/000348949810700512.
41. Dufresne AM, Lafreniere D. Soft tissue response in the rabbit larynx following implantation of LactoSorb (PLA/PGA copolymer) prosthesis for medialization laryngoplasty. *J Voice*. 2000;14(3):387–397. doi: 10.1016/s0892-1997(00)80084-3.
42. Toomey JM, Brown BS. The histological response to intracordal injection of teflon paste. *Laryngoscope*. 1967;77(1):110–120. doi: 10.1288/00005537-196701000-00010.
43. Hirano M, Tanaka Y, Tanaka S, Hibi S. Transcutaneous intrafold injection for unilateral vocal fold paralysis: functional results. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 1990;99(8):598–604. doi: 10.1177/000348949009900802.
44. Keskin G, Boyaci Z, Ustundag E, et al. Use of polyethylene terephthalate and expanded-polytetrafluoroethylene in medialization laryngoplasty. *J Laryngol Otol*. 2003;117(4):294–297. doi: 10.1258/00222150360600904.
45. Belafsky PC, Postma GN. Vocal fold augmentation with calcium hydroxylapatite. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2004;131(4):351–354. doi: 10.1016/j.otohns.2004.03.025.
46. Rosen CA, Gartner-Schmidt J, Casiano R, et al. Vocal fold augmentation with calcium hydroxylapatite (CaHA). *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2007;136(2):198–204. doi: 10.1016/j.otohns.2006.07.014.
47. Tsunoda K, Kondou K, Kaga K, et al. Autologous transplantation of fascia into the vocal fold: long-term result of type-1 transplantation and the future. *Laryngoscope*. 2005;115 (Suppl S108):1–10. doi: 10.1097/01.mlg.0000183966.72921.31.
48. Duflo S, Thibeault SL, Li W, et al. Effect of a synthetic extracellular matrix on vocal fold lamina propria gene expression in early wound healing. *Tissue Eng*. 2006;12(11):3201–3207. doi: 10.1089/ten.2006.12.3201.
49. Zhang F, Sprecher AJ, Wei C, Jiang JJ. Implantation of gelatin sponge combined with injection of autologous fat for sulcus vocalis. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2010;143(2):198–203. doi: 10.1016/j.otohns.2010.03.002.
50. Finck C, Lefebvre P. Implantation of esterified hyaluronic acid in microdissected Reinke's space after vocal fold microsurgery: first clinical experiences. *Laryngoscope*. 2005;115(10):1841–1847. doi: 10.1097/01.mlg.0000173158.22274.8d.
51. Thibeault SL, Klemuk SA, Chen X, Quinchia Johnson BH. In Vivo engineering of the vocal fold ECM with injectable HA hydrogels—late effects on tissue repair and biomechanics in a rabbit model. *J Voice*. 2011;25(2):249–253. doi: 10.1016/j.jvoice.2009.10.003.
52. Neuenschwander MC, Sataloff RT, Abaza MM, et al. Management of vocal fold scar with autologous fat implantation: perceptual results. *J Voice*. 2001;15(2):295–304. doi: 10.1016/S0892-1997(01)00031-5.
53. Zeitels SM, Burns JA. Office-based laryngeal laser surgery with the 532-nm pulsed-potassium-titanyl-phosphate laser. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg*. 2007;15(6):394–400. doi: 10.1097/MOO.0b013e3282f1fbb2.
54. Prufer N, Woo P, Altman KW. Pulse dye and other laser treatments for vocal scar. *Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg*. 2010;18(6):492–497. doi: 10.1097/MOO.0b013e32833f890d.
55. Pontes P, Behlau M. Treatment of sulcus vocalis: auditory perceptual and acoustical analysis of the slicing mucosa surgical technique. *J Voice*. 1993;7(4):365–376. doi: 10.1016/s0892-1997(05)80260-7.
56. Friedrich G, Dikkers FG, Arens C, et al. Vocal fold scars: current concepts and future directions. Consensus report of the Phonosurgery Committee of the European Laryngological Society. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2013;270(9):2491–2507. doi: 10.1007/s00405-013-2498-9.
57. Ohno T, Yoo MJ, Swanson ER, et al. Regenerative effects of basic fibroblast growth factor on extracellular matrix production in aged rat vocal folds. *Laryngoscope*. 2009;119(7):1424–1430. doi: 10.1002/lary.20497.
58. Hirano S, Bless DM, Rousseau B, et al. Prevention of vocal fold scarring by topical injection of hepatocyte growth factor in a rabbit model. *Laryngoscope*. 2004;114(3):548–556. doi: 10.1097/00005537-200403000-00030.
59. Hirano S, Bless D, Heisey D, Ford C. Roles of hepatocyte growth factor and transforming growth factor beta1 in production of extracellular matrix by canine vocal fold fibroblasts. *Laryngoscope*. 2003;113(1):144–148. doi: 10.1097/00005537-200301000-00027.
60. Hirano S, Tateya I, Kishimoto Y, et al. Clinical trial of regeneration of aged vocal folds with growth factor therapy. *Laryngoscope*. 2012;122(2):327–331. doi: 10.1002/lary.22393.
61. Feng XH, Derynck R. Specificity and versatility in tgf-beta signaling through Smads. *Annu Rev Cell Dev Biol*. 2005;21:659–693. doi: 10.1146/annurev.cellbio.21.022404.142018.
62. Huber J, Spievack A, Ringel R, et al. Extracellular matrix as a scaffold for laryngeal reconstruction. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2003;112(5):428–433. doi: 10.1177/000348940311200508.
63. Finck CL, Harmegnies B, Remacle A, Lefebvre P. Implantation of esterified hyaluronic acid in microdissected Reinke's space after vocal fold microsurgery: short- and long-term results. *J Voice*. 2010;24(5):626–635. doi: 10.1016/j.jvoice.2008.12.015.
64. Dahlqvist A, Garskog O, Laurent C, et al. Viscoelasticity of rabbit vocal folds after injection augmentation. *Laryngoscope*. 2004;114(1):138–142. doi: 10.1097/00005537-200401000-00025.
65. Chhetri DK, Head C, Revazova E, et al. Lamina propria replacement therapy with cultured autologous fibroblasts for vocal fold scars. *Otolaryngol Head Neck Surg*. 2004;131(6):864–870. doi: 10.1016/j.otohns.2004.07.010.
66. Hanson SE, Kim J, Johnson BH, et al. Characterization of mesenchymal stem cells from human vocal fold fibroblasts. *Laryngoscope*. 2010;120(3):546–551. doi: 10.1002/lary.20797.
67. Hu R, Ling W, Xu W, Han D. Fibroblast-like cells differentiated from adipose-derived mesenchymal stem cells for vocal fold wound healing. *PLoS One*. 2014;9(3):e92676. doi: 10.1371/journal.pone.0092676.
68. Imaizumi M, Sato Y, Yang DT, Thibeault SL. In vitro epithelial differentiation of human induced pluripotent stem cells for vocal fold tissue engineering. *Ann Otol Rhinol Laryngol*. 2013;122(12):737–747. doi: 10.1177/000348941312201203.
69. Kim YM, Oh SH, Choi JS, et al. Adipose-derived stem cell-containing hyaluronic acid/alginate hydrogel improves vocal fold wound healing. *Laryngoscope*. 2014;124(3):64–72. doi: 10.1002/lary.24405.

70. Peng H, Ming L, Yang R, et al. The use of laryngeal mucosa mesenchymal stem cells for the repair the vocal fold injury. *Biomaterials*. 2013;34(36):9026-9035. doi:10.1016/j.biomaterials.2013.08.004.
71. Hiwatashi N, Hirano S, Mizuta M, et al. Adipose-derived stem cells versus bone marrow-derived stem cells for vocal fold regeneration. *Laryngoscope*. 2014;124(12):461-469. doi: 10.1002/lary.24816.
72. Valerie A, Vassiliki K, Irini M, et al. Adipose- derived mesenchymal stem cells in the regeneration of vocal folds: a study on a chronic vocal fold scar. *Stem Cells Int*. 2016;2016:9010279. doi: 10.1155/2016/9010279.
73. Cedervall J, Ahrlund-Richter L, Svensson B, et al. Injection of embryonic stem cells into scarred rabbit vocal folds enhances healing and improves viscoelasticity: short-term results. *Laryngoscope*. 2007;117(11):2075-2081. doi: 10.1097/MLG.0b013e3181379c7c.
74. Park H, Karajanagi S, Wolak K, et al. Three-dimensional hydrogel model using adipose-derived stem cells for vocal fold augmentation. *Tissue Eng Part A*. 2010;16(2):535-543. doi: 10.1089/ten.TEA.2009.0029.
75. Choi JW, Park JK, Chang JW, et al. Small intestine submucosa and mesenchymal stem cells composite gel for scarless vocal fold regeneration. *Biomaterials*. 2014;35(18):4911-4918. doi: 10.1016/j.biomaterials.2014.03.008.
76. Tateya I, Tateya T, Sohn JH, Bless DM. Histological effect of basic fibroblast growth factor on chronic vocal fold scarring in a rat model. *Clin Exp Otorhinolaryngol*. 2016;9(1):56-61. doi: 10.21053/ceo.2016.9.1.56.

### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Свистушкин Валерий Михайлович**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой оториноларингологии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова

Адрес: 119991, Москва, ул. Б. Пироговская, д. 6, стр. 1, тел.: +7 (499) 248-77-77, e-mail: svvm3@yandex.ru

**Старостина Светлана Викторовна**, доктор медицинских наук, профессор кафедры оториноларингологии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова

Адрес: 119991, Москва, ул. Б. Пироговская, д. 6, стр. 1, e-mail: starostina\_sv@inbox.ru

**Людуп 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 (добавочный 3051), e-mail: lyundup@gmail.com

**Дедова Мария Георгиевна**, ассистент кафедры оториноларингологии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова

Адрес: 119991, Москва, ул. Б. Пироговская, д. 6, стр. 1, тел.: +7 (925) 448-14-06, e-mail: Dedova.marica@mail.ru

**Будейкина Лилия Сергеевна**, клинический ординатор кафедры оториноларингологии Первого МГМУ им. И.М. Сеченова

Адрес: 119991, Москва, ул. Б. Пироговская, д. 6, стр. 1, e-mail: doc.budeykina@gmail.com

**Свистушкин Михаил Валерьевич**, студент 6-го курса ЦИОП «Медицина будущего» Первого МГМУ им. И.М. Сеченова

Адрес: 119991, Москва, ул. Б. Пироговская, д. 6, стр. 1, e-mail: svstmih@live.ru

**Крашенинников Михаил Евгеньевич**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отдела 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: krashen@rambler.ru

**Барановский Денис Станиславович**, аспирант отдела 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: dennissb@mail.ru

А.В. Березной, Р.Т. Сайгитов

Национальный исследовательский университет «Высшая школа экономики»,  
Москва, Российская Федерация

## «Цифровая революция» и инновационные бизнес-модели в здравоохранении: глобальные тренды и российские реалии

«Цифровая революция» — один из мощных глобальных трендов, вызвавших небывалое по масштабам и глубине проникновение информационно-коммуникационных технологий во все сектора экономики, включая здравоохранение. С развитием этого тренда связаны ожидания повышения качества медицинской помощи, ее доступности и экономической эффективности. Однако эйфория первых шагов «цифровой революции» в настоящее время сменяется реалистичным анализом возможностей и условий реализации того действительно колоссального потенциала, который заложен в информационной трансформации здравоохранения. Приходит более сбалансированное понимание особенностей инновационных процессов в отрасли и, главное, существенных барьеров, затрудняющих внедрение новых идей и практик из-за сложного переплетения социальных, экономических, этических, психологических факторов. С учетом этой отраслевой специфики становится очевидным, что «цифровая революция» в здравоохранении не может быть быстрым переворотом, а будет проходить несколько этапов и займет, скорее всего, не один десяток лет. В этой связи в статье рассматриваются возможности новых бизнес-моделей, способных существенно изменить экономический ландшафт отрасли (uber-медицина, розничные клиники, абонементная медицинская помощь, сетевые модели медицинского обслуживания). Дана оценка текущего состояния и перспектив развития «цифрового» здравоохранения в России.

**Ключевые слова:** цифровая революция, информационно-коммуникационные технологии, сектор здравоохранения, инновационные бизнес-модели, uber-медицина.

(Для цитирования: Березной А.В., Сайгитов Р.Т. «Цифровая революция» и инновационные бизнес-модели в здравоохранении: глобальные тренды и российские реалии. *Вестник РАМН*. 2016;71(3):200–213. doi: 10.15690/vramn682)

### Введение

Одним из наиболее мощных глобальных трендов в современном здравоохранении выступает развертывание так называемой цифровой революции, проявляющейся прежде всего в резком усилении влияния информационно-коммуникационных технологий практически на все стороны функционирования этой особой сферы человеческой деятельности. В настоящее время миллионы людей по всему миру уже активно пользуются портативными электронными устройствами для мониторинга состояния

своего здоровья, применяют мобильные телефоны или планшеты для врачебных интернет-консультаций или видеоконференций. В свою очередь, врачебное сообщество все шире прибегает к использованию невиданных ранее возможностей электронного накопления и компьютерной обработки (ускоренной аналитики) больших объемов данных для качественного повышения уровня диагностики и лечения самых разных заболеваний и, что еще важнее, для эффективного их предупреждения.

Возникающие таким образом элементы нового облика здравоохранения являются отражением набирающих

A. Bereznoy, R. Saygitov

National Research University Higher School of Economics,  
Moscow, Russian Federation

## Digital Revolution and Innovative Business Models in Healthcare: Global Trends and Russian Realities

Digital revolution is one of the major global trends resulting in the unprecedented scale and depth of penetration of information and communication technologies into all sectors of national economy, including healthcare. The development of this trend brought about high expectations related to the improvement of quality of medical assistance, accessibility and economic efficiency of healthcare services. However, euphoria of the first steps of digital revolution is passing now, opening doors to more realistic analysis of opportunities and conditions of realization of the true potential hidden in the digital transformation of healthcare. More balanced perception of the peculiarities of innovation processes in the sector is coming together with understanding of the serious barriers, hampering implementation of the new ideas and practices due to complicated interweaving of social, economic, ethical and psychological factors. When taking into account the industry specifics it becomes evident that digital revolution cannot be a quick turnaround but rather would pass a number of phases and is likely to last more than one decade. In this context, the article focuses on the prospects of the new business models, capable of making significant changes in today's economic landscape of the sector (including uber-medicine, retail clinics, retainer medicine, network models of medical services). The authors also provide assessment of the current situation and perspectives of digital healthcare development in Russia.

**Key words:** digital revolution, information and communication technologies, healthcare sector, innovative business models, uber-medicine.

(For citation: Bereznoy AV, Saygitov RT. Digital Revolution and Innovative Business Models in Healthcare: Global Trends and Russian Realities. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2016;71(3):200–213. doi: 10.15690/vramn682)

силу процессов фундаментальной перестройки отрасли, значение которых выходит далеко за рамки чисто технологических изменений. С экономической точки зрения, речь идет о формировании инновационных бизнес-моделей или принципиально новых способах создания «ценности» для потребителей медицинских услуг, новой «архитектуры» взаимодействия всех ключевых участников сектора здравоохранения, в том числе непосредственных потребителей, врачей, государство, медицинские страховые компании, а также бизнес-сообщество в качестве субъекта найма потребителей медицинских услуг. Применительно к наиболее развитым странам можно говорить о становлении новой экосистемы здравоохранения, растущей на основе «цифровой революции», и связанных с ней инновационных бизнес-моделей.

Соответственно, целями статьи являются определение основных направлений «цифровизации» здравоохранения, прежде всего в наиболее развитых в этом отношении регионах мира, осмысление особенностей формирующихся на их базе бизнес-моделей, а также критический анализ реальных результатов и уровня развития этих процессов по сравнению с ожиданиями основных участников системы здравоохранения. Важнейшей задачей является также оценка специфики развертывания цифровизации в российских условиях и ее перспектив в контексте продолжающейся реформы российского здравоохранения.

### Основные направления развития «цифрового здравоохранения»

В целом развитие процессов цифровизации (или информатизации) в здравоохранении проходило примерно те же этапы, что и в других крупных отраслях экономики развитых стран. С конца 1950-х гг., когда ведущие западные промышленные корпорации начали автоматизировать стандартные рутинные операции (прежде всего в области бухгалтерского и кадрового учета), многие основные игроки сектора здравоохранения, в первую очередь страховые компании, также стали использовать информационные системы для обработки массивов статистических данных, связанных с оказанием медицинских услуг. Через два десятилетия главным фокусом второй волны информатизации стала интеграция ключевых и вспомогательных бизнес-процессов в рамках отдельных компаний, а также поддержка бесперебойного функционирования технологических цепочек, охватывающих все более широкие сети компаний-партнеров. Именно в этот период в ряде развитых стран (включая США, Германию и Великобританию) были приняты законы и специальные программы, обеспечившие необходимую институциональную и техническую инфраструктуру для информатизации здравоохранения в национальном масштабе [1].

Наконец, текущий этап, называемый многими «цифровой революцией», характеризуется не только наиболее полным охватом практически всех сегментов и основных участников экономических отношений в отрасли, но и новой ролью информационно-коммуникационных технологий в целом, явно выступающих в качестве одного из главных драйверов развертывания фундаментальных отраслевых изменений.

В числе основных направлений «цифровой революции» в здравоохранении можно выделить удаленный контроль за состоянием пациентов, телемедицину, портативные средства мониторинга собственного здоровья и цифровизацию хранения, обмена и обработки медицин-

ских данных. Каждое из этих направлений имеет безусловную специфику и во многом собственную логику развития.

#### Удаленный контроль за состоянием пациентов

Пожалуй, это одно из наиболее ярких воплощений новых возможностей в сфере медицинских услуг, открываемых цифровыми технологиями. Данное направление охватывает электронные устройства и методы беспроводного дистанционного мониторинга, позволяющие врачам (клиникам) отслеживать состояние пациентов группы высокого риска (страдающих хроническими заболеваниями, недавно выписанных из клиник и т.п.), находящихся за пределами лечебных учреждений, в режиме онлайн. Примером реализации подобного мониторинга может служить использование портативных (или имплантируемых) устройств для постоянного контроля функциональных параметров сердца кардиологических пациентов, электронных неинвазивных глюкометров для отслеживания уровня глюкозы и своевременной коррекции уровня инсулина у больных сахарным диабетом, а также сенсоров, определяющих качество воздуха и сигнализирующих о необходимости использования ингалятора больным бронхиальной астмой.

По данным целого ряда специальных исследований, применение электронных средств удаленного контроля способно обеспечить существенный положительный эффект как с точки зрения клинических результатов, так и в экономическом отношении. Клинические преимущества данного направления цифровизации чаще всего связывают с возможностями превентивного контроля за состоянием хронических больных. С одной стороны, постоянный мониторинг характеристик витальных функций организма таких пациентов может предоставить медицинскому персоналу в пунктах дистанционного контроля информацию о развитии приступа, обеспечивая им необходимое время для его купирования медикаментозными средствами. С другой стороны, те же устройства могут сигнализировать самим пациентам об опасном изменении их состояния, давая им возможность заблаговременно принять соответствующие препараты и не допустить реального обострения. В последнее время появились и первые положительные отчеты об использовании подобных устройств. Так, результатами первых четырех лет реализации пилотной программы по удаленному мониторингу состояния пациентов из больницы Милосердия Святого Иосифа в Окленде (St. Joseph Mercy Oakland; штат Мичиган, США) стало снижение уровня их смертности на 35% [2]. Проведенное также в США пилотное применение (в рамках рандомизированного клинического испытания длительностью 6 мес) имплантируемого сердечного датчика, связанного беспроводной сетью с хранилищем медицинских данных клиники, привело к снижению частоты госпитализаций пациентов с сердечной недостаточностью на 30% [3].

С экономической точки зрения, удаленный контроль может обеспечить значительную экономию средств по целому ряду направлений. Во-первых, не имея доступа к текущей информации об изменении состояния хронических пациентов, врачи могут только с немалым опозданием реагировать на симптомы резкого обострения заболевания, что обычно предполагает дорогостоящую срочную госпитализацию в целях стабилизации больного. Во-вторых, при налаженном удаленном мониторинге обработка поступающих данных о состоянии пациентов и выполнение набора стандартных процедур в случае опасного отклонения их от нормы обычно являются функциями среднего медицинского персонала (квалифицированных

медсестер), что означает существенную экономию куда более дорогостоящего времени самих врачей. Наконец, в-третьих, развитие сенсорной техники позволяет все шире перекладывать на самих пациентов превентивные меры по предотвращению обострений их заболеваний, оставляя за дистанционно наблюдающим медицинским персоналом только функции подстраховки и возможных консультаций. С учетом огромных финансовых средств, которые ежегодно уходят на услуги по лечению хронических заболеваний во многих странах, успешный поиск путей повышения эффективности именно в этой области обещает наиболее значительный экономический эффект. Так, в США общий объем финансовых затрат на услуги по лечению хронических больных в 2014 г. оценивался в сумму более 1,1 трлн долл. (или более 40% всех национальных расходов на здравоохранение), а потенциальный экономический эффект от широкого внедрения удаленного мониторинга пациентов — в 202 млрд долл. [4].

### Телемедицина

Еще одно направление цифровизации, которое обеспечивает оказание медицинских услуг дистанционно, вне стен лечебных учреждений. Но в данном случае речь идет не о мониторинге состояния пациента с уже известным диагнозом, а о виртуальном посещении врача. Иными словами, электронные средства коммуникаций используются здесь для прямого контакта с врачом (чаще всего в рамках видеоконференции) в целях получения профессиональных консультаций по диагностике и последующему лечению тех или иных заболеваний. Врачебные консультации средствами телемедицины осуществляются в двух основных вариантах: либо в рамках двустороннего диалога врача с пациентом, либо с участием нескольких врачей (возможно тоже географически удаленных друг от друга), когда в сложных случаях, обычно уже в рамках повторного виртуального посещения, требуется привлечение других конкретных специалистов.

Клинические преимущества телемедицины очевидны только в случаях отсутствия возможности традиционного посещения врача: например, вследствие значительной географической удаленности или физических ограничений пациентов с точки зрения транспортировки или при необходимости срочной консультации. Разумеется, нельзя сбрасывать со счетов и существенное упрощение организации виртуального визита, что нередко может служить немаловажным стимулом обращения к врачу вообще (в случае недомогания), тогда как сложности логистики и вероятность значительных потерь времени, наоборот, могут нередко приводить к рискованному откладыванию посещения даже при серьезном ухудшении самочувствия.

Что касается экономических преимуществ, то здесь возможности телемедицины обычно оцениваются как раз очень высоко. Например, недавняя оценка потенциального экономического эффекта широкого внедрения телемедицины в США показала весьма впечатляющие масштабы возможной экономии. По данным этого исследования, виртуальное посещение может сократить затраты (по сравнению с обычным визитом к врачу) в среднем на 75% (или на 200 долл. за визит), при этом в среднем более половины врачебных посещений оказыва-

ется возможным перевести в формат видеоконференций (более полумиллиарда в год). И хотя значительная доля врачебных визитов неизбежно остается в традиционном формате, расчетная сумма ежегодной экономии в национальном масштабе превысила 103 млрд долл. [4].

### Портативные средства мониторинга собственного здоровья

Относятся, скорее, не к медицинским услугам, а к средствам обеспечения здорового образа жизни. Технически они могут мало отличаться от устройств удаленного контроля за состоянием пациентов, но их назначение качественно иное. Использование средств мониторинга собственного здоровья определяется свободным выбором людей, стремящихся изменить свое поведение для предотвращения тех или иных заболеваний (а не предписанием врача, обеспечивающим необходимый надзор за больным с уже поставленным диагнозом). Ассортимент подобного рода электронных устройств насчитывает сегодня уже сотни позиций и ежегодно быстро пополняется. Наиболее популярными являются специальные приложения к смартфонам (особенно к iPhone), а также разнообразные трекеры (tracker) в виде браслетов, часов, специальной одежды, пластырей и пр., которые уже «умеют» измерять не только шаги, пульс, давление, а также калорийность потребляемой еды и напитков, и даже сравнивать ее с энергетическими затратами, обусловленными интенсивностью дневных физических нагрузок и т.п.

В соответствии с выводами специального доклада, подготовленного американской исследовательской компанией PSFK Labs в 2014 г., основными тенденциями на рынке портативных электронных устройств индивидуального самомониторинга являются существенное расширение их функционала и универсализация [5]. В ближайшие годы возможности большинства этих устройств будут включать передачу медицинских данных в лечебные учреждения (или в «облачные» хранилища данных) в постоянном режиме и оперативный контроль изменения поведения их владельцев. Иными словами, в техническом смысле эти устройства станут универсальными датчиками состояния здоровья и тем самым все более будут приближаться к многофункциональным средствам удаленного контроля за состоянием пациентов.

Преимущества использования портативных средств самомониторинга, с точки зрения влияния на здоровье их владельцев, оценить довольно сложно. Однако, поскольку именно образ жизни является одним из основных факторов, определяющих сохранение здоровья<sup>1</sup>, потенциальный оздоровительный эффект широкого применения таких устройств может быть весьма значительным. Оценка экономических преимуществ массового использования электронных средств самомониторинга также является непростой задачей, поскольку основная часть экономии может быть реализована в весьма далекой перспективе. Вместе с тем, поскольку наибольшая часть расходов в современном здравоохранении приходится на лечение хронических заболеваний, а самым эффективным средством борьбы с такими заболеваниями, по данным многочисленных исследований, является обеспечение здорового образа жизни<sup>2</sup>, именно утверждение поведен-

<sup>1</sup> Этот вывод подтверждается не только многими исследованиями ВОЗ, но и работами российских ученых. Так, многолетние исследования научной школы специалистов по общественному здравоохранению, возглавляемой академиком Ю.П. Лисицыным, позволили заключить, что образ жизни человека на 50–55% определяет состояние его здоровья, что существенно выше по значимости по сравнению с любой другой группой факторов, включая экологические, биологические и медицинские [6, 7].

<sup>2</sup> Например, по данным одного из таких исследований, здоровый образ жизни может обеспечить снижение смертности от хронических заболеваний у женщин на 57%, а у мужчин на 72% [8].

ческих моделей, нацеленных на сохранение здоровья в качестве основного жизненного приоритета, имеет колоссальный потенциал для сокращения соответствующих затрат. Даже если только часть этого потенциала будет реализована на основе широкого распространения электронных средств самомониторинга, то и тогда их эффект можно уже считать достаточно существенным.

Характерно, что именно электронные средства мониторинга собственного здоровья стали наиболее массовой основой необычайно быстрого развития нового сегмента мирового рынка — так называемых домашних цифровых технологий в области здравоохранения, охватывающего продажи электронных устройств, услуг и программных приложений для потребителей, использующих их в медицинских или оздоровительных целях за пределами лечебных учреждений. Темпы развития этого рынка в последние годы измерялись двузначными, а по некоторым оценкам, и трехзначными величинами. Весьма динамичный его рост прогнозируется большинством специалистов и на ближайшую перспективу. Так, по оценкам американского маркетингового агентства «Трактика», общее число покупателей на этом мировом рынке должно возрасти с 14,3 млн чел. в 2014 г. до 78,5 млн в 2020. При этом совокупный объем продаж должен увеличиться более чем в четыре раза — с 3,4 до 13,7 млрд долл. (рис. 1).

**Цифровизация хранения, обмена и обработки медицинских данных**

Представляется наиболее значимым по своему потенциальному воздействию (на отрасль) направлением «цифровой революции». Именно новые возможности информационно-коммуникационных технологий в области централизации данных из многочисленных и удаленных друг от друга источников в специальных виртуальных хранилищах, а также необычайно быстрой обработки огромных массивов этих данных средствами специальной аналитики (big data advanced analytics) в значительной мере определяют и потенциальный эффект развития всех других направлений «цифровизации» здравоохранения. Именно это направление должно обеспечивать скоординированное «системное» функционирование удаленного контроля за состоянием пациентов, телемедицины и

электронных средств мониторинга собственного здоровья. Более того, можно вполне обоснованно утверждать, что только полномасштабное внедрение соответствующих систем по обработке так называемых больших данных, обеспеченных налаженными каналами поступления необходимой и достаточной первичной информации, способно привести к действительно революционным сдвигам в здравоохранении.

Клинические преимущества цифровизации хранения, передачи и обработки медицинских данных специалисты обычно связывают с революционным переходом от врачебной практики, основанной на профессиональных суждениях, к лечению, все более базирующемуся на ускоренной аналитике больших массивов объективной информации. Как отмечали в этой связи эксперты международной консалтинговой фирмы McKinsey, «принимая решения по лечению того или иного заболевания, врачи традиционно полагались на собственные суждения. Но в последние несколько лет наблюдается четкий сдвиг в сторону медицины, базирующейся на реальных данных, что предполагает систематический анализ клинических показаний и принятие решений на основе наилучшей доступной информации. Агрегирование отдельных информационных массивов на базе алгоритмов больших данных чаще всего и обеспечивает наиболее надежную информацию в этой области» [10]. Что касается потенциального экономического эффекта развития данного направления «цифровой революции», то в 2013 г. для США он оценивался в 300–450 млрд долл. общепромышленной экономии, что составляло около 12–17% национальных расходов на здравоохранение в 2011 г. [10].

**Неоднозначные результаты первых шагов цифровизации**

Существующие оценки клинических преимуществ и экономических выгод развития ключевых направлений «цифрового здравоохранения» чаще всего дают определенное представление лишь о потенциальном эффекте «цифровизации» отрасли. Однако анализ реальной практики нередко приводит к весьма противоречивым

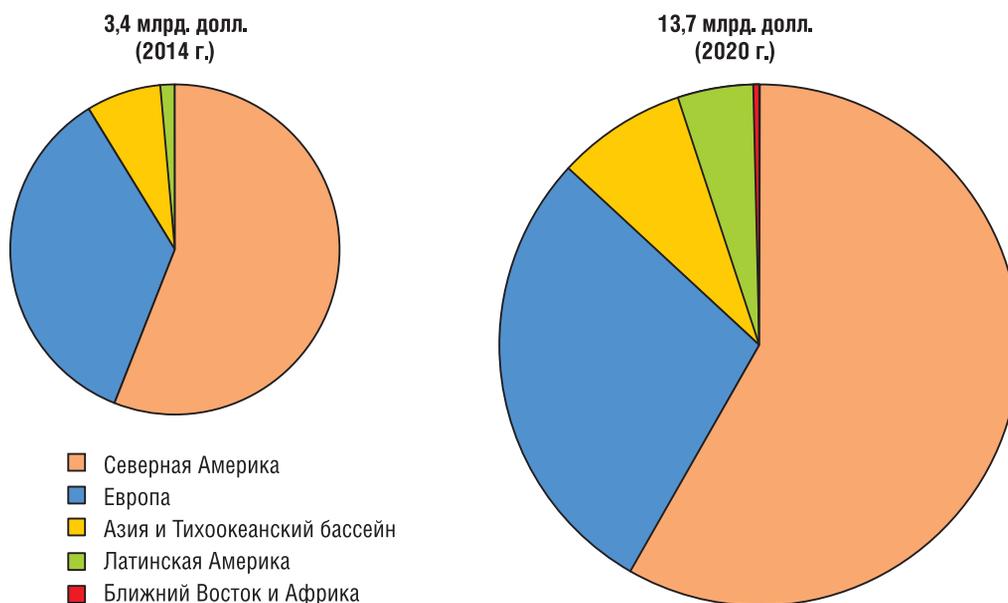


Рис. 1. Прогноз роста продаж в сегменте домашних цифровых технологий в области здравоохранения по регионам мира, 2014–2020 гг.

Примечание. Диаграммы построены на основе данных [9].

выводам. С одной стороны, в последние годы появились десятки научных работ, которые фокусируют внимание на открываемых «цифровой революцией» новых возможностях медицины, подчеркивают важнейшую роль информационно-коммуникационных технологий в назревшей трансформации сектора здравоохранения. С другой — все чаще слышны мнения скептиков, которые отмечают крайнюю ограниченность эмпирической базы, пригодной для заключений о действительных достижениях в данной области, и выдвигают на передний план явные ошибки, риски и трудности, возникающие в ходе развертывания «цифровой революции».

Самую активную критику во врачебных кругах вызывает, в частности, клиническая ценность индивидуальных портативных устройств, используемых для мониторинга состояния здоровья. Низкая применимость таких устройств в медицинских целях оказалась, например, лейтмотивом выступлений врачей ведущих клиник США на специальном симпозиуме, состоявшемся осенью 2015 г. в Бостоне. По оценке большинства выступавших, электронные трекеры не являются надежными средствами для врачебного контроля, а их возможности «относительно бесполезны», так как предоставляемые ими данные зачастую невозможно использовать в лечебной практике [11]. Все большую тревогу во врачебном сообществе вызывают последствия массированных рекламных кампаний производителей электронной техники, которые в последнее время нередко пытаются расширить покупательский интерес к своим фитнес-гаджетам путем приписывания им функциональных возможностей медицинских устройств. Ведь использование таких гаджетов в медицинских целях может оказаться просто опасным. «Помимо бессмысленной траты денег, — писал «Медицинский журнал Новой Англии» про подобные риски для хронических больных, — такие устройства могут нанести реальный вред. Если вы диабетик, а ваше устройство неправильно измеряет уровень глюкозы в крови, вы можете ввести себе больше инсулина, чем требуется, и заработать диабетический шок» [12].

На риски снижения качества диагностики и лечения указывает ряд специальных обследований среди пациентов, прибегавших к услугам телемедицины. Например, проведенное в Калифорнии сравнительное исследование почти 1,7 тыс. пациентов, использовавших сеансы телемедицины для лечения острых респираторных заболеваний, и выборки примерно из 64 тыс. больных острыми респираторными инфекциями, которые использовали традиционный формат врачебных посещений, обнаружило, что в рамках виртуальных контактов врачи назначали антибиотики широкого спектра действия на 30% чаще, чем при непосредственном общении [13]. Подобный более консервативный подход к лечению, обусловленный ограничениями в полученной диагностической информации о больных рамками телекоммуникационных контактов, по выводам авторов работы, не только привел к назначению более дорогостоящих препаратов, но и мог способствовать формированию резистентности к антибиотикам.

Целый ряд вопросов вызывают результаты даже такого, на первый взгляд очевидного по клинической полезности, направления, как удаленный контроль за состоянием хронических больных. Так, одно из недавних исследований, проведенных среди представителей этой целевой аудитории группой американских и канадских специалистов, показало, что вопреки ожидаемому от пациентов (со стороны разработчиков соответствующей техники) энтузиазму по поводу новых возможностей

электронных устройств они воспринимали их применение как достаточно напряженную работу, которая к тому же вызвала весьма серьезные (в том числе негативные) эмоции, что при состоянии их здоровья могло нести дополнительные риски. Более того, обследованные пациенты отмечали, что их лечащие врачи при принятии решений зачастую больше доверяют результатам традиционных лабораторных анализов, чем показаниям портативных устройств удаленного контроля [14].

Весьма серьезные проблемы стоят и на пути реализации потенциала продвинутых систем аналитики больших объемов медицинских данных. Как свидетельствуют многочисленные исследования состояния дел в этой области, проведенные в США, ряде европейских стран и Австралии [15–17], поиски решения таких проблем затрудняются сложным переплетением не только технологических или медицинских, но также экономических, организационно-институциональных и правовых факторов. Во-первых, даже внутри большинства медицинских организаций информация фрагментирована по сегментам, между которыми не существует налаженных потоков данных. Потоки административной и финансово-экономической информации обычно не пересекаются с движением клинических данных. Тем более не существует единых стандартов архитектуры информационных потоков в разных лечебных учреждениях, которые исторически выстраивали их по своему усмотрению. Во-вторых, одной из серьезнейших проблем для развития цифровизации медицинских данных оказалось решение правовых вопросов обеспечения конфиденциальности информации о пациентах, в особенности находящейся в их медицинских картах. При этом решение вопросов конфиденциальности осложняется не только законными интересами конечных потребителей медицинских услуг, но зачастую и нежеланием самих врачей делиться клинической информацией с коллегами в условиях жесткой конкуренции с ними за каждого пациента. В-третьих, превращение самих пациентов в важный источник медицинской информации (в рамках налаживания удаленного мониторинга их витальных функций) предполагает необходимость не только обеспечения соответствующей беспроводной инфраструктуры поступления таких данных, но и дополнительной их валидации в связи с повышенными рисками их искажения. Наконец, вероятно, самой сложной технической проблемой агрегирования и анализа медицинских данных являются огромные объемы неструктурированной клинической информации, включающей результаты лабораторных исследований, сканированной документации, фотоснимков, врачебных записей в медкартах и т.п. Но именно обработка таких массивов разнородной информации из многих источников и должна стать основой ожидаемого прорыва с точки зрения клинической результатов цифровизации.

Однако, время решения всего комплекса проблем, препятствующего эффективному использованию возможностей технологий «больших данных», еще явно не наступило даже в наиболее развитых в этой области странах мира. Как с разочарованием отмечалось в одном из недавних исследований ситуации в США, «угрожающее число медицинских организаций до сих пор даже не может понять, что для них означает аналитика больших данных, не говоря уже о том, чтобы наладить эффективный сбор и использование такой информации» [18].

Если рассматривать общую, весьма неоднозначную картину текущего развития «цифрового здравоохранения», то напрашивается вывод о том, что необычайно высокие ожидания в данной области пока не очень оправ-

дываются, во всяком случае в том, что касается клинического эффекта большинства цифровых новаций. Вместе с тем достаточно очевидным является колоссальный потенциал этих решений, который должен быть реализован в более или менее близкой перспективе. Несколько иная ситуация наблюдается в экономической среде здравоохранения. В этой области изменения, вызванные «цифровой революцией», более ощутимы и проявляются прежде всего в развитии новых бизнес-моделей.

### Формирование инновационных бизнес-моделей

Одним из наиболее значимых последствий «цифровой революции» в здравоохранении, безусловно, является формирование новых бизнес-моделей, способных существенно изменить экономический ландшафт отрасли. Не вдаваясь в детали дискуссии о дефинициях бизнес-моделей (БМ)<sup>3</sup>, отметим, что, по нашему мнению, это экономическое понятие подразумевает систему фундаментальных характеристик отдельного предприятия, определяющих всю логику его функционирования как коммерческой организации, включая, во-первых, способ создания и доставки целевой группе потребителей конкретного, ценного для них эффекта (или продукта); во-вторых, способ генерации прибыли (монетизации полезного эффекта); и, наконец, в-третьих, способ увязки обоих этих механизмов на основе имеющихся ресурсов и процессов.

#### Экспертная медицина

Основой здравоохранения большинства западных стран остается действующая еще с начала прошлого века бизнес-модель, нередко описываемая как многопрофильные центры экспертной медицины. Речь идет о медицинских комплексах (клиниках), объединяющих врачей общей практики и специалистов, которые «проводят диагностику и дают рекомендации по решению неструктурированных проблем», представленных непосредственно самими пациентами [20]. Лечебные рекомендации формулируются на основе экспертных суждений практикующих врачей, услуги которых оплачиваются в форме гонорара, рассчитываемого исходя из затраченного времени и почасовых ставок соответствующих специалистов. Существенным аспектом финансового компонента бизнес-моделей, действующих в здравоохранении многих западных стран, является также механизм включения в них непосредственных плательщиков за медицинские услуги, которыми в большинстве случаев выступают страховые компании (частные или с государственным участием) или специализированные государственные организации, получающие медицинские страховые взносы непосредственно от физических лиц или от работодателей (предприятий), обязанных по закону страховать своих сотрудников.

С течением времени накопление врачебного опыта позволило в рамках лечения целого ряда заболеваний

добиться определенной стандартизации медицинских процедур, обеспечивающих достаточно контролируемый клинический результат. На этой основе сформировалась еще одна бизнес-модель специализированных клиник и больниц, оплата услуг которых определяется исходя из ожидаемого результата лечения, гарантированного лечебным учреждением. Эта модель вполне мирно сосуществует с традиционной и, скорее, дополняет, чем подрывает ее. Дело в том, что для обращения в специализированную клинику обычно требуется предварительная постановка диагноза, которая в большинстве случаев осуществляется в многопрофильных медицинских центрах.

В самые последние годы процессы цифровизации оказались одной из главных движущих сил, обусловивших формирование новых бизнес-моделей, которые, по оценкам многих исследователей, имеют значительный «подрывной» потенциал (по отношению к доминирующим на сегодня моделям). И хотя, разумеется, не все инновационные БМ являются непосредственным продуктом «цифровой революции», она так или иначе откладывает на них свой отпечаток, заставляя их адаптироваться к новой «цифровой реальности». Главной характерной особенностью этих БМ является существенное повышение роли конечных потребителей, которые приобретают значительно большую свободу выбора «производителей услуг» в рамках новой системы взаимодействия ключевых участников здравоохранения. Поскольку процессы трансформации традиционных БМ в здравоохранении еще далеки от завершения, определение наиболее перспективных из них, способных стать новым отраслевым стандартом, представляется весьма неблагодарной задачей. Вместе с тем можно выделить несколько основных векторов, в русле которых развиваются изменения в данной области.

#### Uber-медицина

Одним из таких видимых векторов является перестройка системы доставки медицинских услуг целевому потребителю. Пожалуй, особенно ярко это проявилось в развитии бизнес-моделей так называемой uber-медицины (Uber medicine), по аналогии с наименованием получившей глобальную известность компании, которая сумела буквально за несколько лет «взорвать» рынки транспортных услуг (прежде всего рынки такси) в крупнейших мегаполисах мира именно за счет своей инновационной БМ<sup>4</sup>. Эти бизнес-модели ориентированы на существенное повышение доступности врачебной помощи (прежде всего в области первичного медицинского обслуживания, включая педиатрию) на основе интернет-механизмов, напрямую соединяющих заинтересованных потребителей медицинских услуг и врачей, готовых оказать такие услуги именно там и тогда, где и когда они востребованы. Как и в случае с транспортной Uber, важнейшей особенностью этой модели в области медицинских услуг стало использование специального мобильного приложения, обеспечившего техническую возможность любому потребителю с помощью собственного смартфона в течение нескольких секунд вызвать на дом или в офис врача опре-

<sup>3</sup> Несмотря на широкое и уже сравнительно давнее распространение понятия бизнес-модели в экономической и управленческой литературе, оно остается предметом оживленной дискуссии среди специалистов [19].

<sup>4</sup> Бизнес-модель Uber основана на использовании мобильного приложения для смартфонов, позволяющего вызвать такси, отследить его перемещение и оплатить заказ (с помощью кредитной карты, но иногда и наличными). Цены на услуги Uber гораздо ниже, чем у профессиональных таксистов, поскольку в качестве такси используются не машины компаний такси, а транспортные средства любого автовладельца, решившего заработать с помощью Uber вполне легальным извозом. Таким образом, клиенты Uber-такси получают возможность сэкономить немалые суммы на своих поездках, а водители-участники схемы Uber могут заработать в минимальных вложениями капитала, будучи просто владельцами автомобилей. Таким образом, основой успеха бизнес-модели Uber можно считать формирование сравнительно дешевого и удобного для всех участников способа массового соединения потребителей и «производителей» транспортных услуг.

деленного профиля и вполне обоснованно рассчитывать на его очень быстрый приезд (поскольку приложение определяет, кто из доступных врачей находится ближе всего). При этом потребитель может также провести оперативный выбор наилучшего из доступных в конкретный момент врачей, основываясь на отзывах (рейтингах) его предыдущих пациентов, а также заранее быть уверенным в фиксированной цене на получаемые медицинские услуги.

Для врачей и медсестер важными преимуществами участия в схемах работы компаний uber-медицины являются не только дополнительные заработки (помимо основного места работы), но и возможности гибкого рабочего графика. Как отмечалось в недавнем обзоре деятельности этих фирм Wall Street Journal, «развитие таких компаний стимулируется переплетением ряда трендов, включая возрастание интереса к так называемой экономике коллективного пользования, в рамках которой информационные технологии связывают производителей, обладающих незагруженными мощностями, с потребителями, заинтересованными в получении услуг, точно соответствующих их запросам. Многие врачи и медсестры, работающие в больницах, с удовольствием соглашаются на дополнительную работу в свободное от основной службы время» [21].

Хотя модель uber-медицины начала развиваться в США всего несколько лет назад, сегодня компании, использующие эту инновационную БМ, работают уже практически во всех мегаполисах страны. При этом многие вносят в бизнес-модель те или иные модификации, адаптируя ее к специфике своих возможностей и запросов основных пациентов. Действующая с 2014 г. в Лос-Анджелесе и Сан-Франциско фирма Heal, например, гарантирует появление врача в доме в течение 60 мин (после регистрации его вызова на сайте компании) за жестко фиксированную плату 99 долл. Для ускорения логистики домашних посещений компания обеспечивает каждого врача ассистентом, который выполняет роль водителя и помогает донести портативную аппаратуру. В Нью-Йорке фирма Pager использует транспортные услуги самой Uber, обеспечивающую быструю доставку врачей и медсестер для домашних визитов стоимостью 200 долл. В Миннеаполисе фирма RetraceHealth сразу после регистрации вызова пациента организует его видеоконсультацию с опытной медсестрой, находящейся в офисе компании (50 долл.) и лишь затем в случае необходимости направляет к нему врача из своего пула свободных в это время специалистов (еще 150 долл.). В Атланте фирма MedZed, наоборот, сначала направляет медсестру к пациенту на дом, чтобы та провела предварительные диагностические процедуры. Затем она, используя свой персональный ноутбук для видеоконференций, связывается с необходимым врачом, и уже последний определяет план дальнейшего дистанционного лечения [21].

Постепенно начинается проникновение бизнес-модели uber-медицины и в страны Европы, хотя из-за широко-

го распространения в них государственной системы медицинского обслуживания процесс этот идет пока очень медленно. Так, в Португалии первые шаги делает медицинская фирма Кнок, которая создала в Лиссабоне пул более чем из 50 врачей, готовых оперативно выезжать по вызову больных, регистрирующихся на сайте компании. Стоимость их услуг составляет от 60 до 100 евро за визит, а оплата обеспечивается через специальное мобильное приложение. При этом пациенты могут ознакомиться на сайте с отзывами других больных о каждом враче, предлагающих свои услуги [22]. В Великобритании даже весьма консервативное министерство здравоохранения признало перспективность развития целого ряда элементов модели Uber и одобрила специальный грант в 500 тыс. фунтов стерлингов на финансирование разработки мобильного приложения HealthCab, которое должно обеспечить оптимизацию транспортировки отдельных, особенно чувствительных к времени перевозки групп пациентов [23].

Весьма характерно, что в отличие от других отраслей (прежде всего такси), где распространение бизнес-модели Uber вызывает открытое неприятие (а иногда организованные бурные протесты и судебные иски) со стороны компаний-«старожилов», действующих на основе традиционных БМ, в здравоохранении никакие признаки подобного отношения (во всяком случае пока) не наблюдается. Напротив, компании uber-медицины становятся все более привлекательным объектом венчурного инвестирования и создания разного рода партнерств для больничных сетей, которые рассматривают возрождающееся на этой основе домашнее медицинское обслуживание как средство сокращения числа ненужных посещений отделений экстренной помощи и случаев повторной госпитализации пациентов<sup>5</sup>.

#### Бизнес-модели розничных клиник

К числу инновационных БМ, связанных с перестройкой доставки медицинских услуг потребителю, безусловно, относятся и бизнес-модели розничных клиник (retail clinics). Такие лечебные учреждения, изначально ориентированные на оказание первичной медицинской помощи и укомплектованные в основном средним и младшим медицинским персоналом, начали располагаться в крупных сетевых аптеках и супермаркетах. Главными характеристиками бизнес-модели розничных клиник стало обеспечение максимально удобного для потребителей доступа с точки зрения логистики и времени приема, а главное, жестко фиксированных тарифов и невысоких цен на оказываемые медицинские услуги (на 30–40% ниже, чем в традиционных медицинских центрах [24]). Подобная ценовая политика поддерживалась за счет ограничения набора предлагаемых медицинских услуг достаточно узким перечнем, связанным со стандартизованными процедурами профилактики и лечения массовых нетяжелых заболеваний<sup>6</sup>, которые вполне по силам среднему медицинскому персоналу (уровень вознаграждения которого, по сравнению с врачами, существенно ниже).

<sup>5</sup> Так, крупнейшая больничная сеть в американском штате Колорадо Centura Health заключила партнерское соглашение с инновационной медицинской фирмой True North Health Navigation, которая предлагает «неострым» пациентам домашнее медицинское обслуживание в качестве альтернативы дорогостоящему приезду бригады скорой помощи из клиники. Теперь, когда диспетчер службы 911 определяет, что звонок не связан с необходимостью неотложной помощи, к пациенту выезжает команда True North вместе с парамедиками пожарной службы (их обязательный выезд предписан правилами неотложной помощи США). После того как парамедики подтверждают, что жизни пациента ничего не угрожает, ему предлагают выбор между медицинским обслуживанием на месте силами команды True North (стоимостью от 200 до 300 долл.) и доставкой в отделение неотложной помощи, что обходится обычно в сумму не менее 3000 долл. [21]. Разумеется, пациенты могут вызвать врачей True North и минуя службу 911, просто зарегистрировав вызов на сайте компании с помощью персонального компьютера или смартфона.

<sup>6</sup> Этот перечень обычно включает вакцинацию от гриппа, а также процедуры, связанные с лечением острых респираторных инфекций, синусита, ушных инфекций, конъюнктивита, инфекций мочевого пузыря.

Розничные клиники появились на американском рынке в самом начале 2000-х гг. и особенно быстро начали развиваться буквально через пять лет. В период 2006–2015 гг. их общее число в США выросло примерно с 200 до более 1860, то есть более чем в 9 раз (!) [24, 25]. Весьма впечатляющая динамика распространения бизнес-модели розничных клиник обусловлена весьма удачно выбранной ориентацией на массового городского потребителя со сравнительно невысоким уровнем дохода, которого привлекают демократичные и предсказуемые цены, а также возможность посетить лечебное учреждение в удобное для себя (а не для врача) время без предварительной записи, совместив этот визит с приобретением лекарственных препаратов в соседней аптеке или со своим регулярным походом в супермаркет.

Особенно успешно розничные клиники начали привлекать молодежь, значительная часть которой еще не обзавелась «своим» доктором (в США к этой категории относится более 1/3 молодых людей от 20 до 30 лет). Во-многом именно на молодежную аудиторию, не довольную традиционной медицинской практикой, стали настраивать свою бизнес-модель и розничные клиники, стремящиеся обеспечить единый набор, уровень и даже стиль услуг для целевого потребителя. «Так же как любой человек, заходящий в Starbucks в Сиэтле или Бостоне, рассчитывает получить идентичный кофе латте, — отмечалось в этой связи в одном из американских исследований розничных клиник, — так и пациент, заходящий в клинику TakeCare в Сиэтле или Бостоне, ожидает получить идентичную медицинскую помощь» [26].

Ведущими игроками в развертывании розничных клиник в США с самого начала были крупнейшие аптечные сети CVS, Walgreens, Kroger, а затем в конкурентную борьбу включились лидеры сетевых супермаркетов — Wal-Mart и Target. До последнего времени эта пятерка занимала доминирующие позиции по числу созданных

розничных клиник в стране, контролируя более 90% всей сети таких лечебных учреждений в национальном масштабе (рис. 2).

Несмотря на достаточно быстрые темпы развития розничных клиник в США, они пока занимают весьма скромные позиции в национальном здравоохранении, во всяком случае, с точки зрения количественных показателей посещаемости. По оценкам специалистов, в 2013 г. на розничные клиники приходилось всего около 6 млн посещений в лечебных целях, что составило только около 5% общего числа таких посещений медицинских учреждений в стране [27]. Более того, в 2009–2010 гг. процесс развертывания розничных клиник существенно замедлился, и многие критики заговорили об исчерпании потенциала этой инновационной модели, прежде всего из-за ограниченности набора предоставляемых медицинских услуг и отсутствия штатного врачебного персонала. Однако уже очень скоро ситуация начала меняться в лучшую сторону. Мощный импульс развитию розничных клиник придали новая политика их альянсов с ведущими больничными сетями, соответствующее расширение набора и усложнение услуг (включая, в частности, обслуживание хронических больных) и параллельное активное привлечение квалифицированных врачей к приему пациентов на основе телемедицины. Именно развитие инфраструктуры телемедицины, по мнению многих специалистов, должно позволить бизнес-модели розничных клиник в недалеком будущем сыграть одну из главных ролей в радикальной перестройке сектора здравоохранения, по крайней мере в США. Ставшее очевидным в самое последнее время стремление крупнейших больничных сетей страны освоить эту бизнес-модель (через альянсы с уже работающими розничными клиниками или самостоятельно) говорит только в пользу осуществимости таких прогнозов. Весьма характерным представляется и постепенное проникновение бизнес-модели розничных клиник в другие страны с

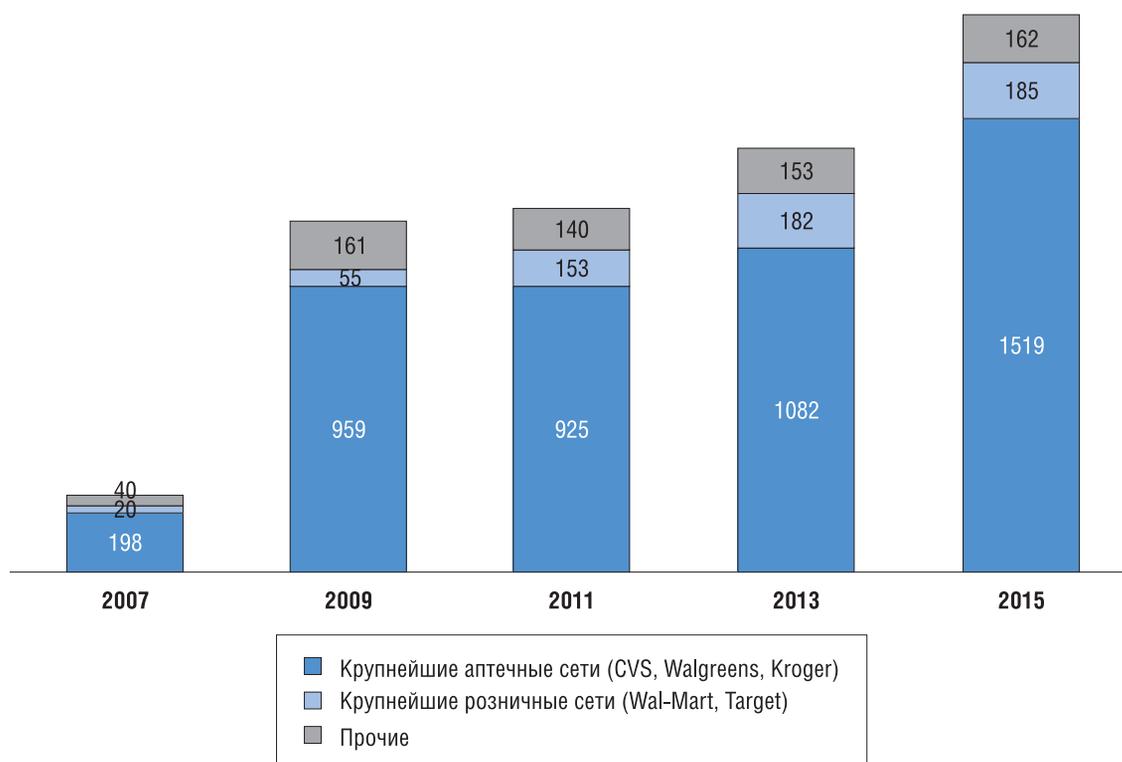


Рис. 2. Количество розничных клиник на начало года по типам компаний-владельцев в США, 2007–2015 гг.

Примечание. Диаграмма построена на основе данных [25].

весьма различными по уровню развития системами здравоохранения, в том числе в Великобританию, Канаду, Австралию, ряд стран Африки и Ближнего Востока [28].

### Абонементная медицина

Другим ключевым направлением трансформации бизнес-моделей в современном здравоохранении выступает перестройка механизма генерации прибыли на основе внедрения нетрадиционных способов монетизации полезного эффекта оказываемых услуг. В отличие от доминировавшей многие десятилетия модели страховой медицины, в рамках которой основными плательщиками за медицинские услуги выступают страховые компании или фонды, все более заметное место приобретают бизнес-модели абонементной медицины (*retainer medicine*), обеспечивающие механизм прямой оплаты услуг потребителями (пациентами). Сами по себе модели абонементного обслуживания, а тем более непосредственное взаимодействие пациентов и врачей по поводу оплаты услуг, разумеется, не являются чем-то новым для медицинской практики. Однако до недавнего времени такой механизм в большинстве стран мира развивался, скорее, в рамках довольно узкой ниши взаимоотношений самых состоятельных пациентов с самыми дорогими клиниками (или врачами). Такая ниша, обслуживаемая элитными врачебными практиками, существует и в настоящее время. Но в последние годы разновидности данной бизнес-модели стали довольно активно внедряться как раз в целях обеспечения более демократичных цен на медицинские услуги и существенного расширения на этой основе притока потребителей.

В массе таких бизнес-моделей недорогой абонементной или так называемой «консьерж»-медицины обычно выделяют два основных типа. Первый тип, нередко именуемый прямым или гонорарным обслуживанием (*direct care / fee-for-care*), предполагает регулярные выплаты (ежегодно, ежеквартально или ежемесячно) пациентом фиксированной суммы вознаграждения непосредственно лечебному учреждению (врачу). Эти выплаты покрывают обычно большую часть услуг, предоставляемых данной медицинской организацией, за исключением вакцинаций, рентгеновских обследований и лабораторных анализов, которые, как правило, оплачиваются отдельно. Важными компонентами контрактов такого типа обычно также являются гарантии приема пациента у «своего» индивидуального врача в день обращения, нелимитированное количество врачебных посещений в течение всего оплаченного периода, возможности без ограничений обращаться за медицинскими консультациями посредством электронных средств коммуникаций, включая использование как обычной мобильной связи (звонки и текстовые сообщения), так и специальных видеосеансов телемедицины.

Второй основной тип бизнес-моделей абонементной медицины, часто называемый гибридным, также предполагает регулярные выплаты со стороны пациентов, но эти суммы покрывают только те услуги, которые не предусмотрены страховыми программами. Иными словами, медицинские организации в данном случае получают выплаты из двух основных источников — непосредственно от самих пациентов и от страховых компаний (в качестве компенсации за оказанные медицинские услуги, перечень которых зафиксирован в соответствующих страховых программах).

Ключевым преимуществом бизнес-модели абонементной медицины для потребителей стало сочетание дополнительного набора услуг (которые явно выходят за

рамки стандартных страховых программ), включая возможности увеличения времени непосредственного общения с индивидуальным врачом, с весьма демократичными ценами. Для медицинских организаций (врачей), переходящих на использование бизнес-модели абонементной медицины, ее главными преимуществами являются, во-первых, гарантии оплаты всех оказываемых медицинских услуг (ведь в рамках механизмов оплаты по страховым программам немалый объем оказанных услуг на практике по тем или иным причинам оказывается в итоге неоплаченным страховыми компаниями), а во-вторых, высвобождение значительного времени, необходимого для оформления документации, требуемой страховщиками в рамках возмещения оказанных медицинских услуг (например в США, по некоторым оценкам, такое оформление занимает ежедневно в среднем не менее 1 ч рабочего времени врача и до 7 ч у его административных помощников [29]). Отказ от трудоемкой бумажной работы, связанной с оформлением страховых счетов, позволяет врачам в США экономить до 40% накладных расходов и тем самым во многом обеспечивать весьма демократичные цены на свои услуги в рамках бизнес-модели абонементной медицины [30]. Весьма характерно, что одним из наиболее мощных драйверов перехода на бизнес-модель абонементной медицины в последнее время все чаще является и стремление потребителей воспользоваться «цифровыми» медицинскими услугами, которые практически невозможно оплатить в рамках стандартных страховых программ. В итоге «подрывной» эффект бизнес-моделей абонементной медицины заключается в их растущих возможностях по вытеснению традиционных БМ за счет более низких цен и дополнительного набора услуг, ориентированных на современного «цифрового» потребителя.

Одним из типичных примеров успешного применения этой модели в США является динамичный рост компании из Сиэтла Qliance Medical Management, которая за пять лет работы на рынке этой городской агломерации приобрела более 5 тыс. пациентов и явно трансформируется в медицинскую организацию национального масштаба. Qliance не принимает страховые полисы, а пациенты должны ежемесячно вносить «членские взносы» (от 60 до 120 долл. в зависимости от возраста) в качестве прямой платы за неограниченное пользование предоставляемыми компанией услугами. Даже с учетом сохраняющихся выплат по стандартной страховке на случай срочной госпитализации услуги Qliance обходятся средней семье из четырех человек на 50% дешевле, чем традиционная страховая медицина. «В дополнение к тому, что услуги первичной медицинской помощи оказываются более доступными, — описывал преимущества подхода Qliance один из наблюдателей, — никаких ресурсов и времени не тратится на то, чтобы заставить страховщиков возместить расходы на рутинные процедуры, такие как лабораторные исследования, анализы крови, прививки от гриппа и рентгенография, которые нередко съедают до 25% доходов медицинской практики. Вместе с тем врачи доступны для консультаций по телефону, электронной почте и видеочатам без необходимости беспокоиться о растущих гонорарах, экономя драгоценное время и деньги пациентов» [31].

Именно очевидные преимущества бизнес-модели абонементной медицины обеспечили ее довольно быстрое распространение в последние годы не только в США, но и в целом ряде стран мира, включая Канаду, Австралию, Великобританию, страны континентальной Европы, Латинской Америки, а также Сингапур, Израиль, Индию. При этом если сначала модель недо-

рогой абонементной медицины была сориентирована в первую очередь на сегмент рынка незастрахованных пациентов, то впоследствии она начала захватывать все более широкие массы потребителей из числа застрахованных в рамках национальных программ медицинского страхования.

Вместе с тем не стоит и переоценивать сегодняшнюю значимость абонементной медицины, которая, судя по всему, еще находится только в начальной фазе своего развития на рынках медицинских услуг. Даже в США, где абонементная медицина получила наибольшее распространение, специальное исследование 2013 г. показало, что в масштабах страны только около 6% всех врачей работали в рамках той или иной разновидности данной модели (на 4% больше, чем в 2012 г.) [32]. Авторы другого исследования, охватившего более 13,5 тыс. американских врачей, пришли к выводу о том, что 9,6% владельцев врачебных практик планировали перейти на бизнес-модель абонементной медицины в течение 1–3 лет [33]. Большинство экспертов признает, что преимущества абонементной медицины, скорей всего, ограничиваются сегментами первичного медицинского обслуживания и услуг врачей общей практики. Что касается услуг врачей-специалистов и тем более больничных услуг, связанных с использованием дорогостоящего оборудования, то в этих случаях требуемые суммы расходов явно выходят за рамки возможностей большинства потенциальных пациентов. В таких условиях очевидным выходом являются гибридные модели, сочетающие страховые и прямые способы оплаты медицинских услуг. Как писали в этой связи эксперты международной консалтинговой компании Accenture, «подобные смешанные модели позволяют пациентам, сохраняя действующую медицинскую страховку для неотложных состояний и случаев срочной госпитализации, дополнить ее механизмом прямой оплаты, обеспечивающим доступ к услугам, соответствующим их современному образу жизни, включая, например, возможности дистанционного электронного доступа к персональной медицинской информации или резервирования врачебного посещения с помощью смартфона» [34].

#### Сетевые бизнес-модели медицинского обслуживания

Наконец, еще одним важнейшим направлением нововведений в бизнес-практике медицинских учреждений, уже продемонстрировавших свою значимость в формировании инновационных БМ, является общая реорганизация механизма взаимодействия с потребителями медицинских услуг. К числу самых ярких проявлений такой перестройки можно отнести получающие все более широкое распространение сетевые бизнес-модели медицинского обслуживания. К настоящему времени наиболее развитой версией подобных БМ стала модель «медицинского дома» (medical home). Ее главной характеристикой является обеспечение координации работы различных организаций системы здравоохранения, участвующих в оказании медицинских услуг для каждого конкретного потребителя (пациента) на протяжении всей его жизни, путем выстраивания сетевых структур, которые имеют выделенные координационные центры. Вообще подобный подход вряд ли можно рассматривать в качестве серьезной новации, в особенности для стран с государственными системами здравоохранения. Однако в странах с децентрализованной системой медицинского обслуживания формирование таких сетевых структур действительно является сравнительно новым феноменом.

Само понятие «медицинский дом» было введено еще в 1967 г. Американской академией педиатрии и долгое время использовалось для описания способа организации первичного обслуживания в семейной медицине. Но с течением времени концепция получила значительное развитие и приобрела универсальный характер в качестве особой модели оказания медицинских услуг, в рамках которой любой пациент должен иметь индивидуального врача, ответственного за первичный прием и координацию работы представителей различных организаций здравоохранения (включая врачей-специалистов, медсестер, специалистов диагностических лабораторий, диетологов, фармакологов и пр.), которые занимаются обеспечением медицинских нужд данного пациента на протяжении его жизни по мере возникновения необходимости. Важнейшей составляющей концепции «медицинского дома» является также обеспечение постоянного обмена оцифрованной медицинской информацией между всеми участниками оказания услуг, без которого любые попытки координации становятся очевидно малоэффективными. В условиях всевозрастающей мобильности населения обмен информацией становится неотъемлемым компонентом функционирования подобных учреждений.

В США модель «медицинского дома» получила значительную поддержку как врачебного сообщества, так и на правительственном уровне. В 2007 г. целый ряд американских врачебных ассоциаций сформулировал единый набор качественных характеристик (принципов), определяющих принадлежность того или иного партнерства медицинских организаций к категории «медицинского дома», которые, в частности, включают наличие персонального врача, ориентацию на обеспечение здоровья человека в целом, координацию и интеграцию медицинских услуг, меры обеспечения контроля качества и безопасности, расширение доступности медицинских услуг, перестройку системы оплаты услуг [35]. К ноябрю 2014 г. в целом по стране уже более 8 тыс. «медицинских домов» получили сертификацию Национальной комиссии по оценке качества США [36]. При этом 43 штата к этому времени уже приняли программы или политики в области поддержки внедрения модели «медицинского дома» на своих территориях.

Одним из важнейших импульсов к распространению данной модели в США стали финансовые рычаги, сформированные в рамках продолжающейся реформы американского здравоохранения на основе концепции так называемой ответственной лечебной организации (accountable care organization). По существу, данная концепция построена на тех же принципах, что и модель «медицинского дома», с той лишь разницей, что она включает в сетевую структуру больничные сети и фокусируется на финансовых результатах, достигаемых посредством координации медицинских услуг. Создание подобных структур должно укрепить экономическую базу для сетевых партнерств, соответствующих принципам «медицинского дома», создавая дополнительные финансовые стимулы для кооперации участников таких партнерств путем формирования механизма сохранения (и раздела между участниками) части средств, сэкономленных за счет более рационального скоординированного подхода к лечению пациентов (отказа от ненужного дублирования дорогостоящих лабораторных исследований, процедур и т.п.). Разумеется, воспользоваться новыми финансовыми стимулами поспешили многие медицинские учреждения, и в течение 2011–2015 гг. в США было зарегистрировано

не менее 744 «ответственных лечебных организаций», охватывающих своими услугами, по некоторым оценкам, около 23,5 млн чел. [37].

Определенное развитие концепция сетевых моделей получила и в системах здравоохранения целого ряда западных стран за пределами североамериканского континента. Специальное исследование с участием взрослых пациентов, проведенное в 11 странах Организации экономического сотрудничества и развития в 2011 г. (помимо США охватившее Великобританию, Францию, Германию, Нидерланды, Швецию, Норвегию, Швейцарию, Канаду, Австралию, Новую Зеландию), показало, что в среднем около 54% опрошенных считают, что пользуются услугами медицинских организаций, отвечающих критериям модели «медицинского дома», включая наличие персонального врача общей практики, обеспечивающего ту или иную степень координации требуемых услуг врачей-специалистов [38].

Однако такие весьма впечатляющие масштабы охвата потребителей (пациентов) вряд ли стоит рассматривать в качестве надежного показателя уровня распространения сетевых бизнес-моделей в здравоохранении. Дело в том, что, несмотря на достаточно очевидный позитивный потенциал, заложенный в принципах концепции «медицинского дома», и весьма активную поддержку этих принципов со стороны врачебного сообщества, правительства и зачастую даже страховых компаний (видящих в ней инструмент сокращения нерациональных медицинских расходов), данная концепция пока еще не трансформировалась в стандартную рабочую бизнес-модель именно с точки зрения ее бизнес-составляющей. Например, в США сам факт введения правительством специальных мер по финансовому стимулированию развития сетевых моделей в рамках реформы национального здравоохранения говорит о том, что проблема монетизации полезного эффекта таких моделей для основных участников пока еще не решена.

Даже поверхностный обзор новых бизнес-моделей, складывающихся на основе «цифровой революции» в здравоохранении, приводит к выводу о том, что они пока еще не аккумулировали достаточный потенциал для реального «подрыва» традиционных отраслевых БМ. Их наиболее очевидные достижения пока ограничиваются в основном весьма узким сегментом первичного медицинского обслуживания, а их финансовые характеристики имеют в лучшем случае нестабильный характер. Несмотря на развернувшийся настоящий инвестиционный бум в сфере «цифровой медицины» (в США объем инвестиций в этой области вырос в течение 2010–2014 гг. на 400% и превысил 4 млрд долл. [39]), подавляющее большинство цифровых новаций пока не смогли продемонстрировать сколько-нибудь серьезные успехи с точки зрения обеспечения устойчивого денежного потока.

### Цифровизация в российских условиях

Влияние «цифровой революции» на российское здравоохранение, вот уже несколько лет пребывающее в процессе серьезного реформирования, тоже далеко неоднозначно. С одной стороны, организаторы реформы в отрасли с самого начала видели в информатизации один из главных рычагов предполагаемых изменений. На реализацию мероприятий в этой сфере были выделены немалые финансовые средства, и ряда серьезных сдвигов действительно удалось добиться. К 2013 г. в результате выполнения государственной программы модернизации

здравоохранения была создана материальная основа для массовой информатизации медицинских организаций. Как отмечалось в обзоре ситуации в данной области за 2014 г., «в рамках создания Единой государственной информационной системы здравоохранения сделан первый шаг к всеобщей цифровизации отрасли: заложены основы инфраструктуры для развертывания информационных систем, множество медицинских организаций получили защищенные сети и доступ к высокоскоростному Интернету, обзавелись автоматизированными рабочими местами для сотрудников» [40].

К концу 2015 г. в масштабах страны было автоматизировано уже около 58% рабочих мест медицинского персонала, обеспечено ведение в электронном виде около 54 млн медкарт [41]. В ряде регионов успешно функционируют сервис электронной записи к врачу, внедрены системы льготного лекарственного обеспечения и лабораторные информационные системы. Особенно продвинулся по пути информатизации медицинских учреждений столичный регион. По сравнению с 2011 г., когда в Москве была запущена программа по внедрению Единой медицинской информационно-аналитической системы (ЕМИАС), ситуация в данной области существенно изменилась. К осени 2015 г. система была внедрена в 660 медучреждениях, причем в ней уже была зарегистрирована практически половина жителей города (более 7,9 млн пациентов). Важными результатами внедрения системы для пациентов стало существенное сокращение времени ожидания приема у врача по самозаписи (у терапевта в среднем с 1,7 до 1 дня, у отоларинголога — с 4,6 до 2,5 дня, у офтальмолога — с 5,4 до 2,6 дня), а также массовый переход на оформление электронных рецептов (к осени 2015 г. последних уже было оформлено примерно 11 млн), обеспечивший возможность врачам не допускать возможных конфликты выписываемых препаратов с другими назначениями и даже отслеживать наличие лекарств в близлежащих аптеках. По данным Департамента информационных технологий (ИТ) г. Москвы на середину 2015 г., переход на электронные рецепты, а также внедрение других сервисов в рамках ЕМИАС позволяет экономить до 1,7 млн часов в год, что составляет время работы 14 поликлиник за аналогичный период [42].

Однако, как и во многих других областях, уровень развития информатизации здравоохранения в московском мегаполисе вовсе не отражает общую, куда более печальную картину в большинстве других регионов страны. В первую очередь, это отражается в объемах финансирования, которые выделяются на информатизацию медицинских учреждений. Если в 2014 г. затраты на ИТ в здравоохранении Москвы достигали 3,5 млрд руб., то аналогичные затраты в Московской области составили всего 272 млн руб., в Новосибирской области — 200 млн руб., Брянской области — 180 млн руб., Санкт-Петербурге — 113 млн руб., Красноярском крае — 107 млн руб., а в других субъектах федерации — менее 100 млн руб. [43]. Как отмечалось в недавнем обзоре мнений экспертов о текущем положении дел с информатизацией медучреждений в регионах, «ключевая проблема информатизации здравоохранения сегодня — финансовая. Во многих регионах не хватает средств даже на поддержку созданных информационных систем» [44]. По данным последних ежегодных опросов специалистов из 69 российских регионов и 34 муниципальных образований, именно недостаточное и неравномерное финансирование ИТ-программ расценивается в качестве наиболее серьезного фактора, сдерживающего

информатизацию в медицинских учреждениях [45]. В результате, если в крупных федеральных центрах уровень информатизации медицинских организаций может достигать 80–90%, то во многих субъектах РФ внедрение информационных систем в здравоохранении еще по существу и не начиналось.

Немалые проблемы на пути цифровизации российского здравоохранения, безусловно, создают недостатки действующей нормативной базы. Отсутствие утвержденных на государственном уровне единых стандартов и правил оказания современных услуг в области телемедицины, дистанционного контроля за состоянием пациентов, использования портативных средств мониторинга здоровья существенно тормозит развитие всех этих направлений «цифровой революции». Но даже в таких условиях растет число успешных проектов в разных регионах страны. Так, российские основатели компании Medesk начали разработку «облачной» медицинской информационной системы еще в 2008 г., а к 2015 г. этой платформой пользовались уже более 1 тыс. врачей и административных работников (в основном частных клиник), обслуживающих более 120 тыс. пациентов. Компания оказала уже более 500 тыс. услуг по дистанционной диагностике, а дорожная клиническая больница РЖД в Чите только в 2013 г. с помощью телемедицинского модуля Medesk сумела заработать более 27 млн руб. Томская компания INTEC разработала программно-аппаратный комплекс, включающий портативное устройство мониторинга ЭКГ, мобильное приложение, работающее с этим устройством, а также «облачный» сервис, собирающий данные обо всех пациентах-абонентах и формирующий отчеты для медицинских работников. Компания разработала уже 8 различных портативных гаджетов для удаленной медицинской диагностики — 4 для России и 4 для зарубежных заказчиков. Еще одна весьма успешная российская компания Data Matrix занимается разработкой «облачного» программного обеспечения в области сбора и обработки данных клинических исследований. В активе компании уже 40 реализованных проектов, а рост ее выручки в млн руб. измеряется двузначными показателями [46].

На фоне всех этих успешных примеров из практики нарождающегося инновационного медицинского бизнеса, список которых можно было бы легко продолжить<sup>7</sup>, особенно тяжелое впечатление производят очевидные провалы в нормотворчестве, когда бюрократические барьеры долгое время не позволяют легализовать даже электронный рецепт (который после формирования все равно приходится распечатывать), а также многолетние (уже более 15 лет) безуспешные попытки узаконить телемедицину. Неслучайно многие российские специалисты связывают возможность реализации преимуществ «цифровой медицины» в России именно с принятием «правильных» законов (наряду с увеличением финансирования). Как отмечал, например, Д. Данин, исполнительный директор одной из успешных российских компаний MedAboutMe, работающей на рынке мобильных медицинских устройств, «важно понимать,

куда движется государство, какие законы будут приняты, так как пока нет подготовленной законодательной базы для телемедицины и доставки лекарств, а все это часть большой автоматизированной системы по оказанию медицинской помощи. Когда будут приняты соответствующие законы, государственные органы начнут выделять достаточное количество средств для развития ИТ в здравоохранении, у нас, как и на Западе, начнется эра цифровой медицины» [46].

Представляется, однако, что наиболее сложные проблемы лежат гораздо глубже. Самым серьезным препятствием в деле развития информатизации видится отсутствие у самих государственных медучреждений (по-прежнему составляющих подавляющее большинство действенных экономических стимулов внедрять цифровые инновации. Хотя теперь и в государственных медицинских организациях главный врач все более превращается в наемного управляющего государственными активами, а изменяющиеся механизмы финансирования вроде бы должны обеспечивать мотивацию к повышению качества управления и эффективности (медучреждения, в частности, могут теперь распоряжаться полученными доходами от платных услуг), на деле этого не происходит. Трудно не согласиться с выводом главного специалиста ЦНИИ ОИЗ Минздрава России А. Алмазова о том, что «на практике положение главного врача пока мало зависит от качества управления вверенной ему организацией, внебюджетные доходы (как официальные, так и неофициальные) значительно превышают потенциальный эффект оптимизации управления, сводя на нет основную мотивацию к информатизации «...» Всем проще, чтобы все оставалось, как сейчас. Прозрачность опасна, эффективность не нужна» [40]. В таких условиях цифровизация сама по себе без системных изменений в отрасли вряд ли способна серьезно переломить ситуацию к лучшему. Реальных успехов «цифровой революции» в российском здравоохранении, как и появления на их основе новых эффективных бизнес-моделей, можно ожидать только в случае реальной трансформации медицинских организаций в автономные хозяйствующие субъекты, действующие в конкурентной среде и заинтересованные в повышении эффективности и качества оказываемых услуг для своих пациентов.

## Заключение

В целом, проведенный анализ показывает, что на сегодняшний день глобальная «цифровая революция» в здравоохранении пока не принесла тех фундаментальных изменений в отрасли, которые от нее ждали как в области обеспечения нового качества медицинской помощи, так и с точки зрения существенного повышения доступности и экономической эффективности медицинских услуг. Это, однако, не означает, что цифровизация оказалась мифом или, хуже того, очередным «мыльным пузырем», ловушкой для инвесторов. Просто вполне понятная эйфория первых шагов «цифровой революции» в настоящее время сменяется куда более трезвым анализом возможностей и условий реализации того действительно колоссального потенциала, который заложен в информационной трансформации здравоохранения. Все более приходит понимание особенностей инновационных процессов в отрасли и, главное, существенных барьеров, затрудняющих внедрение нововведений из-за сложного переплетения социальных, экономических, этических, психологических

<sup>7</sup> В последние три года в России наблюдается настоящий бум создания инновационных медицинских компаний, стремящихся разрабатывать программное обеспечение и цифровые медицинские устройства с прицелом как на российский, так и на глобальный рынок. По прогнозам американского института стратегических исследований Brookings, к 2017 г. объем российского рынка мобильных медицинских устройств будет составлять примерно 800 млн долл. [47].

и прочих факторов<sup>8</sup>. С учетом всей этой отраслевой специфики все более становится очевидным, что «цифровая революция» в здравоохранении не может быть быстрым переворотом, а будет проходить несколько этапов и займет, скорее всего, не один десяток лет.

### Источник финансирования

Статья подготовлена в ходе проведения работы по Программе фундаментальных исследований Националь-

ного исследовательского университета «Высшая школа экономики» (НИУ ВШЭ) и с использованием средств субсидии в рамках государственной поддержки ведущих университетов Российской Федерации «5-100».

### Конфликт интересов

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

### ЛИТЕРАТУРА

- Biesdorf S, Niedermann F. Healthcare's Digital Future. McKinsey Quarterly [updated 2014 Jul; cited 2016 May 3]. Available from: [http://www.mckinsey.com/insights/health\\_systems\\_and\\_services/healthcares\\_digital\\_future](http://www.mckinsey.com/insights/health_systems_and_services/healthcares_digital_future).
- Health wearables: Early days*. Dallas (Texas); 2014. 11 p.
- Castro D. Thirty (plus) ways the Internet of things is changing the world [updated 2013; cited 2016 May 3]. Available from: <http://www.wfs.org/blogs/daniel-castro/thirty-plus-ways-internet-things-changing-world>.
- Roman D, Conlee K. *The digital revolution comes to US healthcare: technology, incentives align to shake up the status quo*. NY: Goldman Sachs; 2015. 41 p.
- PSFK. *The future of wearable tech: key trends driving the form and function of personal devices*. NY; 2014. 186 p.
- Лисицын Ю.П. *Здравоохранение в XX веке: монография*. — М.: Медицина; 2002. — 216 с. [Lisitsyn YP. *Zdravookhraneniye v XX veke: monografiya*. Moscow: Meditsina; 2002. 216 p. (In Russ).]
- Лисицын Ю.П. *Общественное здоровье и здравоохранение: учебник для вузов*. — М.: ГЭОТАР-Медиа; 2010. 512 с. [Lisitsyn YP. *Obshchestvennoye zdorov'e i zdavookhraneniye: uchebnik dlya vuzov*. Moscow: GEOTAR-Media; 2010. 512 p. (In Russ).]
- Sassi F, Hurst J. *The prevention of lifestyle-related chronic diseases: an economic framework*. Paris: OECD; 2008. 77 p.
- Home Health Technologies. Research report*. Tractica; 2015. 104 p.
- Kayyili B, Knott D, Van Kuiken S. The big-data revolution in US health care: accelerating value and innovation. McKinsey Quarterly [updated 2013 Apr; cited 2016 May 3]. Available from: [http://www.mckinsey.com/insights/health\\_systems\\_and\\_services/the\\_big\\_data\\_revolution\\_in\\_us\\_health\\_care](http://www.mckinsey.com/insights/health_systems_and_services/the_big_data_revolution_in_us_health_care).
- Mottl J. Healthcare leaders bearish on wearables for patient care updated 2015 Nov 2; cited 2016 May 3]. Available from: <http://www.fiercemobilehealthcare.com/story/healthcare-leaders-bearish-wearables-patient-care/2015-11-02>.
- Hamel MB, Cortez NG, Cohen IG, Kesselheim AS. FDA regulation of mobile health technologies. *N Engl J Med*. 2014;371(4):372–379. doi: 10.1056/NEJMhle1403384.
- Характерно, что даже автор теории «подрывных» инноваций и бизнес-моделей С. Christensen в итоге признал, что применение его теории к здравоохранению требует внесения определенных корректив в саму эту теорию. «Инновации, которые бросают вызов социально-экономической статусной составляющей того или иного продукта, — писал он, — существенно отличаются по динамике своего развития от инноваций, связанных только с его полезным эффектом. Поэтому вряд ли стоит удивляться тому, что инновации, которые делают здравоохранение дешевле, проще и доступнее, вызывают ранее не виданное сопротивление... Принять инновации, связанные только с полезным эффектом, куда проще, чем разрешить массу сложных психологических и эмоциональных проблем, глубоко укоренившихся в паутине отношений, связанных с социально-экономическим статусом здравоохранения» [48].
- Uscher-Pines L, Mulcahy A, Cowling D, et al. Antibiotic prescribing for acute respiratory infections in direct-to-consumer telemedicine visits. *JAMA Intern Med*. 2015;175(7):1234–1235. doi: 10.1001/jamainternmed.2015.2024.
- Ancker JS, Witteman HO, Hafeez B, et al. “You get reminded you’re a sick person”: personal data tracking and patients with multiple chronic conditions. *J Med Internet Res*. 2015;17(8):e202. doi: 10.2196/jmir.4209.
- Close K, Larsson S, Luijs J, et al. Making big data work: health care payers and providers [updated 2014 Sep 8; cited 2016 May 3]. Available from: [https://www.bcgperspectives.com/content/articles/health\\_care\\_payers\\_providers\\_digital\\_economy\\_making\\_big\\_data\\_work\\_health\\_care\\_payers/](https://www.bcgperspectives.com/content/articles/health_care_payers_providers_digital_economy_making_big_data_work_health_care_payers/).
- Adler-Milstein J, Jha A. Healthcare’s “big data” challenge. *Am J Manag Care*. 2013;19(7):537–538.
- White S. A review of big data in health care: challenges and opportunities. *Open Access Bioinformatics*. 2014;6:13–18. doi: 10.2147/OAB.S50519.
- Bresnick J. Healthcare big data analytics: from description to prescription [updated 2015 May 8; cited 2016 May 3]. Available from: <http://healthitanalytics.com/news/healthcare-big-data-analytics-from-description-to-prescription>.
- Березной А. Инновационные бизнес-модели в конкурентной стратегии крупных корпораций // *Вопросы экономики*. — 2014. — №9. — С. 65–81. [Bereznoi A. Business model innovation in competitive strategy of large corporations. *Vopr Ekon*. 2014;(9):65–81. (In Russ).]
- Christensen C, Grossman J, Hwang J. *The innovator's prescription: a disruptive solution for health care*. NY: McGraw-Hill; 2009. 362 p.
- Beck M. Startups vie to build an uber for health care. *The Wall-Street Journal* [Internet]. 2015 Aug 11 [cited 2016 May 3];[about 1 p.]. Available from: <http://www.wsj.com/articles/startups-vie-to-build-an-uber-for-health-care-1439265847>.
- Hawkes N. Uber for healthcare. *BMJ*. 2016;352:i771. doi: 10.1136/bmj.i771.
- Watson Z. Uber for healthcare. *Sparksheet* [Internet]. 2015 Oct 14 [cited 2016 May 3];[about 1 p.]. Available from: <http://sparksheet.com/uber-for-healthcare>.
- Zamosky L. What retail clinic growth can teach physicians about patient demand. *Medical Economics* [Internet]. 2014 Jan 8 [cited 2016 May 3];[about 1 p.]. Available from: <http://medicaleconomics.modernmedicine.com/medical-economics/content/tags/cvscaremark/what-retail-clinic-growth-can-teach-physicians-about-pat?page=full>.
- Packer-Turman J. Consumerism increases retail opportunities and access to coverage and care. *Managed Healthcare Executive* [Internet]. 2015 Feb 17 [cited 2016 May 3];[about 1 p.]. Available from: <http://managedhealthcareexecutive.modernmedicine.com/managed-healthcare-executive/news/consumerism-increases-retail-opportunities-and-access-coverage-and-care-0>.
- Page L. Can you really compete with retail clinics — and succeed? *Medscape Business of Medicine* [Internet]. 2015 [cited 2016 May

- 3]:[about 1 p.]. Available from: [http://www.medscape.com/view-article/837872\\_4](http://www.medscape.com/view-article/837872_4).
27. Hwang J, Mehrotra A. Why retail clinics failed to transform health care. *Harv Bus Rev* [Internet]. 2013 Dec 25 [cited 2016 May 3]:[about 1 p.]. Available from: <https://hbr.org/2013/12/why-retail-clinics-failed-to-transform-health-care>.
  28. Gordon L. Adding a check-up to your shopping list: the emergence of retail clinics. 2011 Dec 28 [cited 2016 May 3]. In: Euromonitor International [Internet]. Available from: <http://blog.euromonitor.com/2011/12/adding-a-check-up-to-your-shopping-list-the-emergence-of-retail-clinics.html>.
  29. Jauhar S. Why doctors are sick with their profession. *The Wall-Street Journal* [Internet]. 2014 Aug 29 [cited 2016 May 3]:[about 1 p.]. Available from: <http://www.wsj.com/articles/the-u-s-s-ailing-medical-system-a-doctors-perspective-1409325361>.
  30. Medved J. Concierge medicine: should your practice stop accepting health insurance? 2015 Feb 19 [cited 2016 May 3]. In: Capterra Medical Software Blog [Internet]. 2015. Available from: <http://blog.capterra.com/concierge-medicine-should-your-practice-stop-accepting-health-insurance/>.
  31. Eyring M. How disruptive business models can transform health care. *Fast Company* [Internet]. 2012 Jul 17 [cited 2016 May 3]:[about 1 p.]. Available from: <http://www.fastcoexist.com/1680179/how-disruptive-business-models-can-transform-health-care>.
  32. Physician compensation report: 2013 [cited 2016 May 3]. Available from: <http://www.medscape.com/features/slideshow/compensation/2013/public>.
  33. The physicians' foundation. A survey of America's physicians: practice patterns and perspectives [updated 2012 Sep 21; cited 2016 May 3]. Available from: <http://www.physiciansfoundation.org/healthcare-research/a-survey-of-americas-physicians-practice-patterns-and-perspectives/>.
  34. Clinical transformation: new business models for a new era in healthcare [cited 2016 May 3]. Available from: <http://www.mindsailing.com/uploads/1/3/7/8/13788354/accenture-clinical-transformation-new-business-models-for-a-new-era-in-healthcare.pdf>.
  35. American Academy of Family Physicians; American Academy of Pediatrics; American College of Physicians; American Osteopathic Association. Joint principles of the patient-centered medical home. [updated 2007 Mar 7; cited 2016 May 3]. Available from: [http://www.aafp.org/dam/AAFP/documents/practice\\_management/pcmh/initiatives/PCMHJoint.pdf](http://www.aafp.org/dam/AAFP/documents/practice_management/pcmh/initiatives/PCMHJoint.pdf).
  36. Mackie J, Oss M. The emergence of specialty medical homes in the U.S. health care system: initial financial performance data & the financial implications for provider organizations. *Am J of Health Sci*. 2015;6(2):91–99. doi: 10.19030/ajhs.v6i2.9498.
  37. Gold J. Accountable care organization, explained [updated 2015 Sep 14; cited 2016 May 3]. Available from: <http://khn.org/news/aco-accountable-care-organization-faq/>.
  38. Schoen C, Osborn R, Squires D, et al. New 2011 survey of patients with complex care needs in eleven countries finds that care is often poorly coordinated. *Health Aff (Millwood)*. 2011;30(12):2437–2448. doi: 10.1377/hlthaff.2011.0923.
  39. Suennen L. Thoughts on the digital health gold rush. 2015 Oct 9 [cited 2016 May 3]. In: Venture Valkyrie [Internet]. Available from: <http://venturevalkyrie.com/thoughts-on-the-digital-health-gold-rush/>.
  40. Шеян И. Цифровизация медицинских организаций: текущие задачи, проблемы, подходы [доступ от 03.05.2016]. Доступ по ссылке: <http://www.osp.ru/medit/2014/04/13040427.html>.
  41. Носов Н. ИТ в российской государственной медицине: что будет в 2016 году? [доступ от 03.05.2016]. Доступ по ссылке: <http://www.pcweek.ru/gover/article/detail.php?ID=180190>.
  42. Департамент информационных технологий города Москвы. Врачи экономят до 2 млн часов в год благодаря электронным сервисам [доступ от 03.05.2016]. Доступ по ссылке: <http://dit.mos.ru/presscenter/news/detail/2009581.html>.
  43. Гончарова О., Кругликова М. Затраты на информатизацию здравоохранения превысили 6,5 млрд. руб. [доступ от 03.05.2016]. Доступ по ссылке: [http://vademec.ru/news/2015/03/03/zatraty\\_na\\_informatizatsiyu\\_zdravookhraneniya\\_prevysili\\_6\\_5\\_mlrdrubley](http://vademec.ru/news/2015/03/03/zatraty_na_informatizatsiyu_zdravookhraneniya_prevysili_6_5_mlrdrubley).
  44. Шеян И. Говорят регионы. Об информатизации здравоохранения в цифрах. ИТ в здравоохранении [доступ от 03.05.2016]. Доступ по ссылке: <http://www.osp.ru/medit/2015/05/13046130.html>.
  45. Мухин И. *Информационные технологии в медицине 2015. Ежегодный обзор*. — М.; 2015. 15 с. [Mukhin I. *Informatsionnye tekhnologii v meditsine 2015. Ezhegodnyi obzor*. Moscow; 2015. 15 p. (In Russ).]
  46. Упатов А. Информационный доктор // *КоммерсантЪ. Приложение к газете*. 14 октября, 2015;(189). [Upatov A. Informatsionnyi doktor. *Kommersant. Prilozhenie k gazete*. 2015 october 14;(189). (In Russ).]
  47. *mHealth in China and the United States: how mobile technology is transforming healthcare in the world's two largest economies*. Washington DC; 2014. 36 p.
  48. Christensen C, Hatkoff C, Kula I. Disruptive innovation theory revisited: toward quantum innovation [updated 2013 Apr 12; cited 2016 May 03]. Available from: <http://offwhitepapers.com/?p=21>.

#### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Березной Алексей Васильевич**, доктор экономических наук, директор Центра исследований отраслевых рынков и бизнес-стратегий ИСИЭЗ НИУ «Высшая школа экономики»

Адрес: 101000, Москва, ул. Мясницкая, д. 11, тел.: +7 (495) 772-95-90 (доб. 12089), e-mail: [abereznoy@hse.ru](mailto:abereznoy@hse.ru)

**Сайгитов Руслан Темирсултанович**, доктор медицинских наук, главный научный сотрудник ИСИЭЗ НИУ «Высшая школа экономики»

Адрес: 101000, Москва, ул. Мясницкая, д. 11, тел.: +7 (495) 772-95-90 (доб. 12023), e-mail: [saygitov@hse.ru](mailto:saygitov@hse.ru)

DOI: 10.15690/vramn688

Т.В. Куличенко<sup>1, 2</sup>, Е.Н. Байбарина<sup>3</sup>, А.А. Баранов<sup>1, 2</sup>, Л.С. Намазова-Баранова<sup>1, 2</sup>, С.Г. Пискунова<sup>4, 5</sup>,  
Е.А. Беседина<sup>5</sup>, А.Н. Садовщикова<sup>6</sup>, О.Р. Юлдашев<sup>7</sup>, С.А. Мухортова<sup>1</sup>, И.В. Артемова<sup>1</sup>, В.В. Черников<sup>1</sup>, А.В. Харьков<sup>1</sup>,  
Е.Г. Чистякова<sup>1, 2</sup>, Е.Л. Володина<sup>8</sup>, Т.Н. Капустская<sup>6</sup>, Р.Ф. Кирипова<sup>9</sup>

<sup>1</sup> Научный центр здоровья детей, Москва, Российская Федерация

<sup>2</sup> Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Москва, Российская Федерация

<sup>3</sup> Министерство здравоохранения Российской Федерации, Москва

<sup>4</sup> Областная детская клиническая больница, Ростов-на-Дону, Российская Федерация

<sup>5</sup> Ростовский государственный медицинский университет, Ростов-на-Дону, Российская Федерация

<sup>6</sup> Вологодская областная детская клиническая больница, Вологда, Российская Федерация

<sup>7</sup> БУ Ханты-Мансийского автономного округа — Югры «Нижневартовская окружная клиническая детская больница»,  
Нижневартовск, Российская Федерация

<sup>8</sup> Департамент здравоохранения Вологодской области, Вологда, Российская Федерация

<sup>9</sup> Департамент здравоохранения Ямало-Ненецкого автономного округа, Салехард, Российская Федерация

## Оценка качества стационарной помощи детям в регионах Российской Федерации

**Обоснование.** Качество оказания медицинской помощи детям является основой для реализации различных программ по сохранению здоровья матери и ребенка. **Цель исследования:** оценка качества помощи детям в стационарах второго и третьего уровня в различных регионах Российской Федерации. **Методы.** В статье обсуждаются результаты аудита стационарной помощи детям в четырех регионах Российской Федерации. Оценка качества стационарной помощи детям с помощью инструментария Всемирной организации здравоохранения была проведена в 21 больнице (из них 5 — третьего уровня, 16 — второго уровня). **Результаты.** Во всех участвовавших в проверке больницах регионов выявлены похожие, зачастую определяющие низкое качество особенности стационарной педиатрической помощи детям: низкая готовность к оказанию неотложной помощи в приемных отделениях, зачастую безосновательные госпитализации вследствие отсутствия четких критериев для пребывания детей в круглосуточном стационаре, крайне высокий уровень полипрагмазии и необоснованного болезненного лечения, избыточное и неадекватное применение антибактериальных препаратов и инфузионной терапии. **Заключение.** Идентичность проблем в различных регионах страны позволяет продумать общую стратегию их преодоления, которая, очевидно, должна, прежде всего, подразумевать образование медицинского персонала, реструктуризацию коечного фонда с увеличением коек дневных стационаров, усиление клинико-экспертной работы в больницах.

**Ключевые слова:** оценка качества стационарной помощи, дети, аудит, инструментарий ВОЗ, обучение персонала.

(Для цитирования: Куличенко Т.В., Байбарина Е.Н., Баранов А.А., Намазова-Баранова Л.С., Пискунова С.Г., Беседина Е.А., Садовщикова А.Н., Юлдашев О.Р., Мухортова С.А., Артемова И.В., Черников В.В., Харьков А.В., Чистякова Е.Г., Володина Е.Л., Капустская Т.Н., Кирипова Р.Ф. Оценка качества стационарной помощи детям в регионах Российской Федерации. *Вестник РАМН*. 2016;71(3):214–223. doi: 10.15690/vramn688)

214

T.V. Kulichenko<sup>1, 2</sup>, E.N. Baybarina<sup>3</sup>, A.A. Baranov<sup>1, 2</sup>, L.S. Namazova-Baranova<sup>1, 2</sup>, S.G. Piskunova<sup>4, 5</sup>,  
E.A. Besedina<sup>5</sup>, A.N. Sadvshikova<sup>6</sup>, O.R. Yuldashev<sup>7</sup>, S.A. Mukhortova<sup>1</sup>, I.V. Artemova<sup>1</sup>, V.V. Chernikov<sup>1</sup>, A.V. Kharkin<sup>1</sup>,  
E.G. Chistyakova<sup>1, 2</sup>, E.L. Vologdina<sup>8</sup>, T.N. Kaputskaya<sup>6</sup>, R.F. Kiripova<sup>9</sup>

<sup>1</sup> Scientific Center of Children's Health, Moscow, Russian Federation

<sup>2</sup> I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation

<sup>3</sup> The Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow

<sup>4</sup> Regional Children's Clinical Hospital, Rostov-on-Don, Russian Federation

<sup>5</sup> Rostov State Medical University, Rostov-on-Don, Russian Federation

<sup>6</sup> Vologda Oblast Children's Clinical Hospital, Vologda, Russian Federation

<sup>7</sup> Khanty-Mansiysk Autonomous District — Ugra «Nizhnevartovsk District Clinical Children's Hospital», Nizhnevartovsk, Russian Federation

<sup>8</sup> Vologda Region Health Department, Vologda, Russian Federation

<sup>9</sup> Yamal-Nenets Autonomous District Health Department, Salekhard, Russian Federation

## Pediatric Health Quality Assessment in Different Regions of Russian Federation

**Background:** The quality of pediatric healthcare is a cornerstone for good maternal and infant health. **Aims:** To evaluate the quality of healthcare in secondary and tertiary regional pediatric hospitals in the Russian Federation. **Methods:** Healthcare quality assessment was performed in 21 pediatric hospitals (tertiary, n=5; secondary, n=16) of four regions. The WHO recommendations were used. **Results:** In all regions, similar traits of inpatient pediatric healthcare determining a poor quality were observed. These included low preparedness for emergent care at admission departments; a high rate of unjustified hospitalization due to lack of clear indications for inpatient care; a widespread polypharmacy and unnecessary painful procedures and treatment; inadequate unjustified antimicrobial and parenteral therapy. **Conclusions:** The revealed identity of problems in different regions of the country allows to consider a common strategy to overcome them, which, obviously, should primarily involve education of medical personnel, restructuring of hospital beds to increase day care beds, increasing the clinical expert work in hospitals.

**Key words:** healthcare quality assessment, children, medical audit program, process assessment health care, public health education for professionals. (For citation: Kulichenko TV, Baybarina EN, Baranov AA, Namazova-Baranova LS, Piskunova SG, Besedina EA, Sadvshikova AN, Yuldashev OR, Mukhortova SA, Artemova IV, Chernikov VV, Kharkin AV, Chistyakova EG, Vologdina EL, Kaputskaya TN, Kiripova RF. Pediatric Health Quality Assessment in Different Regions of Russian Federation. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2016;71(3):214–223. doi: 10.15690/vramn688)

## Обоснование

Обеспечение надлежащего качества медицинской помощи — приоритетная задача европейской политики Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) («Здоровье-2020»<sup>1</sup>), которая определяет ключевые стратегические направления развития здравоохранения [1]. ВОЗ признает качество оказания медицинской помощи детям основой для реализации различных программ по сохранению здоровья матери и ребенка [2].

Контроль качества оказания педиатрической помощи актуален для всех стран с разным уровнем развития здравоохранения. В развивающихся странах высокая частота потенциально предотвратимых летальных исходов у детей связана преимущественно с недоступностью и неэффективностью медицинской помощи на первичном этапе ее оказания [3]. В странах с достаточно развитой системой здравоохранения, к которым следует отнести и Россию, неблагоприятные исходы, в том числе и риск смерти, коррелируют с качеством стационарной помощи [4]. Для достижения значимого снижения уровня материнской и детской смертности необходимо не только увеличивать доступность медицинской помощи населению, но и повышать ее качество. Как показано в ряде исследований, проведенных в разных странах, программы, направленные только на увеличение охвата населения медицинской помощью, не достигли ожидаемого снижения уровня материнской и детской смертности и заболеваемости [5, 6].

Низкое качество медицинской помощи препятствует достижению желаемых показателей здоровья, ограничивает реализацию прав населения на охрану здоровья и может приводить к неоправданным прямым и косвенным затратам как системы здравоохранения в целом, так и отдельных лиц.

Известны разные способы оценки качества медицинской помощи и множество стратегий его улучшения [7, 8]. В последние годы были опубликованы результаты анализа различных способов улучшения качества оказания медицинской помощи в сфере материнства и детства и факторов, способствующих или препятствующих этому процессу [9, 10].

**Целью** нашей работы стала оценка качества помощи детям в стационарах второго и третьего уровня в разных регионах Российской Федерации.

## Методы

### Дизайн исследования

Простое наблюдательное исследование. Проведена оценка качества стационарной помощи детям в четырех регионах РФ. Выбор регионов для проведения аудита больниц определялся заинтересованностью местных органов здравоохранения в этой работе. Инициаторами проведения аудита выступили эксперты Научного центра здоровья детей (НЦЗД), департаменты / министерства здравоохранения регионов и администрация областных или окружных больниц в выбранных регионах.

### Критерии соответствия

Выбор стационаров для аудита осуществлялся региональными руководителями органов здравоохранения и ограничивался больницами второго и третьего уровней оказания медицинской помощи.

### Условия проведения

#### Оценка качества медицинской помощи в России по стандартам ВОЗ

Для реализации поставленной цели были использованы технологии ВОЗ. Оценка качества стационарной помощи детям с использованием инструментов ВОЗ проводилась в РФ до настоящего времени лишь однажды — более 10 лет назад. Ее результаты были опубликованы в 2006 г. в *The Lancet*, где представлены сравнительные данные аудита в 17 больницах трех стран Содружества Независимых Государств (Молдова, Казахстан, Россия) [11]. Два десятилетия назад экспертами ВОЗ частота необоснованных госпитализаций в нашей стране была признана высокой, а частота полипрагмазии — очень высокой.

Стандарты оценки качества медицинской помощи, провозглашаемые ВОЗ, подразумевают системный анализ различных сфер деятельности стационаров. Согласно определению ВОЗ (1991), качество оказания медицинской помощи — это свойство взаимодействия врача и пациента, обусловленное квалификацией профессионала, которое отражает следующие аспекты профессиональной деятельности:

- 1) **эффективность**, т.е. соблюдение медицинских технологий (собственно осуществление лечебного процесса);
- 2) **безопасность**, т.е. снижение риска травм и заболеваний в результате медицинского вмешательства;
- 3) **экономическая эффективность**, т.е. оптимальное использование ресурсов системы здравоохранения;
- 4) **реализация прав пациентов**, т.е. удовлетворенность пациента медицинским обслуживанием.

Очевидно, что оценка качества медицинской помощи как таковая не может гарантировать какие-либо изменения к лучшему. Использование собранной в ходе аудита информации для разработки дальнейшего плана действий является необходимым шагом в работе по улучшению качества оказания медицинской помощи в каждой отдельной больнице.

### Продолжительность исследования

Аудит детских стационаров был проведен с июня 2015 по апрель 2016 г. в четырех регионах РФ.

### Описание методики исследования

#### Аудит качества стационарной помощи детям

Аудит во всех включенных в проект стационарах был проведен при помощи опросника (инструментария) ВОЗ «Оценка качества оказания стационарной помощи детям» (*The Pediatric Care Assessment Tool*), версия ВОЗ/Европа, пересмотр 2015 г.

Аудит осуществлялся экспертами НЦЗД и ведущими специалистами областных / окружных детских больниц регионов; в каждом регионе в качестве наблюдателей участвовали представители Министерства / Департамента здравоохранения. До начала аудита были проведены тренинг экспертов по методикам работы с инструментарием ВОЗ и интервьюирования персонала и родителей в стационарах.

Аудит предполагает работу команды экспертов в больнице в течение не менее 1 дня. В начале аудита проводится совещание с администрацией стационара и

<sup>1</sup> Здоровье-2020 — основы европейской политики в поддержку действий каждого государства и общества в интересах здоровья и благополучия. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe; 2013. ([http://www.euro.who.int/\\_\\_data/assets/pdf\\_file/0006/199536/Health2020-Short.pdf?ua=1](http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0006/199536/Health2020-Short.pdf?ua=1); accessed 17 July 2014).

всеми заинтересованными сотрудниками (заведующие отделениями, старшие сестры и т.д.), в ходе которого эксперты разъясняют цели предстоящей работы, отсутствие каких-либо штрафных санкций и наказаний по результатам аудита, знакомят персонал больницы с инструментарием ВОЗ и подробно рассказывают о методике выполнения проверки. Аудит подразумевает непосредственное знакомство со всеми подразделениями стационара и проведение ролевых игр с персоналом, позволяющее выявить готовность к оказанию неотложной помощи, особенности маршрутизации пациентов в больнице. По плану, предусмотренному инструментарием ВОЗ, эксперты оценивают наличие и обслуживание необходимого оборудования в больнице, лекарственное обеспечение, лабораторную службу, структуру детских отделений и соблюдение прав детей в этих отделениях. В ходе аудита проводятся структурированные интервью с персоналом больницы, а также с родителями пациентов. Основным принципом работы является доброжелательность команды экспертов, отсутствие порицания и конфликтов с персоналом больницы.

Проведение аудита больницы при помощи опросника ВОЗ подразумевает оценку следующих сфер ее деятельности:

- качество информационной системы и статистики;
- оснащенность лекарствами и оборудованием, а также возможность их немедленного использования для оказания неотложной помощи;
- качество лабораторной поддержки;
- возможность и готовность оказания неотложной помощи в стационаре;
- структура педиатрических отделений;
- уровень существующей клинической практики (лечение дыхательных расстройств, лечение диареи, лечение анемии, лечение лихорадочных состояний, лечение хронических болезней, хирургическое лечение);
- качество мониторинга и поддерживающего ухода за пациентами;
- соблюдение прав ребенка в больнице;
- использование современных протоколов и руководств;
- наличие системы внутреннего и внешнего аудита в больнице;
- доступность больницы;
- удовлетворенность родителей.

По каждому из перечисленных индикаторов качества в результате проведения аудита командой экспертов выставляется условная оценка в баллах по шкале от 0 до 3, где

3 — помощь оказывается в соответствии с международными стандартами (нет необходимости в улучшении или требуется минимальное улучшение);

2 — оказание помощи не соответствует международным стандартам, но не несет опасности для здоровья; права человека не нарушаются (необходимо некоторое улучшение, чтобы достичь качества, соответствующего стандартам);

1 — оказание помощи не соответствует международным стандартам, влечет за собой нарушение здоровья или нарушает права детей: например, невыполнение показанных манипуляций, повлекшее риск для здоровья, или нарушение прав ребенка (необходимо существенное улучшение, чтобы достичь качества, соответствующего стандартам);

0 — очень низкое качество оказания помощи, которое систематически приводит к развитию тяжелых последствий для здоровья детей.

Оценка для каждого индикатора качества рассчитывается как среднее арифметическое баллов по каждому из ключевых пунктов сводных таблиц, предусмотренных в инструментарии. Поэтому общая оценка для подраздела и главы представляет собой десятичную дробь. Балльная оценка каждой сферы деятельности больницы является результатом общего обсуждения всеми членами команды экспертов и не может отражать единоличное мнение только одного эксперта.

Обсуждение результатов аудита происходит непосредственно после его окончания со всем персоналом больницы (администрация, врачи, медсестры). В завершение этой работы в каждой больнице составляется конкретный план действий по результатам аудита с указанием сроков выполнения и ответственных лиц. Цель — максимально позитивно мотивировать персонал.

#### **Оценка клинической практики при аудите больниц**

Оценка клинической практики основывалась на детальном анализе историй болезни, собранных в архиве стационаров методом сплошной выборки за предшествующие аудиту 3 месяца. В каждом стационаре при каждом аудите или мониторинговом визите было проанализировано не менее 35 историй болезни.

Для характеристики клинической практики в больницах были использованы 9 индикаторов (1–9), включенных в инструмент ВОЗ в 2015 г., а также 2 дополнительных критерия (10–11), представляющих актуальность для нашей страны:

1. Необоснованность госпитализации.
2. Неправильный диагноз.
3. Неправильное лечение.
4. Несоответствие проведенного лечения диагнозу.
5. Полипрагмазия (ятрогенный риск).
6. Причинение необоснованной боли детям.
7. Неадекватный мониторинг.
8. Не проведена оценка физического развития.
9. Неадекватные внутривенные инфузии.
10. Нерациональная антибиотикотерапия.
11. Неадекватное использование системных глюкокортикоидов (ГКС).

Необходимо подчеркнуть, что экспертная оценка любого из индикаторов строилась на основе конкретной характеристики каждого из признаков, представленных в инструменте ВОЗ (табл. 1). Подведение итогов, подсчет частоты выявления каждого из индикаторов осуществлялся в конце аудита совместно всеми экспертами. Результаты этой работы также обсуждались с администрацией и врачами стационаров на итоговом совещании по завершении аудита.

#### **Этическая экспертиза**

Протокол проведения аудита больниц был разработан экспертами ФГАУ «НЦЗД» на основании рекомендаций Всемирной организации здравоохранения. Проведение исследования «Оценка качества стационарной помощи детям в РФ» одобрено Локальным этическим комитетом ФГАУ «НЦЗД» 23 декабря 2014 г., протокол № 11.

#### **Статистический анализ**

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета статистических программ Statistica 6.0 корпорации StatSoft Inc. (США). Характеристика качественных параметров представлена средним, минимальным и максимальным значениями; для количественных показателей вычисляли среднюю

Таблица 1. Характеристика индикаторов для оценки клинической практики (на основе анализа историй болезни)

Индикатор	Характеристика признака
Госпитализация — <i>не обоснована</i>	Определение: не соблюдаются критерии госпитализации, рекомендованные ВОЗ и национальными стандартами. Примеры: <ul style="list-style-type: none"> <li>• у ребенка насморк, но он госпитализирован</li> <li>• у ребенка умеренное обезвоживание, но он госпитализирован</li> </ul>
Диагноз — <i>неправильный</i>	Определение: несоблюдение рекомендаций по диагностике, неадекватная оценка степени тяжести диагностированного состояния. Примеры: <ul style="list-style-type: none"> <li>• у ребенка кашель или насморк, но выставлен диагноз пневмонии</li> <li>• у ребенка умеренное обезвоживание, но диагноз «Тяжелое обезвоживание»</li> </ul>
Лечение — <i>неправильное</i>	Определение: неспособность соблюдения стандартов при назначении лечения. Примеры: <ul style="list-style-type: none"> <li>• у ребенка кашель или простуда, но получает лечение как при пневмонии; или у ребенка диагноз пневмонии, но получает лечение как при тяжелой пневмонии</li> <li>• у ребенка умеренное обезвоживание, но лечение соответствует тяжелой форме обезвоживания</li> </ul>
Диагноз и лечение — <i>не соответствуют</i>	Определение: нет соответствия между диагнозом и назначенным лечением, или диагноз <i>неясен</i> (согласно критериям ВОЗ или национальным стандартам). Примеры: <ul style="list-style-type: none"> <li>• у ребенка кашель или насморк, но получает лечение как при пневмонии</li> <li>• у ребенка умеренное обезвоживание, но полученное лечение соответствует тяжелой форме обезвоживания</li> </ul>
Ятрогенный риск — <i>повышенный (полипрагмазия)</i>	Определение: излишние препараты — использование 2 или более препаратов, не соответствующих рекомендациям ВОЗ и национальным стандартам из-за недоказанной эффективности или повышения риска побочных эффектов ( <i>полипрагмазия</i> ). Примеры: <ul style="list-style-type: none"> <li>• любое ненужное использование препаратов, таких как кортикостероиды или антибиотики при диарее, седативные препараты для детей с лихорадкой; кардиотонические препараты у детей без четких показаний и т.д.</li> </ul>
Боль — <i>необоснованная</i>	Определение: излишние инвазивные процедуры, такие как внутримышечные/внутривенные инъекции или другие болезненные манипуляции, которых можно было бы избежать. Примеры: <ul style="list-style-type: none"> <li>• в/м или в/в инъекции ребенку, которому антибиотик может быть назначен <i>per os</i></li> <li>• в/в регидратация ребенку, которому можно назначить оральную регидратацию</li> </ul>
Мониторинг — <i>недостаточный</i>	Определение: недостаточный контроль в соответствии с клиническим диагнозом ребенка, согласно критериям ВОЗ и национальным стандартам. Отсутствует диагностика сопутствующих болезней или состояний. <ul style="list-style-type: none"> <li>• при респираторной инфекции: частота дыхания не контролируется по крайней мере 2 раза в день</li> <li>• при диарее: вес/потери не проверяются минимум 2 раза в день</li> <li>• при менингите: неврологический статус не проверяется минимум 2 раза в день</li> </ul>
Нутритивный статус — <i>не оценен</i>	Определение: не проведена оценка физического развития, рост ребенка неадекватно оценен в соответствии с критериями ВОЗ (вес по возрасту, рост по возрасту в соответствии со стандартами ВОЗ 2006); и/или ребенок с острым или хроническим дефицитом питания не идентифицирован
Использование в/в инфузий — <i>неправильное</i>	Определение: инфузионная терапия проводится неадекватно (выбор растворов, объем инфузии, продолжительность инфузии). Примеры: <ul style="list-style-type: none"> <li>• внутривенные жидкости не нужны, например, когда ребенок в состоянии пить самостоятельно</li> <li>• неправильный тип жидкости (такие как гипотонический раствор), или неправильное количество (либо слишком много, либо слишком мало)</li> </ul>
Антибиотикотерапия — <i>нерациональная</i>	Определение: антибактериальная терапия назначается при отсутствии показаний, согласно критериям ВОЗ и национальным стандартам, для лечения выбраны препараты резерва или неадекватного спектра действия. Примеры: <ul style="list-style-type: none"> <li>• ребенку с неосложненным назофарингитом или ларинготрахеитом назначен антибиотик</li> <li>• для стартовой терапии нетяжелой внебольничной пневмонии выбран парентеральный цефалоспориин III поколения</li> </ul>
Использование системных ГКС — <i>неадекватное</i>	Определение: системные глюкокортикостероиды (ГКС) назначаются без показаний или в неадекватных дозах, согласно национальным стандартам. Примеры: <ul style="list-style-type: none"> <li>• ребенку с простым бронхитом без дыхательной недостаточности назначен преднизолон</li> <li>• ребенку с обструктивным бронхитом при хорошем ответе на бронходилататоры в течение нескольких дней вводятся системные ГКС, несмотря на нормальные показатели частоты дыханий, насыщения крови кислородом</li> </ul>

величину. Данное исследование не являлось сравнительным, поэтому значимость различий не вычислялась.

## Результаты

### Объекты (участники) исследования

Аудит качества оказания стационарной помощи детям был проведен в 21 больнице четырех регионов РФ, из них 5 учреждений третьего уровня, 16 — второго уровня:

Регион 1 — 3 больницы (1 — третьего уровня, 2 — второго уровня).

Регион 2 — 4 больницы (2 — третьего уровня, 2 — второго уровня).

Регион 3 — 4 больницы (2 — третьего уровня, 2 — второго уровня).

Регион 4 — 10 больниц второго уровня.

### Основные результаты исследования

Оценка качества стационарной помощи детям показала практически идентичную ситуацию во всех больницах вне зависимости от их уровня и региональных особенностей (табл. 2).

В целом все стационары имеют адекватную структуру и укомплектованность кадрами для оказания педиатрической помощи. Имеет место очень хорошая обеспеченность лекарственными препаратами и диагностическими службами (средний балл >2). Высокой оценки заслуживают доступность больниц, преемственность медицинской помощи детям внутри стационаров и при взаимодействии

с амбулаторными службами. Врачи в российских больницах имеют отличную возможность для непрерывного профессионального образования; везде есть доступ к интернет-ресурсам; реализуется регулярное повышение квалификации персонала. Необходимо отметить хорошие санитарно-гигиенические условия в детских отделениях большинства больниц.

Вместе с тем аудит показал наличие сходных проблем во всех регионах (см. табл. 2: индикаторы, выделенные цветом, имеют средний балл <2). К ним относятся отсутствие оборудования и навыков персонала для оказания неотложной помощи в приемных отделениях. При этом речь идет не о высокотехнологичном дорогостоящем оборудовании, которое имеется в большинстве больниц, а об оборудовании, необходимом в экстренных ситуациях, — источнике кислорода, мешках Амбу различных размеров для искусственной вентиляции легких, пульсоксиметрах, глюкометрах, тонометрах и т.д. Приемные отделения российских больниц в подавляющем большинстве случаев работают как регистратуры для поступающих больных и не нацелены на быстрое оказание помощи тяжелым пациентам в неотложных ситуациях. Таких больных обычно из приемного покоя перенаправляют в отделение реанимации и интенсивной терапии, что удлиняет время до начала качественной помощи.

Наибольшее внимание при проведении аудита было уделено пациентам, госпитализированным в стационары в связи с острой патологией (дети с респираторными инфекциями, лихорадкой, пневмонией, диареей). Ведение именно этих больных, в отличие от пациентов, посту-

**Таблица 2.** Результаты аудита больниц четырех регионов: средний балл по каждому индикатору инструментария ВОЗ (версия 2015 г.) и суммарный средний балл для всех больниц, шкала 0–3 балла

Индикаторы качества помощи	Регион 1, n=3	Регион 2, n=4	Регион 3, n=4	Регион 4, n=10	Средний балл по всем регионам
Структура больницы, персонал	2,4	2,2	2,8	2,1	2,4
Статистика, информационная система, мед. документация	2,3	2,2	2,6	2,2	2,3
Лекарственное обеспечение	2,1	2,2	2,5	2,4	2,3
Оборудование	1,3	1,7	1,9	1,5	1,6
Лабораторная поддержка	2,3	2,2	2,5	2,1	2,3
Структура педиатрических отделений	2,6	2,4	2,7	1,8	2,4
Неотложная помощь и сортировка больных	1,2	1,7	1,6	1,1	1,4
Ведение пациентов с респираторной патологией	1,5	1,5	1,5	1,1	1,4
Ведение пациентов с диареей	1,3	0,7	1,7	1,0	1,2
Ведение пациентов с лихорадкой	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4
Ведение пациентов с анемией и нарушением питания	1,1	1,7	1,9	1,6	1,6
Ведение хронических больных	2,0	2,8	1,6	2,0	2,1
Поддерживающий уход	2,1	1,9	2,1	1,4	1,9
Мониторинг	2,2	2,2	2,3	2,0	2,2
Профилактика инфекций	2,5	2,4	2,8	2,4	2,5
Руководство и аудит	1,9	2,7	2,2	2,1	2,2
Доступность больницы и преемственность	2,6	2,7	2,8	2,6	2,7
Соблюдение прав детей	2,3	2,4	2,5	2,0	2,3
Суммарный средний балл	2,0	2,1	2,2	1,8	2,0

*Примечание.* n — число больниц в регионе, где был проведен аудит. Индикаторы, выделенные цветом, имеют средний балл <2.

пающих в плановом порядке, зачастую не соответствует международным и национальным стандартам оказания помощи (см. табл. 2, средний балл <2).

В разных регионах персонал детских стационаров за редким исключением не знаком с Конвенцией о правах детей. При этом практически нигде нет ограничений в госпитализации матерей вместе с детьми при их желании, и условия для пребывания матерей в больницах в основном удовлетворительные.

Проведенный анализ историй болезни позволил оценить реальную клиническую практику в стационарах (табл. 3). В анализ включались преимущественно истории болезни пациентов, госпитализированных с острыми состояниями; исключались больные, госпитализированные в плановом порядке. В каждом стационаре было проанализировано по 35–55 историй болезни (всего 818).

Проведенный анализ также показал сходные проблемы в различных регионах. Везде имеет место высокая частота необоснованной госпитализации (от 45 до 66%). Диагнозы в большинстве случаев выставляются пациентам правильно. Однако крайне высока (от 50 до 75%) доля пациентов, которым назначается лечение, не соответствующее установленному диагнозу. Самая частая ситуация — это назначение антибактериальной терапии практически всем детям, госпитализированным с любыми респираторными инфекциями, с лихорадкой, даже

при условии очевидной вирусной этиологии болезни. Отмечается избыточное использование бронходилататоров: их неадекватное назначение, в том числе в сочетании с ингаляционными глюкокортикостероидами, при отсутствии явлений бронхиальной обструкции, либо, напротив, неназначение при дыхательной недостаточности и обструктивном бронхите.

Самой главной проблемой нам представляется полипрагмазия, которая выявлена в 73–86% случаев в разных регионах (см. табл. 3). Еще раз подчеркнем, что полипрагмазией мы определяли назначение одному пациенту двух или более препаратов, которые не входят в национальные стандарты ведения больных соответствующего профиля. Данная таблица содержит только сведения о частоте полипрагмазии в разных стационарах и не высвечивает истинные масштабы этого явления в российском здравоохранении. В некоторых больницах количество препаратов, назначенных одному пациенту, превышало 15–20 наименований (рис.)! Здесь важно подчеркнуть, что так лечат отнюдь не в реанимациях, а в обычных отделениях, где состояние большинства пациентов характеризуется как «среднетяжелое» или «удовлетворительное». Абсолютный «рекорд» составило одновременное назначение 24 наименований препаратов ребенку с острой респираторной вирусной инфекцией. Полипрагмазия, безусловно, характеризует ятрогенный риск для пациентов, но не менее

Таблица 3. Клиническая практика в стационарах различных регионов: данные анализа историй болезни методом случайной выборки

Индикаторы клинической практики	Регион 1 n=3	Регион 2 n=4	Регион 3 n=4	Регион 4 n=10	Средний показатель
Необоснованность госпитализации, %	66 (54–78)	45 (38–56)	60 (45–78)	65 (33–94)	59
Неправильный диагноз, %	12 (0–31)	6 (2–12)	9 (3–23)	28 (7–55)	14
Неправильное лечение, %	62 (55–73)	50 (29–71)	65 (48–86)	75 (56–97)	63
Несоответствие лечения диагнозу, %	63 (54–78)	51 (25–77)	42 (27–80)	66 (30–88)	56
Полипрагмазия, %	86 (83–92)	73 (52–93)	78 (58–92)	75 (48–100)	78
Необоснованная боль, %	70 (74–79)	64 (32–98)	61 (51–78)	77 (41–95)	68
Неадекватный мониторинг, %	54 (34–80)	40 (22–56)	40 (26–53)	57 (22–94)	48
Не оценено физическое развитие, %	20 (6–55)	39 (4–100)	27 (0–58)	72 (0–100)	40
Неадекватная инфузионная терапия, %	34 (23–48)	15 (0–30)	43 (32–67)	29 (11–40)	30
Нерациональная антибиотикотерапия, %	62 (57–78)	67 (46–96)	71 (64–77)	63 (16–90)	66
Неадекватное использование ГКС, %	12 (10–17)	7 (2–12)	24 (7–43)	26 (0–56)	17
Ключевой показатель, %	45 (43–50)	22 (2–42)	34 (19–46)	44 (18–87)	36
Продолжительность госпитализации, койко-дни	8,3 (6,7–10,4)	8,2 (5,1–13,0)	8,7 (7,3–10,4)	9,1 (6,0–12,0)	8,6
Всего историй болезни	127	219	160	312	818

Примечание. n — число больниц в регионе, где был проведен аудит.

По каждому индикатору представлено среднее значение, в скобках указаны минимальное и максимальное значение. Значение индикатора представляет собой долю пациентов из числа проанализированных историй болезни, у которых был выявлен негативный признак. Ключевой показатель характеризует долю пациентов, которые были госпитализированы необоснованно, при этом в их лечении отмечены полипрагмазия и необоснованное причинение боли.

ГКС — глюкокортикостероиды.

№ п/п	Получен, к. инвент.	Препарат	Торговое наименование	Форма выпуска, доза	Кол-во в лотке, шт.	Производитель, страна происхождения	Средняя стоимость	Кол-во
1	ЖОУБЛС		Литпапад 1М	Форма выпуска, доза: раствор для инфузий, 100 мг/мл в 100 мл флаконе	1	МЕЛКО МОНОПОЛ А/С, Дания	5367209	
2	ЖОУБЛС		Аксилон	раствор для инфузий, 100 мг/мл в 100 мл флаконе	10	БИОСИНТЕЗ ОАО ( Пенза, Россия)	131114	
3	ЖОУБЛС		Аксилон	раствор для инфузий, 100 мг/мл в 100 мл флаконе	20	Озон ООО, Россия	50215	
4	ЖОУБЛС		Лидокаин	раствор для инфузий, 20 мг/мл в 20 мл ампуле	10	ПАРТНЕР ЗАО (г. Москва, Россия)	520	
5	ЖОУБЛС		Налобин Сабтит	раствор для инфузий, 100 мг/мл в 100 мл флаконе	10	B. Braun Melsungen, Германия	1418083	
6	ЖОУБЛС		Полида для инфузий	раствор для инфузий, 100 мг/мл в 100 мл флаконе	10	ЭГИС ООО, Россия	101214	
7	ЖОУБЛС		Глисева	раствор для инфузий, 100 мг/мл в 100 мл флаконе	1	БИОСИНТЕЗ ОАО, Россия	321014	
8	ЖОУБЛС		Динатрон	раствор для инфузий, 100 мг/мл в 100 мл флаконе	10	Баскофарм ОАО, Россия	30814	
9	ЖОУБЛС		Динатрон	раствор для инфузий, 100 мг/мл в 100 мл флаконе	10	Вертекс ЗАО, Россия	321014	
10	ЖОУБЛС		Калия хлорид	раствор для инфузий, 100 мг/мл в 100 мл флаконе	1	Анафарма ООО (г. Ростов-на-Дону, Россия)	300515	
11	ЖОУБЛС		Лидокаин	раствор для инфузий, 20 мг/мл в 20 мл ампуле	10	БИОСИНТЕЗ ОАО (г. Пенза, Россия)	140204	
12	ЖОУБЛС		Магния сульфат	раствор для инфузий, 5 мг/мл в 100 мл флаконе	10	НОБСОЦИАЛБИОФАРМ ОАО, Россия	820914	
13	ЖОУБЛС		Натрия хлорид	раствор для инфузий, 0,9% в 200 мл флаконе	1	БИОСИНТЕЗ ОАО, Россия	1110215	
14	ЖОУБЛС		Насосметан	раствор для инфузий, 100 мг/мл в 100 мл флаконе	10	Фармастандарт-Лексредств ОАО, Россия	110315	

№ п/п	Получен, к. инвент.	Препарат	Торговое наименование	Форма выпуска, доза	Кол-во в лотке, шт.	Производитель, страна происхождения	Средняя стоимость	Кол-во
15			Палаверин	раствор для инфузий, 20 мг/мл (2%) 2 мл - ампл.	10	БИОСИНТЕЗ ОАО (г. Пенза, Россия)	710	
16	ЖОУБЛС		Парацетамол детский	суспензия для приема внутрь (для детей), 120 мг / 5 мл (24 мг/мл) 100 мл - фла. темного стекла (в комплекте с мерной ложкой)	1	Фармастандарт-Лексредств ОАО, Россия	5	
17	ЖОУБЛС		Регидрон	порошок для приготовления раствора для приема внутрь, 16,9 г - пакетик	20	ORBON Corporation, Финляндия		
18			Система для вливания инфузионных растворов	шт., с установленной иглой, воздушный клапаном и фильтром, игла 21G	1	Tajiri Medic Medical Equipment Co., Ltd., Китай		
19			Стопдидр	суспензия для приема внутрь, 220 мг/5 мл (44 мг/мл), фла. сортик-стекла (в комп. с ложкой дозированной)	1	Chebbon Richter Romania S.A., Румыния; Либл К. - Chebbon Richter Poland Co. Ltd., Польша; Вб РУ - Chebbon Richter Plc, Венгрия		
20	ЖОУБЛС		Цефепим-Дюодас	пор. для приготовления раствора для инфузий, 1000 мг (1 г) - фла.	1	Jodas Export Pvt. Ltd., Инд.		
21			Шприц инъекционный о/р 10Б ЛУЕР	шт., 10 мл (с иглой 0,8 x 40 мм)	1	ЦСКБ-Прогресс ФГУП ГПГРКЦ, г. Самара, Рос.		
22			Шприц инъекционный о/р 2-х детальный 5Б ЛУЕР	шт., 5 мл (с иглой 0,8 x 40 мм)	1	ЦСКБ-Прогресс ФГУП ГПГРКЦ, г. Самара, Рос.		
23			Шприц инъекционный однокр. прим. двухдетальный 2А ЛУЕР	шт., 2 мл (с иглой 0,6 x 25 мм)	1	ЦСКБ-Прогресс ФГУП ГПГРКЦ, г. Самара, Рос.		

Рис. Лист назначений из истории болезни ребенка с острой респираторной инфекцией в одной из больниц

значимым является и стоимость такого ненужного и неаргументированного лечения.

Необоснованное причинение боли детям характеризовалось применением большого числа внутримышечных инъекций (преимущественно антибиотиков), тогда как можно было использовать периферические венозные катетеры и тем самым сократить число болезненных процедур. Кроме того, необоснованную боль детям приносят и частые ненужные повторные заборы крови для анализа. Речь не идет, разумеется, о тех случаях, когда этого требует клиническая ситуация, но зачем нужно три-четыре раза брать общий или биохимический анализ крови, если первый был нормальным, и ребенок ко второму анализу уже выздоровел? Частота причинения необоснованной боли в наших больницах составляет от 61 до 77%.

Неадекватный мониторинг отмечался в 40–57% случаев и заключался в нарушении динамической оценки состояния детей, частом затягивании пребывания уже выздоровевших пациентов в больнице. Удивительным результатом нашего анализа была довольно высокая частота случаев, когда при поступлении не оценивалось физическое развитие детей, т.е. не измерялись весоростовые показатели — от 20 до 72%. При этом в некоторых стационарах этот показатель составлял все 100% (!).

Нерациональная инфузионная терапия имела место в 15–43% случаев. При этом речь идет о проведении так называемой дезинтоксикационной терапии детям с вирусными инфекциями, лихорадкой. Кроме того, практически ни в одном стационаре, куда госпитализируются дети с диареей, нам не удалось увидеть адекватного расчета объема инфузий. К нерациональной инфузионной терапии были отнесены и случаи переливания несоответствующих жидкостей: например, использование 5% раствора глюкозы для регидратации, инфузии электролитов без определения их уровня в сыворотке крови.

Нерациональная антибиотикотерапия составляет 61–77% во всех стационарах. Прежде всего, имеет место

необоснованное назначение антибиотиков большинству госпитализированных детей вне зависимости от установленного диагноза, в том числе и при вирусных инфекциях. Используются преимущественно препараты второго выбора, препараты резерва. Стартовым антибиотиком при этом в каждом регионе является цефалоспориин III поколения в форме внутримышечных повторных инъекций. Как показал аудит, пероральные антибиотики во многих стационарах вообще отсутствовали. Подобная практика существенно удорожает лечение; кроме того, она небезразлична и для формирования резистентности микробов к антибактериальным препаратам.

Избыточное использование глюкокортикостероидов выявлено в 12–26% случаев. Преимущественно эти препараты назначались детям с бронхитами, причем даже при отсутствии дыхательной недостаточности.

Ключевым показателем в нашем аудите была выбрана доля необоснованно госпитализированных детей, у которых в лечении имели место полипрагмазия и причинение необоснованной боли. Фактически этот показатель отражает нерациональное расходование ресурсов здравоохранения и нарушение прав детей. Доля таких пациентов в наших стационарах очень высока — от 22 до 45% в разных регионах.

Средняя продолжительность пребывания в круглосуточном стационаре госпитализированных с острой патологией детей превышает 1 неделю во всех больницах. Учитывая типичное течение наиболее распространенных болезней у большинства детей, можно предположить, что госпитализация во многих случаях является затянутой. Это многократно повышает риск внутрибольничной инфекции и удорожает лечение.

### Обсуждение

Представленные выше результаты аудита детских больниц в четырех регионах страны позволяют выделить различные проблемы, определяющие недостаточное качество стационарной помощи. Все они были обозначены выше. В обсуждении хотелось бы сделать акцент на следующих, на наш взгляд, ключевых проблемах оказания помощи детям.

#### 1. Низкая готовность к оказанию неотложной помощи в приемном и детском отделении

Прежде всего, сложившаяся в нашей стране система госпитализации в круглосуточный стационар предполагает лечение там не только находящихся в тяжелом или нестабильном состоянии, а вообще любых заболевших детей. Критерии госпитализации в большинстве случаев очень размытые, либо повсеместно нарушаются, что объясняет массовую госпитализацию в стационары детей с назофарингитами (насморками), ларинготрахеитами без стеноза гортани, простыми бронхитами без явлений дыхательной недостаточности. В некоторых регионах такая ситуация неизбежна в связи с особенностями оказания квалифицированной помощи в отдаленных малонаселенных территориях. Однако эта проблема не является глобальной для страны — необоснованная госпитализация высока и в больших городах с хорошо развитой сетью амбулаторных лечебно-профилактических учреждений.

Большинству госпитализируемых в стабильном состоянии детей не требуется оказания какой-либо неотложной помощи при поступлении. Приемные отделения осуществляют в основном функции регистрации поступающих больных. Вместе с тем основополагающим принци-

пом работы приемного отделения должно быть оказание как можно более быстрой помощи непосредственно при поступлении пациента.

Персонал приемного отделения должен проводить сортировку больных, обращающихся в стационар. Адекватная оценка тяжести состояния, выделение пациентов без неотложных и приоритетных признаков, перенаправление их в амбулаторное звено поможет сократить необоснованную госпитализацию в больницы.

Решение проблемы предполагает обучение персонала приемных отделений, дежурных врачей навыкам сортировки больных, оказания неотложной помощи. Организация в каждом приемном больничного кабинета неотложной помощи позволит начинать лечебно-диагностические мероприятия при первой необходимости. Список необходимых лекарственных средств и оборудования для таких кабинетов определен в рекомендациях ВОЗ. Кроме того, необходима четкая формулировка критериев госпитализации в стационар, что должно быть отражено в Федеральных клинических рекомендациях для врачей.

## 2. Ятрогенный риск

Как мы уже подчеркивали, безопасность лечения является неотъемлемым критерием качества оказания медицинской помощи. К ятрогенному риску следует отнести одновременное назначение большого количества лекарственных препаратов и причинение необоснованной боли детям. Не обсуждая здесь истоки такого массового распространения полипрагмазии в нашей стране, следует отметить, что проблема касается не только стационаров, но и амбулаторной педиатрической службы. В большинстве случаев полипрагмазию определяют лекарственные средства, не имеющие доказанной эффективности. Например, нет доказательной базы у антигистаминных препаратов, назначаемых при всех респираторных вирусных инфекциях, пневмониях, отитах, а также в составе «литической смеси» для снижения лихорадки. Популярны исключительно в РФ многочисленные иммуномодуляторы и противовирусные средства также в большинстве своем не имеют доказанной эффективности, хотя зачастую назначаются «от всех болезней».

Еще одной особенностью лечения в наших стационарах является широкое использование «оригинальных», но никем не проверившихся на предмет эффективности и безопасности комбинаций лекарственных препаратов: применение аминокaproновой кислоты интраназально и ректально, ингалирование «сложных смесей» из адреналина, супрастина, преднизолона, витамина (!) при крупах и бронхитах и т.д. В некоторых стационарах в разных регионах страны проводят кислородотерапию кислородом, увлажненным раствором фурацилина.

Другой составляющей ятрогенного риска является обилие ненужных болезненных процедур для детей. К ним следует отнести повторные множественные инъекции антибиотиков, антигистаминных препаратов, литических смесей, а также повторные, зачастую необоснованные диагностические инвазивные манипуляции. Так, повышение температуры до 38°C в домашних условиях не лечат уколом анальгина (для этого есть парацетамол), а в стационаре даже при такой температуре будет сделана инъекция литической смеси из трех лекарств. Среди врачей и, как следствие, среди родителей пациентов бытует мнение, что в стационаре нужно лечить только уколами, таблетки можно принимать и дома. Действительно, в стационаре должны находиться только те больные, которым требуются медицинские манипуляции — кислородотерапия, инфузии, инъекции и т.д. Однако, учитывая долю госпитализированных пациентов, которых можно было

бы лечить в амбулаторном режиме, очевидно, что ятрогенного риска у многих из них можно было бы избежать.

Решение данной проблемы, как и предыдущей, во многом может зависеть от обучения врачей и исполнения современных Федеральных клинических рекомендаций, основанных исключительно на принципах доказательной медицины. Кроме того, необходимо запретить недобросовестную рекламу лекарственных средств в больницах, пропагандирование отдельных лекарств самими медицинскими работниками вне зависимости от их статуса.

## 3. Нерациональная антибиотикотерапия

Антибиотики назначаются не менее чем в 2/3 случаев госпитализации детей с острой патологией. В подавляющем большинстве детских инфекционных больниц антибиотики получают до 100% пациентов вне зависимости от диагнозов. Проведенный аудит показал, что антибиотики получали все дети с установленным диагнозом бронхита, с диареей, а также с фебрильной лихорадкой любого генеза. Многочисленные беседы с врачами в разных регионах о причинах такого широкого назначения антибиотиков повсеместно выявляют одни и те же аргументы:

- «страшно лечить без антибиотика»;
- «а что тогда этот пациент делает в больнице»;
- «мама требует серьезного лечения».

Не комментируя эти объяснения, подчеркнем еще раз, что стартовым антибиотиком в 95% проанализированных нами случаев являлись цефалоспорины III поколения, в остальных — амикацин, имипенемы, цефалоспорины IV поколения (!). Пероральные антибиотики практически не использовались в наших стационарах (крайне редко — макролиды). Назначаемые таким образом цефтриаксон или цефотаксим вводят обычно курсом не менее 7–10 дней, в форме внутримышечных инъекций, причем даже цефтриаксон, который может использоваться однократно в сутки, зачастую дети получают до 2–3 раз в день. Эта проблема представляется одной из самых важных, учитывая растущую резистентность микробов к современным антибиотикам. Кроме того, подобная тактика ведения пациентов, до 80–90% которых имеют вирусную этиологию болезней, в значительной степени повышает стоимость лечения, болезненность лечения, сроки пребывания в стационаре, вероятность внутрибольничной инфекции.

Решение этой проблемы также видится в обучении врачей, жесткой регламентации терапевтической тактики Федеральными клиническими рекомендациями. Наши стационары во всех регионах без исключения имеют отличное лекарственное обеспечение. Перечень лекарственных препаратов в больницах определяется во многом предпочтениями самих врачей, что предполагает серьезную ответственность клинико-экспертных комиссий в стационарах, в силах которых пресечь необоснованное использование препаратов резерва, а также избыточное назначение лекарств.

## Заключение

Проведенный анализ результатов аудита детских стационаров в разных регионах страны выявил сходные проблемы, зачастую определяющие низкое качество оказания помощи детям. К ним относятся низкая готовность к оказанию неотложной помощи в приемных отделениях, высокая частота необоснованной госпитализации вследствие отсутствия четких критериев для пребывания детей в круглосуточном стационаре, крайне высокий уровень полипрагмазии и необоснованного болезнен-

ного лечения, избыточное и неадекватное применение антибактериальных препаратов и инфузионной терапии. Идентичность проблем в различных регионах страны позволяет продумать общую стратегию их преодоления, которая, очевидно, должна, прежде всего, подразумевать образование медицинского персонала, реструктуризацию коечного фонда с увеличением коек дневных стационаров, усиление клинико-экспертной работы в больницах. Выявленные проблемы в клинической практике в большинстве случаев могут быть устранены именно образовательными проектами, а не вложением дополнительных средств в детские стационары.

### Источник финансирования

Аудит лечебных учреждений проведен по инициативе экспертов ФГАУ «Научный центр здоровья детей» при поддержке Министерства здравоохранения РФ, поддержан распоряжениями локальных министерств и департаментов здравоохранения регионов Российской Федерации. Подготовка публикации осуществлена на личные средства авторов. Оплата публикации проведена за счет редакции журнала «Вестник РАМН».

### Конфликт интересов

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

#### О вкладе каждого автора в данную публикацию

Работа обобщает огромный труд больших коллективов врачей в четырех регионах РФ. Проведение аудитов и последующая образовательная деятельность в регионах, регулярный контроль за соблюдением данных в ходе аудитов рекомендаций подразумевает участие нескольких десятков инициативных и ответственных специалистов в каждой из заинтересованных территорий. В список авторов публикации включены только те эксперты, которые непосредственно участвовали в осуществлении проекта, начиная от его организации, заканчивая последующим мониторингом больниц (после проведения аудитов).

**Байбарина Е.Н.** — непосредственный координатор проекта от Министерства здравоохранения РФ.

**Баранов А.А. и Намазова-Баранова Л.С.** — руководители проекта от ведущего учреждения-инициатора в лице ФГАУ «НЦЗД» МЗ России.

**Куличенко Т.В.** — инициатор и основной исполнитель, координатор региональных проектов, непосредственный

руководитель всех экспертных команд в регионах, автор и исполнитель обучающих тренингов для врачей в регионах, проведенных по результатам аудита в каждой территории.

**Мухортова С.А.** — координатор проекта и непосредственный участник аудитов и тренингов в стационарах Ростовской области.

**Артемова И.В.** — координатор проекта и непосредственный участник аудитов и тренингов в стационарах Ханты-Мансийского автономного округа.

**Черников В.В. и Харькин А.В.** — координаторы проекта и непосредственные участники аудитов и тренингов в стационарах Вологодской области.

**Чистякова Е.Г.** — координатор проекта и непосредственный участник аудитов и тренингов в стационарах Ямало-Ненецкого автономного округа.

**Пискунова С.Г. и Беседина Е.А.** — инициаторы и непосредственные исполнители проекта в больницах Ростовской области, организаторы экспертных команд в данном регионе.

**Садовщикова А.Н. и Вологодина Е.Л.** — инициаторы и непосредственные исполнители проекта в больницах Вологодской области, организаторы экспертной команды в данном регионе.

**Юлдашев О.Р. и Капутская Т.Н.** — инициаторы и непосредственные исполнители проекта в больницах ХМАО, организаторы экспертной команды в данном регионе.

**Карипова Р.Ф.** — инициатор и непосредственный исполнитель проекта в больницах ЯНАО, организатор экспертной команды в данном регионе.

Таким образом, все авторы публикации имеют непосредственное отношение к проводимой в регионах работе, участвуют в организации и осуществлении проекта огромной важности в РФ.

### Выражение признательности

Данная публикация представляет первые результаты масштабного образовательного проекта в регионах РФ, имеющего целью изменение существующей клинической практики, приведение ее в соответствие с международными нормами и принципами доказательной медицины. Коллектив авторов выражает огромную признательность за сотрудничество и административную поддержку министерствам и департаментам здравоохранения регионов, где был проведен аудит больниц, а также всем врачам и персоналу пилотных больниц, участвовавшим в работе.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Health 2020: the European policy for health and well-being. [Internet] WHO Regional Office for Europe [updated 2015 May 12; cited 2016 May 19]. Available from: <http://www.euro.who.int/en/health-topics/health-policy/health-2020-the-european-policy-for-health-and-well-being>.
2. van den Broek NR, Graham WJ. Quality of care for maternal and newborn health: the neglected agenda. *BJOG*. 2009;116(1):18–21. doi: 10.1111/j.1471-0528.2009.02333.x.
3. UNICEF. *The state of the world's children 1998*. New York: Oxford University Press; 1998.
4. Nolan T, Angos P, Cunha AJ, et al. Quality of hospital care for seriously ill children in less-developed countries. *Lancet*. 2001;357(9250):106–110. doi: 10.1016/S0140-6736(00)03542-X.
5. Souza JP, Gulmezoglu AM, Vogel J, et al. Moving beyond essential interventions for reduction of maternal mortality (the WHO Multicountry Survey on Maternal and Newborn Health): a cross-sectional study. *Lancet*. 2013;381(9879):1747–1755. doi: 10.1016/S0140-6736(13)60686-8.
6. Tamburlini G, Siupsinskas G, Bacci A, et al. Quality of maternal and neonatal care in Albania, Turkmenistan and Kazakhstan: a systematic, standard-based, participatory assessment. *PLoS One*. 2011;6(12):e28763. doi: 10.1371/journal.pone.0028763.
7. Legido-Quigley H, McKee M, Nolte E, Glinos IA. *Assuring the quality of health care in the European Union. A case for action*. Cornwall: MPG Books Ltd; 2008. 238 p.

8. Øvretveit J. *What are the advantages and limitations of different quality and safety tools for health care?* Copenhagen: WHO Regional Office for Europe (Health Evidence Network report); 2005 [cited 2016 May 19]. Available from: <http://www.euro.who.int/document/e87577.pdf>.
9. Nair M, Yoshida S, Lambrechts T, et al. Facilitators and barriers to quality of care in maternal, newborn and child health: a global situational analysis through metareview. *BMJ Open*. 2014;4(5):e004749. doi: 10.1136/bmjopen-2013-004749.
10. Detrick Z, Firth S, Jimenez Soto E. Do strategies to improve quality of maternal and child health care in lower and middle income countries lead to improved outcomes? A review of the evidence. *PLoS One*. 2013;8(12):e83070. doi: 10.1371/journal.pone.0083070.
11. Duke T, Keshishyan E, Kuttumuratova A, et al. Quality of hospital care for children in Kazakhstan, Republic of Moldova, and Russia: systematic observational assessment. *Lancet*. 2006;367(9514):919–925. doi: 10.1016/S0140-6736(06)68382-7.

### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Куличенко Татьяна Владимировна**, доктор медицинских наук, профессор РАН, заведующая отделением неотложной педиатрии ФГАУ «НЦЗД» Минздрава России, профессор кафедры аллергологии и клинической иммунологии педиатрического факультета ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский проспект, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (499) 134-08-39, e-mail: Tkulichenko@yandex.ru

**Байбарина Елена Николаевна**, доктор медицинских наук, профессор, директор Департамента медицинской помощи детям и службы родовспоможения Министерства здравоохранения РФ

Адрес: 127994, ГСП-4, Москва, Рахмановский пер, д. 3, тел.: +7 (495) 627-24-00, e-mail: baibarina@mail.ru

**Баранов Александр Александрович**, академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, директор ФГАУ «НЦЗД» Минздрава России, заведующий кафедрой педиатрии с курсом детской ревматологии педиатрического факультета ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский проспект, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (499) 134-70-01, e-mail: baranov@nczd.ru

**Намазова-Баранова Лейла Сеймуровна**, член-корреспондент РАН, доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора ФГАУ «НЦЗД» Минздрава России по научной работе, директор НИИ педиатрии, заведующая кафедрой аллергологии и клинической иммунологии педиатрического факультета ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский проспект, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (499) 134-70-01, e-mail: namazova@nczd.ru

**Пискунова Светлана Геннадьевна**, кандидат медицинских наук, главный врач ГБУ Ростовской области «Областная детская клиническая больница»

Адрес: 344015, Ростов-на-Дону, ул. 339-й Стрелковой Дивизии, д. 14, тел.: +7 (863) 222-66-12, e-mail: odbrnd@donpac.ru

**Беседина Елена Алексеевна**, кандидат медицинских наук, доцент кафедры детских болезней № 1 ГБУ ВПО «Ростовский государственный медицинский университет», эксперт ТФОМС Ростовской области

Адрес: 344015, Ростов-на-Дону, ул. 339-й Стрелковой Дивизии, д. 14, тел.: +7 (863) 222-66-12, e-mail: odbrnd@donpac.ru

**Садовщикова Анна Николаевна**, заместитель главного врача по педиатрии БУЗ ВО «Вологодская областная детская клиническая больница»

Адрес: 160022, Вологда, Пошехонское шоссе, д. 31, тел.: +7 (8172) 71-26-17, e-mail: vodb2003@mail.ru

**Юлдашев Олег Русланджанович**, главный врач БУ Ханты-Мансийского автономного округа «Нижневартовская окружная клиническая больница»

Адрес: 628609, Ханты-Мансийский автономный округ — Югра, Тюменская обл., Нижневартовск, ул. Северная, д. 30, тел.: +7 (3466) 49-26-26, e-mail: glvrach@odbhmao.ru

**Мухортowa Светлана Анатольевна**, врач-педиатр отделения неотложной педиатрии ФГАУ «НЦЗД» Минздрава России

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский проспект, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (499) 134-08-39, e-mail: sveta-mukhortova@yandex.ru

**Артемова Инга Витальевна**, врач-педиатр отделения неотложной педиатрии ФГАУ «НЦЗД» Минздрава России

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский проспект, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (499) 134-08-39, e-mail: sko-inga@yandex.ru.

**Черников Владислав Владимирович**, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории социальной педиатрии ФГАУ «НЦЗД» Минздрава России

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский проспект, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (499) 783-55-96, e-mail: chernikov@nczd.ru

**Харькин Андрей Валерьевич**, доктор медицинских наук, врач анестезиолог-реаниматолог отделения реанимации и интенсивной терапии ФГАУ «НЦЗД» Минздрава России

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский проспект, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (985) 255-12-76, e-mail: andrey.kharkin@hotmail.com

**Чистякова Евгения Геннадьевна**, кандидат медицинских наук, доцент, заместитель декана педиатрического факультета ГБОУ ВПО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России, ведущий научный сотрудник ревматологического отделения ФГАУ «НЦЗД» Минздрава России

Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский проспект, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (499) 134-02-98, e-mail: chistyakova@nczd.ru

**Капутская Тамара Николаевна**, заместитель главного врача по организационно-методической работе БУ Ханты-Мансийского автономного округа «Нижневартовская окружная клиническая больница», эксперт ТФОМС ХМАО

Адрес: 628609, Ханты-Мансийский автономный округ — Югра, Тюменская обл., Нижневартовск, ул. Северная, д. 30, тел.: +7 (3466) 49-26-06, e-mail: KaputskayaTN@odbhmao.ru

**Володина Елена Леонидовна**, заместитель начальника управления организации медицинской помощи и профилактики Департамента здравоохранения Вологодской области

Адрес: 160000, Вологда, ул. Предтеченская, д. 19, тел.: +7 (8172) 23-00-71 (доб. 1914), e-mail: detstvo@gov35.ru

**Кирипова Роза Фёдоровна**, начальник отдела контроля качества и безопасности медицинской помощи Департамента здравоохранения Ямало-Ненецкого автономного округа

Адрес: 629008, Ямало-Ненецкий автономный округ, Салехард, ул. Республики, д. 72, тел.: +7 (3492) 24-04-20, e-mail: kiripova@dpr.yamalzdrazv.ru

## Ультрафиолетовый кросслинкинг роговицы

*В обзоре представлены основные сведения об ультрафиолетовом кроссликинге (шивании) роговицы. Метод нашел широкое применение в офтальмологии, а именно в лечении различных видов кератэктазий, для которых характерны прогрессирующие дистрофические изменения роговой оболочки, связанные с ее истончением, нередко помутнением и рубцеванием, что приводит к значительному снижению остроты зрения. Кросслинкинг основан на ультрафиолетовом облучении роговицы при длине волны 370 нм (УФ-А) с использованием рибофлавина, вызывающем интракорнеальные фотохимические взаимодействия. В результате процедуры сшивания коллагена отмечается увеличение прочностно-механических свойств роговицы, замедление прогрессирования заболевания. В статье отображены как этапы разработки метода, так и способы его выполнения, сферы клинического применения; описаны особенности происходящих биомеханических, биохимических, морфологических и ультраструктурных изменений в роговице, вызванных рибофлавин-УФ-А-индуцированным сшиванием.*

**Ключевые слова:** ультрафиолетовый кросслинкинг, роговица, кератоконус, рибофлавин.

*(Для цитирования:* Бикбов М.М., Халимов А.Р., Усубов Э.Л. Ультрафиолетовый кросслинкинг роговицы. *Вестник РАМН.* 2016;71(3):224–232. doi: 10.15690/vramn562)

### Актуальность

Во всем мире ежегодно отмечается значительный рост заболеваний роговицы, сопровождающихся деструктивными изменениями коллагена в ее составе, что связывают с ухудшением экологии, интенсификацией глазной хирургии, травмами глаза, а также с увеличившимся числом офтальмоинфекций [1]. В Российской Федерации на больных с заболеваниями роговицы приходится до 18% общего числа слепых и слабовидящих [2].

В основе кератэктазий, в частности кератоконуса, лежит прогрессирующая деграляция коллагеновой структуры роговицы и, соответственно, снижение ее прочностно-механических свойств, приводящие к помутнению, нередко рубцеванию и значительному снижению остроты зрения. Как правило, это билатеральный патологический процесс, чаще наблюдаемый у лиц молодого трудоспособного возраста. Качественные и количественные изменения состава коллагена органа зрения, отрицательно сказываясь на его структуре, проявляются в различных сочетаниях симптоматики болезни.

Этиология кератоконуса считается многофакторной и наряду с вышеуказанными причинами включает также наследственную, эндокринную, аллергическую, имму-

нологическую и другие теории, среди которых наиболее признанной у специалистов считается генетическая гипотеза [3]. Несомненно, в пользу этого свидетельствуют семейные случаи заболевания, а также их сочетание с некоторыми наследственными синдромами. Так, по данным мультицентрового проспективного исследования CLERK (США), генетические формы кератоконуса были выявлены в 13,5% случаев [4].

В последнее десятилетие так называемый инжиниринг тканей, базирующийся на процессах фотополимеризации, стали использовать для лечения широкого спектра заболеваний. В частности, с целью укрепления роговой оболочки глаза при хронических дегенеративных процессах успешно применяется ультрафиолетовый (УФ) кросслинкинг роговицы (UV Corneal Crosslinking, CXL), основанный на ее облучении при длине волны 370 нм с использованием светочувствительного рибофлавина [5].

Кросслинкинг (перекрестное связывание, или сшивание) способствует стабилизации биомеханических свойств роговицы за счет увеличения количества связей между фибриллами стромального коллагена, кератоцитами и белками межклеточной адгезии посредством рибофлавин-УФ-индуцируемых фотохимических реакций [5–8].

М.М. Bikbov, A.R. Khalimov, E.L. Usubov

The Ufa Eye Research Institute, Ufa, Russian Federation

### Ultraviolet Corneal Crosslinking

*This review presents basic information on UV corneal crosslinking. The method is widely used in ophthalmology to treat various types of ectasia, which are characterized by progressive degenerative changes in the cornea, associated with its thinning, hazing and scarring, which leads to a significant reduction in visual acuity. Crosslinking is based on ultraviolet (UV) irradiation of the cornea wavelength 370 nm in the presence of riboflavin, leading to photochemical intracorneal interactions. As a result of crosslinking of collagen treatments, an increase of strength and mechanical properties of the cornea, stops the progression of the disease. The article displays the steps of the method development and the ways of its implementation are described especially occurring biomechanical, biochemical, morphological and ultrastructural changes, as well as the main areas of clinical application of riboflavin-UV-A-induced crosslinking of cornea.*

**Key words:** UV crosslinking, cornea, keratoconus, riboflavin.

*(For citation:* Bikbov M.M., Khalimov A.R., Usubov E.L. Ultraviolet Corneal Crosslinking. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences.* 2016;71(3):224–232. doi: 10.15690/vramn562)

## Ультрафиолетовый кросслинкинг роговичного коллагена

### Механизм УФ-кросслинкинга

Как известно, наиболее выраженное действие на живой организм и глаз в частности оказывает коротковолновая область света, а именно ультрафиолетовое излучение, диапазон длин волн которого делят на три части:

- УФ-А — 315–400 нм;
- УФ-В — 280–315 нм;
- УФ-С — 100–280 нм.

Отметим, что земной поверхности достигают УФ-лучи с длиной волны более 290 нм (УФ-А и УФ-В), избыточное воздействие которых на незащищенный орган зрения может служить причиной развития катаракты и заболеваний макулярной области сетчатки [9, 10].

Используемая для СХЛ плотность УФ-излучения при длине волны 370 нм составляет 5,4 Дж/см<sup>2</sup>, что соответствует 3 мВт/см<sup>2</sup>. При этом интенсивность облучения после абсорбции в слоях роговицы толщиной около 400 мкм, насыщенной рибофлавином, снижается до 0,18 мВт/см<sup>2</sup> [11, 12]. В качестве фотосенсибилизатора при проведении кросслинкинга, прежде всего в силу своей безопасности, был предложен рибофлавин — витамин В<sub>2</sub>. Основная роль препарата при перекрестном сшивании коллагена определяется его способностью за счет наличия хромофорных группировок повышать чувствительность тканей роговицы к действию ультрафиолетового излучения и индуцировать химические взаимодействия, а также, поглощая энергию излучения, оказывать протективное действие на внутриглазные структуры. Рибофлавин имеет два максимума абсорбции света — при 370 и 430 нм — и при облучении поглощает излучение заданной длины волны. Для воздействия на роговицу выбрано ультрафиолетовое излучение с  $\lambda=370$  нм, что связано с более высокой энергией кванта и значительно большей способностью к сшиванию коллагена.

Рибофлавинсенсибилизированное УФ-облучение генерирует образование свободных радикалов и активных форм кислорода, таких как супероксид-анион (O<sub>2</sub><sup>-</sup>), гидроксильный радикал (-ОН) и перекись водорода. Витамин В<sub>2</sub>, поглощая УФ-излучение, переходит в возбужденное состояние — сначала в синглетный рибофлавин-радикал, в последующем — в триплетный рибофлавин-радикал. Последний, взаимодействуя с молекулярным кислородом, образует его активные формы — триплетный и синглетный кислород [6]. Синглетный кислород — высокоактивный, естественный клеточный метаболит аэробных организмов, в зависимости от интенсивности его образования может оказывать как положительное, так патологическое воздействие.

А. McCall и соавт. убедительно доказывают, что рибофлавин, индуцирующий фотосенсибилизацию, фотоокисление и фотополимеризацию, классически связан с производством синглетного кислорода, который вступает во взаимодействие с доступными группами, в частности тирозина и гистидина, в составе коллагенов и протеогликанов стромы роговицы [13].

Кроме фотосенсибилизирующих свойств при УФ-А-облучении рибофлавин оказывает защитное действие на ткани роговицы. Так, при кератоконусе он способствует синтезу нормального межклеточного матрикса и снижению уровня оксидаз, активных форм кислорода (АФК) и, соответственно, АФК-ассоциированных нарушений [11, 14].

Следует отметить, что поглощение УФ-излучения стромой роговицы в присутствии рибофлавина составля-

ет около 30%, в то время как в сочетании с другими фотомедиаторами — 30–95% [15, 16]. Так, увеличение времени рибофлавин-УФ-А обработки свиных роговиц *ex vivo* не приводило к желаемому повышению биомеханических свойств корнеальных тканей. Напротив, продолжительное облучение способствовало структурному ослаблению роговиц [17]. Е. Sporel и соавт. показано, что повышение концентрации рибофлавина в строме обратно пропорционально степени связывания фибрилл коллагена [18]. При этом роговицу с рибофлавином следует рассматривать как двухсоставную систему: строма-рибофлавин и прекорнеальная рибофлавиновая пленка, которая является неотъемлемой частью процедуры кросслинкинга и играет важную роль в достижении дозирования УФ-А-излучения [19].

Опытным путем доказано, что стандартные параметры ультрафиолетового облучения в присутствии рибофлавина приводят к абсорбции ~ 90–95% энергии излучения, в том числе в роговице на глубине до 200 мкм — 65%, от 200 до 400 мкм — лишь 25–30%. Следовательно, структурные изменения в составе коллагена происходят в основном в верхних слоях роговицы [20].

### Морфологические изменения при УФ-кросслинкинге

Лечение кератоконуса методом СХЛ способствует улучшению организации ультраструктуры роговицы: увеличивается переплетение ламелей в передней строме, в средней строме упорядочивается чередование фибриллярных пластин — параллельно друг к другу. Иммуногистохимический анализ показал значительное увеличение диаметра волокон коллагена I типа УФ-А-сшитых роговиц по сравнению с таковыми при кератоконусе [21]. Диаметр коллагеновых фибрилл роговиц у пациентов с кератоконусом составляет 15–25 нм, а после СХЛ находится в диапазоне 20–30 нм. Интрафибрилярное расстояние в роговицах после сшивания соответствует нормальным значениям, хотя не исключено, что наблюдаемые изменения могут быть связаны с послеоперационным отеком роговицы. Экспериментально доказано, что в передней строме роговицы в зоне активного воздействия рибофлавина и УФ-А увеличение диаметра коллагеновых волокон более выражено по сравнению со средней и задней стромой [22]. По данным S. Choi и соавт., УФ-кросслинкинг донорских роговиц на моделях *in vitro* способствует увеличению диаметра фибриллярного коллагена (103%) и его плотности (112%) [23].

Существует тесная взаимосвязь между образованием коллагеновых фибрилл и содержанием основных протеогликанов (люмикан, кератокан, декорин), синтез которых после УФ-кросслинкинга нормализуется. Богатые лейцином протеогликаны, сшитые с коллагеном в системе *in vitro*, способны к защите от катаболизма матриксных металлопротеиназ (ММП). Показано, что коллагены I и IV типа, обработанные рибофлавин-УФ-А, становятся устойчивыми к действию ММП-1, ММП-2, ММП-9 и ММП-13 [24].

Следует отметить, что основные неблагоприятные морфологические последствия УФ-сшивания коллагена связаны с активацией апоптоза кератоцитов, наблюдаемого преимущественно в передней строме роговицы в течение первых 3 мес после процедуры. Данные конфокальной микроскопии пациентов с кератоконусом после СХЛ указывают на полную потерю суббазальных нервных сплетений и снижение количества передних стромальных кератоцитов в раннем послеоперационном периоде [25]. Через 3 мес зона усиленного клеточного апоптоза посте-

ленно заселяется кератоцитами, а через 6 мес их репопуляция полностью завершается [26].

В кератоцитах и эндотелиальных клетках роговиц после УФ-сшивания наряду с отсутствием ингибитора апоптоза Bcl-2 (Apoptosis Regulator Bcl-2) обнаружен проапоптозный белок Вах [27]. Н. Matalia и соавт. определили супрессию антиапоптозного Bcl-2 и активатора клеточной гибели Вах-белка в УФ-облученных *ex vivo* культивируемых лимбальных клетках эпителия; кроме этого, выявлена повышенная экспрессия ферментов клеточной гибели — каспазы 3 и 9. Примечательно, что в присутствии рибофлавина активация факторов апоптоза становится менее выраженной [28].

Кросслинкинг роговичного коллагена приводит к УФ-дозозависимому повреждению корнеальных кератоцитов на глубине до 300 мкм. Причем УФ-А-индуцированный апоптоз стромальных клеток в эксперименте выявлен уже через 24 ч после операции [29].

G. Wollensak и Н. Herbst описывают появление в передней строме (250 мкм) после рибофлавин-УФ-А сшивания роговицы глаза кролика *in vivo* характерного лакунарного отека, вызванного гибелью кератоцитов и являющегося причиной временного хейза (от англ. haze — легкий туман, дымка; субэпителиальный флер роговицы, помутнение стромы роговицы) [30]. Эти исследования подтверждены и клиническими наблюдениями: по данным конфокальной микроскопии, у пациентов с кератоконусом, пролеченных СХЛ в раннем послеоперационном периоде (до 7 дней), наблюдаются признаки эпителиопатии с полиморфизмом клеток базального эпителия. В передней строме (до 300 мкм) выявляется апоптоз кератоцитов, обуславливающий явления псевдохейза [31].

Использование HRT II конфокальной лазерной сканирующей микроскопии у пациентов после СХЛ позволило установить глубину сшивания стромального коллагена, которая определяется в виде разделительной демаркационной линии до 340 мкм. Стабильность этих морфологических результатов была подтверждена трехлетними наблюдениями [32].

Учитывая уже известные особенности УФ-сшивания, термин «кросслинкинг роговичного коллагена» не совсем верен: в сущности, правильным будет выражение «кросслинкинг роговицы», которое более объективно отражает механизм происходящих процессов.

### **УФ-кросслинкинг, протеиназная и термическая устойчивость**

Фотохимическое сшивание стромального коллагена свиньи повышает устойчивость роговицы к ферментативному расщеплению трипсином, пепсином, коллагеназой [18]. Лоскуты из свиных рибофлавин-УФ-А-обработанных роговиц, помещенные в раствор с коллагеназой А, сохраняют прочностные свойства не только в переднем слое 200 мкм, но и на глубине от 200 до 400 мкм [20].

Исследования Б.Э. Малогиной и соавт. показали, что донорские СХЛ-обработанные роговицы человека также обладают устойчивостью к действию коллагеназы, сохраняют компактное межламеллярное пространство и поперечную направленность пластин коллагена без признаков разрушения [33].

СХЛ-обработанные роговицы *in vitro* проявляют стойкость к воздействию повышенных температур, причем более высокая термостабильность была характерна для лоскутов передней, более сшитой стромы по сравнению с задней [34].

### **Биомеханика роговицы при УФ-кроссликинге**

Качественные изменения структурной организации роговичного коллагена, которые наблюдаются после ультрафиолетового кроссликинга, указывают на восстановление одной из важнейших функциональных особенностей роговицы — повышение ее биомеханических свойств, что является определяющим в остановке прогрессирования кератоконусов [35]. Изменяющаяся по времени интракорнеальная морфологическая трансформация, наблюдаемая после проведения кроссликинга, точно коррелирует с динамикой развития зрительных функций.

Известно, что в течение жизни жесткость человеческой роговицы увеличивается примерно в 2 раза. Это может быть связано с дополнительной возрастной неферментативной сшивкой, затрагивающей стромальные коллагеновые фибриллы [36]. Жесткость корнеальной ткани при кератоконусе составляет около 70% от прочностных свойств здоровой роговицы [37]. Н. Oxlund и А. Simonsen пришли к выводу, что снижение механической стабильности конусных роговиц не связано с изменениями в молекулярной структуре и аминокислотном составе коллагена [38]. По данным разных авторов, прочность коллагена зависит от диаметра образующих его волокон и длины фибрилл. Показано, что боковое межфибрилярное связывание представляет важным в формировании устойчивости при низкой деформации, в то время как линейное сцепление, приводящее к удлинению волокон, призвано обеспечивать прочностные свойства при высокой деформации [39].

Рибофлавин-УФ-А-индуцированное сшивание коллагена приводит к повышению механической прочности свиных роговиц более чем на 70%, человеческих — на 328%, при этом наблюдается увеличение коэффициента продольной упругости (модуля Юнга) в 1,8 и 4,5 раза, соответственно [40]. Долгосрочные результаты (8 мес) кроссликинга *in vitro* также демонстрируют значительное увеличение предела прочности, модуля упругости Юнга и уменьшение предельной деформации корнеальной ткани у кролика [41]. Показано, что кросслинкинг *ex vivo* в условиях изменения внутриглазного давления также улучшает биомеханику свиной роговицы [42] и человеческих донорских роговиц [43]. Установлено увеличение жесткости СХЛ-обработанных роговиц свиньи в основном в наружной строме (до 200 мкм), которая поглощает до 70% энергии УФ-А-излучения. Лоскут из средней стромы (от 200 до 400 мкм) уступает по прочности передней примерно в 1,5–2 раза [44]. Данные атомно-силовой микроскопии также указывают на то, что эффекты сшивания коллагена ограничиваются преимущественно передней стромой (до 200 мкм) и не распространяются на более глубокие области роговицы [45].

Показатели коэффициента резистентности и гистерезиса, описывающие эластичные свойства роговицы, у пациентов с кератоконусом снижены в сравнении с нормой. При этом установлена низкая корреляционная зависимость между толщиной роговицы и величиной гистерезиса, который может меняться в течение суток в результате изменений корнеальной гидратации. После УФ-сшивания величина эластичности роговицы становится еще меньше [46]. Тогда как, по сведениям М. Sedaghat и соавт., повышенная после кроссликинга жесткость роговиц не влияет на данные корнеального коэффициента резистентности и гистерезиса у пациентов до и через 6 мес после процедуры [47].

Установлено, что вследствие уплотнения стромального коллагена после СХЛ происходит снижение корне-

альной проницаемости для последующих инстилляций лекарственных препаратов, что необходимо учитывать при медикаментозной терапии сопутствующей офтальмопатологии пациентов с УФ-кросслинкингом в анамнезе [48].

Имеются сведения, что кросслинкингопосредованное изменение жесткости роговицы может влиять на точность измерений истинного внутриглазного давления (ВГД). Так, для послеоперационного периода (6 мес) характерно снижение ВГД, которое коррелирует с уменьшением корнеальной толщины, при этом некоторое восстановление размеров роговицы, как и значительное увеличение офтальмотонуса, наблюдается только через 12 мес после CXL, что может служить доказательством увеличения корнеальной резистентности к этому сроку [49].

### УФ-кросслиндинг и эндотелий роговицы

Применяемая для CXL мощность УФ-излучения ( $3 \text{ мВт/см}^2$ ) ниже известного порога повреждающего действия для эндотелия роговицы. Максимальное значение фотохимического ущерба для эндотелиальных клеток вследствие УФ-активации свободно-радикальных процессов составляет  $0,35 \text{ мВт/см}^2$ . В насыщенной рибофлавином роговице толщиной 400 мкм УФ-излучение способно достигнуть уровня эндотелия при мощности  $0,18 \text{ мВт/см}^2$ , что в 2 раза ниже критического значения [11, 50]. В исследованиях *in vitro* G. Wollensak с соавт. определен цитотоксический эффект рибофлавин-УФ сшивания для кератоцитов —  $0,5 \text{ мВт/см}^2$ . В клинических условиях при использовании стандартного метода CXL такое воздействие может наблюдаться на глубине роговицы до 300 мкм [12]. Продолжительные наблюдения пациентов с прогрессирующим кератоконусом после CXL стандартным способом неизменно демонстрируют стабильную плотность эндотелиальных клеток.

### Стандартный протокол УФ-кросслинкинга

Е. SroegI и соавт. при разработке кросслинкинга ориентировались на следующие основные критерии процедуры: ее умеренную продолжительность, сохранение прозрачности роговицы и достижение сшивающего эффекта исключительно в пределах корнеальных тканей. Предварительно в экспериментах были апробированы ультрафиолетовый свет с длиной волны 254 нм, синий свет 436 нм и даже солнечный свет. Была исследована и комбинация УФ-А-излучения (365 нм) с рибофлавином, которая оказалась наиболее эффективной по коллагенсшивающей способности. Это сочетание, ставшее впоследствии стандартом кросслинкинга, придавало максимальную жесткость роговице *ex vivo* [9]. Е. SroegI и соавт. изучали также возможность укрепления коллагена с использованием УФ-А-излучения (365 нм) мощностью  $2 \text{ мВт/см}^2$  [15, 51]. После многочисленных исследований оптимальными характеристиками ультрафиолетового кросслинкинга роговицы были признаны предварительное насыщение стромы 0,1% рибофлавином в течение 15 мин и последующее УФ-облучение при длине волны  $370 \pm 5$  нм и мощности  $3 \text{ мВт/см}^2$  в течение 30 мин. Эти параметры легли в основу техники наиболее безопасного и эффективного сшивания корнеального коллагена. Стандартный кросслиндинг, описанный в 2003 г. в Дрезденском протоколе, положил начало клиническому применению этой уникальной технологии [5]. Позже, в 2011 г., было предложено проводить предварительное стромальное насыщение в течение 30 мин [11].

При выполнении процедуры кросслинкинга источник облучения размещают примерно на расстоянии 1–2 см от поверхности роговицы. Вследствие рассеяния света (принцип Колера) происходит поступление незначительной части энергии излучения, недостаточной для лучевого поражения тканей глаза (эндотелий роговицы, хрусталик и сетчатка), находящихся по ходу лучей [18, 44].

Стандартный метод кросслинкинга состоит из трех этапов:

- первый — дезэпителизация роговицы глаза (Epi-Off);
- второй — насыщение стромы роговицы раствором рибофлавина в течение 30 мин;
- третий — ультрафиолетовое облучение роговицы ( $3 \text{ мВт/см}^2$ , 30 мин) длиной волны 370 нм с одновременными инстилляциями рибофлавина.

Состоятельность насыщения роговицы рибофлавином контролируется при биомикроскопии с кобальтовым (синим) светофильтром. По мнению К.М. Vottos и соавт., проводивших флуоресцентную микроскопию свиных роговиц, корнеальный эпителий может быть существенным препятствием на пути рибофлавина, предотвращая проникновение препарата в строму, не ограничивая при этом пропускания УФ-А. В свою очередь, недостаточная интрастромальная концентрация фотосенсибилизатора может привести к снижению эффекта кросслинкинга [52]. По данным оптической когерентной томографии, эффективность стромального проникновения рибофлавина *in vivo* при CXL зависит от характера и степени дезэпителизации роговицы [53].

Следует отметить, что удаление эпителия нередко сопровождается роговичным синдромом с выраженным болевым ощущением и дополнительно усугубляет состояние эктазированной роговицы. Кроме этого, дезэпителизация может служить потенциальным источником постоперационных инфекций.

Предложен способ доставки рибофлавина в строму донорских роговиц человека посредством дозированной скарификации корнеального эпителия, который по своей эффективности сопоставим с методом полной дезэпителизации [54]. Данная процедура, незначительно нарушающая целостность эпителия, является наиболее близкой к описанной ниже трансэпителиальной доставке рибофлавина в строму.

### Трансэпителиальный УФ-кросслиндинг

Усовершенствование процедуры обычного рибофлавин-УФ-А сшивания преследует цель снижения возможных осложнений, связанных со стандартным протоколом. В связи с этим предложен еще один способ проведения процедуры кросслинкинга, предполагающий доставку рибофлавина в строму с сохранением роговичного эпителия (Epi-On) — трансэпителиальный (TE-CXL). Существует множество модификаций выполнения TE-CXL, в частности многократное применение местных анестетических капель, позволяющее ослабить плотные соединения эпителиальных клеток роговицы, создание «сеткообразной» дезэпителизации, формирование центрального стромального кармана роговицы с помощью фемтосекундного лазера.

Трансэпителиальный CXL — менее болезненная для пациента процедура, при этом не происходит выраженной активации процессов постратрановой иммунобиохимической модуляции, снижается риск послеоперационных осложнений. К тому же сохраненный эпителий может служить дополнительным защитным барьером для УФ-А-воздействия, что позволяет проводить кросслиндинг роговиц толщиной менее 400 мкм. В силу явных достоинств

метода ведутся активные исследования совершенствования этой техники CXL и сфер ее применения [55].

М.М. Бикбовым и Г.М. Бикбовой предложен способ трансэпителиальной доставки рибофлавина в строму роговицы посредством электрофореза [56]. Имеются сведения о том, что использование ультразвука увеличивает насыщаемость рибофлавином интактной роговицы у кролика [57]. А. Kissner и соавт. ставят в прямую зависимость эффективность кросслинkinга от качества стромального насыщения рибофлавином, которое зависит от целостности эпителия или присутствия в растворе пенетраторов, облегчающих трансэпителиальную диффузию фотосенсибилизатора [58]. Транспорт рибофлавина через корнеальный эпителий можно осуществлять с использованием бензалкония хлорида, входящего, в частности, в состав ряда глазных капель в качестве консерванта. Бензалкония хлорид способствует «разрыхлению» стромы роговицы, облегчая тем самым проникновение рибофлавина. К.М. Vottos и соавт. на свиных глазах *ex vivo* продемонстрировали эффективность внутрикамерной инъекции рибофлавина, легко преодолевающего эндотелиальный барьер [52].

Традиционные исследования, данные топографии, пахиметрии и конфокальной микроскопии роговицы при использовании трансэпителиальной техники у детей с кератоконусом показывают схожую эффективность, сравнимую с показателями при стандартной методике. При этом неинвазивный характер процедуры и меньшее количество постоперационных осложнений свидетельствуют о ее преимуществе [59]. Для трансэпителиального сшивания коллагена нехарактерны такие обычные кросслинkinгиндуцированные изменения в роговице, как выраженный отек со значительным снижением плотности кератоцитов в передних отделах стромы, глубокая и стойкая гиперрефлективная стромальная линия [60].

Экспериментальные исследования Х. Тао и соавт. показали, что CXL-обработанные роговицы кроликов с сохраненным эпителием, так же как и сшитые стандартным способом, демонстрируют увеличение модуля Юнга и механической прочности, хотя и в несколько меньшей степени [61].

Потенциальные преимущества Epi-On-подхода значительны, однако на сегодняшний день не существует достаточных доказательств его эквивалентной эффективности методу Epi-Off. А по мнению ряда авторов, трансэпителиальная техника УФ-сшивания роговицы уступает стандартному методу кросслинkinга [62].

Сравнительное исследование различных способов пропитывания роговицы кроликов по уровню рибофлавина в строме и влаге передней камеры глаза с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии и ионизирующей масс-спектрометрии показало, что насыщение посредством ионофореза по своей эффективности превосходит обычную трансэпителиальную диффузию, но тем не менее уступает Epi-Off-технологии [63].

Z. Shalchi и соавт. проанализировали 773 публикации библиографической базы MEDLINE, посвященные стандартному и трансэпителиальному кросслинkinгу в сравнительном аспекте. В общей сложности эти исследования охватывали более 24 критериев и тестов, сопоставляющих обе методики. В итоге, совокупный обзор работ по проблеме свидетельствует об эффективности Epi-Off-кросслинkinга в прекращении прогрессирования кератоконуса, который можно принять за стандарт лечения, а также необходимости дальнейших исследований в области оценки этих способов терапии [64].

Таким образом, несмотря на достоинства трансэпителиальной техники кросслинkinга, функциональные преимущества стандартного способа сшивания роговицы не менее очевидны.

### **Рибофлавин и декстран в процедуре УФ-сшивания**

Первоначально для УФ-сшивания роговицы применяли раствор 0,1% рибофлавина. Позднее его стали использовать в комбинации с 20% декстраном молекулярной массой 450–550 kDa. В настоящее время многочисленные препараты с рибофлавином/декстраном под разными торговыми названиями нашли широкое применение в оптимизированной методике кросслинkinга.

Декстран — полимер глюкозы, полисахарид бактериального происхождения, продуцируемый из сахарозы бактериями *Leuconostoc mesenteroides*, — обладает детоксицирующими и противоотечными свойствами, обеспечивает вязкостные свойства раствора. Однако при использовании данного средства следует учитывать снижение влагосодержания роговицы, обусловленное влиянием полимера. J.M. Vueno и соавт. посредством мультифотонной микроскопии свиных и бычьих роговичных дисков выявили происходящие структурные изменения коллагена и прогрессивное снижение толщины роговиц до 280 мкм сразу после ее обработки рибофлавином/декстраном или в сочетании с УФ-А-воздействием [65]. У пациентов с кератоконусом при использовании рибофлавина/декстрана наиболее существенное снижение толщины роговицы по данным оптической когерентной томографии наблюдается в первые 10 мин инстилляций — примерно на 17% от исходных значений, что соответствует 80 мкм без учета дезэпителизации [66].

### **УФ-кросслинkinг тонких роговиц**

Как известно, критерии сшивания коллагена с использованием стандартного CXL требуют минимальной толщины роговицы 400 мкм. При этом использование изосолярного рибофлавина с декстраном способно привести к снижению толщины человеческой роговицы в среднем на 55 мкм продолжительностью около 30 мин. Однако все-таки возможен кросслинkinг при корневальной толщине 250–350 мкм за счет искусственного предоперационного отека роговицы, увеличивающего ее толщину до 60 мкм, гипосолярным раствором рибофлавина [67]. Предложена также оригинальная методика кросслинkinга тонких роговиц (350–400 мкм) с использованием контактных линз, пропускающих УФ-излучение [68].

### **Ускоренный УФ-кросслинkinг**

В настоящее время активно применяется ускоренная процедура CXL, при которой снижение продолжительности УФ-облучения компенсируется пропорциональным повышением ее мощности. S. Schumacher и соавт. доказали схожесть результатов испытаний прочностно-механических свойств свиных роговичных полос, сшитых ускоренным (9 мин, 10 мВт/см<sup>2</sup>) и традиционным (30 мин, 3 мВт/см<sup>2</sup>) методом [69]. Установлен аналогичный характер структурных изменений пластинок фибриллярного коллагена под воздействием нормального и ускоренного кросслинkinга свиных роговиц [70]. В целом оцениваются как положительные результаты наблюдений ускоренного CXL (3 мин, 30 мВт/см<sup>2</sup>) роговицы у кошек с кератомалацией [71]. Роговицы кроликов *in vivo*, насыщенные с помощью ионофореза и сшитые при 10 мВт/см<sup>2</sup> в течение 9 мин, исследованные по технологии ультразвукового сдвига, которая обеспечивает отображе-

ние упругости роговицы в режиме реального времени, обладали повышенной жесткостью и возросшим сопротивлением к давлению [72].

Сравнительное клиническое исследование среди пациентов с кератоконусом, один глаз которых был пролечен методом ускоренного CXL (15 мин, 7 мВт/см<sup>2</sup>), а другой — стандартного CXL (30 мин, 3 мВт/см<sup>2</sup>), показало схожие клинические результаты с точки зрения безопасности, эффективности и предсказуемости исходов лечения. У пациентов на обоих глазах наблюдалось улучшение остроты зрения и кератометрических параметров, при этом отсутствовали какие-либо побочные эффекты, в том числе признаки повреждения эндотелия [73].

Однако, существует мнение, что сокращение продолжительности УФ-облучения за счет увеличения его интенсивности отрицательно влияет на качество сшивания коллагена [18]. J. Wernli и соавт., исследовав биомеханику свиной роговицы, обработанной УФ-излучением по методу ускоренного сшивания в диапазоне от 3 до 90 мВт/см<sup>2</sup> и от 30 до 1 мин, соответственно, сделали заключение о различиях в эффективности кросслинкинга в пользу стандартного способа [74]. По данным атомно-силовой микроскопии, свиные роговицы, обработанные по Дрезденскому протоколу, в сравнении с ускоренным CXL (3 мин, 30 мВт/см<sup>2</sup>), обладают более высокой корнеальной жесткостью, демонстрируя существенное увеличение модуля Юнга, главным образом в передней области стромы роговицы [45]. На основании изучения техники ускоренного CXL в дозе 18 мВт/см<sup>2</sup> в течение 5 мин А.К. Singu и соавт. пришли к такому же заключению [75]. Было показано, что ускоренный, как и стандартный кросслиндинг повышает по сравнению с нормой устойчивость свиных роговиц к ферментативному расщеплению, однако лучшие результаты корнеальной резистентности обеспечивает все-таки традиционная техника сшивания [76].

Таким образом, до настоящего времени не принята единая техника ускоренного УФ-кросслинкинга, как и оспаривается его эффективность ввиду недостаточных экспериментальных и клинических наблюдений.

### **Возможности клинического применения УФ-кросслинкинга**

Многочисленные клинические наблюдения, проведенные к настоящему времени, показали высокую эффективность ультрафиолетового кросслинкинга коллагена роговицы. Процедура УФ-сшивания коллагеновых фибрилл позволяет стабилизировать биомеханические и топографические показатели роговицы, приостановить прогрессирование заболевания, добиться позитивной динамики изменения некорригированной и корригированной остроты зрения, а также уплощения роговицы с уменьшением среднего сферического коэффициента рефракции, существенно повысить качество жизни пациентов.

Данные о росте заболеваемости кератоконусом в педиатрической практике способствовали применению этой методики у детей. Было установлено более агрессивное течение болезни в детском возрасте, при котором запущенные стадии кератоконуса выявлялись в 3 раза чаще, чем у взрослых [77]. Использование УФ-кросслинкинга у детей показало безопасность этой техники при ее высокой эффективности. Исход лечения характеризовался существенным улучшением функциональных показателей, основанных на специфичных морфологических изменениях в роговице [78]. Хорошие результаты продемонстрировала транспицеллярная

техника CXL, выполненная у подростков от 10 до 18 лет с помощью ионофореза в ускоренном режиме облучения (5 мин, 10 мВт/см<sup>2</sup>) [79].

Накоплен опыт применения кросслинкинга у пациентов с буллезной кератопатией [80]. Положительные результаты УФ-сшивания поврежденных роговиц в эксперименте положили начало новому способу лечения корнеальных ранений [81]. Показано, что комбинация УФ-А и рибофлавина ингибирует бактериальный рост и несет потенциальные возможности лечения инфекционных кератитов [82]. Кросслиндинг в сочетании с имплантацией роговичных колец или сегментов способствует существенному повышению рефракционных результатов [83]. Имеются данные, что УФ-сшивание комбинируют с лазерным кератомилезом LASIK [84]. Кросслиндинг используют для обработки биосинтетических роговичных имплантов и донорской роговицы с целью последующей кератопластики [85, 86]. Предложен локальный (секторальный) CXL роговицы как способ повышения стабильности и остроты зрения у пациентов с радиальной кератотомией в анамнезе [87]. Рибофлавин-УФ-А кросслиндинг успешно применяют для повышения биомеханических свойств гидрогелей из внеклеточного матрикса, используемых в тканевой инженерии [88].

Совершенствование методики УФ-кросслинкинга включает оптимизацию клинических протоколов и расширение показаний к ее применению. Использование этой уникальной, относительно новой медицинской технологии, позволяющей эффективно воздействовать на патогенетические механизмы развития ряда заболеваний роговой оболочки, способствовало созданию целого направления в офтальмологии, основанного на фотохимическом сшивании коллагена роговицы.

### **Заключение**

Сведения, представленные в настоящем обзоре, указывают на многообразие иммунобиохимических, морфофункциональных, ультраструктурных и биомеханических изменений роговицы, обусловленных УФ-сшиванием корнеального коллагена. При этом завершенность процесса ультрафиолетового кросслинкинга роговицы характеризуется:

- увеличением толщины коллагеновых волокон [22];
- возрастанием жесткости и модуля упругости роговицы [9, 40, 44];
- увеличением устойчивости к процессам ферментативного разложения [18, 20, 33];
- повышением устойчивости к воздействию температуры [34];
- образованием макромолекулярных зон в стромальном коллагене [89];
- уменьшением корнеальной проницаемости [48].

Наряду с совершенствованием самой техники УФ-кросслинкинга расширяются сферы применения и спектр показаний к его проведению, что связано с очевидной простотой метода, его малой инвазивностью, сочетающейся с высокой эффективностью. В настоящее время ведутся активные исследования новых потенциальных возможностей этой технологии на основе изучения механизмов ее биологического действия. Открываются дополнительные перспективы применения ультрафиолетового кросслинкинга в клинической медицине, физиотерапии, молекулярной биологии и биотехнологии.

### Источник финансирования

Исследование выполнено при полном финансовом обеспечении ГБУ «Уфимский научно-исследовательский институт глазных болезней Академии наук Республики Башкортостан».

### Конфликт интересов

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

**Вклад авторов в подготовку рукописи:** концепция написания и дизайн обзора, внесение принципиальных изменений в содержание статьи — М.М. Бикбов; подготовка текста статьи, оформление, редактирование — А.Р. Халимов, Э.Л. Усубов; окончательное утверждение версии статьи — М.М. Бикбов.

### Выражение признательности

Авторы выражают искреннюю благодарность профессору G. Wollensak (Германия) за сотрудничество.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Слонимский А.Ю. Тактика ведения больных при остром кератоконусе // *PMЖ. Клиническая офтальмология*. — 2004. — Т. 5. — №2 — С. 75–77. [Slonimskii AYU. Tactic of conducting patients with acute keratoconus. *RMZh. Klinicheskaya oftalmologiya*. 2004;5(2):75–77. (In Russ).]
2. Мороз З.И., Тахчиди Х.П., Калинин Ю.Ю., и др. *Современные аспекты кератопластики*. В кн.: *Федоровские чтения: Сборник научных трудов*. — М.; 2004. — С. 280–288. [Moroz ZI, Takhchidi KhP, KalinnikovYuYu, et al. *Sovremennye aspekty keratoplastiki*. In: *Fedorovskie chteniya: Sbornik nauchnykh trudov*. Moscow; 2004. p. 280–288. (In Russ).]
3. Gordon-Shaag A, Millodot M, Shneur E, Liu Y. The genetic and environmental factors for keratoconus. *Biomed Res Int*. 2015;2015:795738. doi: 10.1155/2015/795738.
4. Zadnik K, Barr JT, Edrington TB, et al. Baseline findings in the Collaborative Longitudinal Evaluation of Keratoconus (CLEK) study. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 1998;39(13):2537–2546.
5. Wollensak G, Spoerl E, Seiler T. Riboflavin/ultraviolet-a-induced collagen crosslinking for the treatment of keratoconus. *Am J Ophthalmol*. 2003;135(5):620–627. doi: 10.1016/S0002-9394(02)02220-1.
6. Spoerl E, Mrochen M, Sliney D, et al. Safety of UVA-riboflavin cross-linking of the cornea. *Cornea*. 2007;26(4):385–389. doi: 10.1097/ico.0b013e3180334f78.
7. Spoerl E, Raiskup-Wolf F, Pillunat LE. Biophysical principles of collagen cross-linking. *Klin Monbl Augenheilkd*. 2008;225(2):131–137. (In German). doi: 10.1055/s-2008-1027221.
8. Koller T, Seiler T. Therapeutische quervernetzung der hornhautmittels UVA und riboflavin. *Klin Monbl Augenheilkd*. 2007;224(9):700–706. (In German). doi: 10.1055/s-2007-963492.
9. Spoerl E, Huhle M, Seiler T. Induction of cross-links in corneal tissue. *Exp Eye Res*. 1998;66(1):97–103. doi: 10.1006/exer.1997.0410.
10. Ньюсэм П.Р., Ромеу М.Л., Сегьюти М. и др. Повреждающее действие ультрафиолетового и видимого света на глаза // *Вестник оптометрии*. — 2007. — №3 — С. 53–60. [Newsome PR, Romeu ML, Seguiti M, et al. The effects of ultraviolet and visible light on the eye. *Vestnik optometrii*. 2007;(3):53–60. (In Russ).]
11. Spoerl E, Hoyer A, Pillunat LE, Raiskup F. Corneal cross-linking and safety issues. *Open Ophthalmol J*. 2011;5:14–16. doi: 10.2174/1874364101105010014.
12. Wollensak G, Spoerl E, Reber F, Seiler T. Keratocyte cytotoxicity of riboflavin/UVA-treatment in vitro. *Eye (Lond)*. 2004;18(7):718–722. doi: 10.1038/sj.eye.6700751.
13. McCall AS, Kraft S, Edelhauser HF, et al. Mechanisms of corneal tissue CXL in response to treatment with topical riboflavin and long-wavelength ultraviolet radiation (UVA). *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2010;51(1):129–138. doi: 10.1167/iovs.09-3738.
14. Cheung IMY, McGhee CNJ, Sherwin T. Beneficial effect of the antioxidant riboflavin on gene expression of extracellular matrix elements, antioxidants and oxidases in keratoconic stromal cells. *Clin Exp Optom*. 2014;97(4):349–355. doi: 10.1111/cxo.12138.
15. Spoerl E, Seiler T. Techniques for stiffening the cornea. *J Refract Surg*. 1999;15(6):711–713.
16. Wollensak G, Spoerl E, Reber F, et al. Corneal endothelial cytotoxicity of riboflavin/UVA treatment in vitro. *Ophthalmic Res*. 2003;35(6):324–328. doi: 10.1159/000074071.
17. Lanchares E, del Buey MA, Cristobal JA, et al. Biomechanical property analysis after corneal collagen cross-linking in relation to ultraviolet A irradiation time. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 2011;249(8):1223–1227. doi: 10.1007/s00417-011-1674-0.
18. Spoerl E, Wollensak G, Seiler T. Increased resistance of crosslinked cornea against enzymatic digestion. *Curr Eye Res*. 2004;29(1):35–40. doi: 10.1080/02713680490513182.
19. Wollensak G, Aurich H, Wirbelauer C, Sel S. Significance of the riboflavin film in corneal collagen crosslinking. *J Cataract Refract Surg*. 2010;36(1):114–120. doi: 10.1016/j.jcrs.2009.07.044.
20. Schilde T, Kohlhaas M, Spoerl E, Pillunat LE. Enzymatic evidence of the depth dependence of stiffening on riboflavin/UVA treated corneas. *Ophthalmologie*. 2008;105(2):165–169. doi: 10.1007/s00347-007-1587-9.
21. Mencucci R, Marini M, Paladini I, et al. Effects of riboflavin/UVA corneal cross-linking on keratocytes and collagen fibres in human cornea. *Clin Experiment Ophthalmol*. 2010;38(1):49–56. doi: 10.1111/j.1442-9071.2010.02207.x.
22. Wollensak G, Wilsch M, Spoerl E, Seiler T. Collagen fiber diameter in the rabbit cornea after collagen crosslinking by riboflavin/UVA. *Cornea*. 2004;23(5):503–507. doi: 10.1097/01.ico.0000105827.85025.7f.
23. Choi S, Lee SC, Lee HJ, et al. Structural response of human corneal and scleral tissues to collagen cross-linking treatment with riboflavin and ultraviolet A light. *Lasers Med Sci*. 2013;28(5):1289–1296. doi: 10.1007/s10103-012-1237-6.
24. Zhang Y, Mao X, Schwend T, et al. Resistance of corneal RFUVA-cross-linked collagens and small leucine-rich proteoglycans to degradation by matrix metalloproteinases. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2013;54(2):1014–1025. doi: 10.1167/iovs.12-11277.
25. Jordan C, Patel DV, Abeysekera N, McGhee CN. In vivo confocal microscopy analyses of corneal microstructural changes in a prospective study of collagen cross-linking in keratoconus. *Ophthalmology*. 2014;121(2):469–474. doi: 10.1016/j.optha.2013.09.014.
26. Mazzotta C, Balestrazzi A, Traversi C, et al. Treatment of progressive keratoconus by riboflavin-UVA-induced cross-linking of corneal collagen: ultrastructural analysis by Heidelberg Retinal Tomograph II in vivo confocal microscopy in humans. *Cornea*. 2007;26(4):390–397. doi: 10.1097/ico.0b013e318030df5a.
27. Messmer EM, Meyer P, Herwig MC, et al. Morphological and immunohistochemical changes after corneal cross-linking. *Cornea*. 2013;32(2):111–117. doi: 10.1097/ICO.0b013e31824d701b.
28. Matalia H, Shetty R, Dhamodaran K, et al. Potential apoptotic effect of ultraviolet-A irradiation during cross-linking: a study on ex vivo cultivated limbal epithelial cells. *Br J Ophthalmol*. 2012;96(10):1339–1345. doi: 10.1136/bjophthalmol-2012-301811.

29. Wollensak G, Spoerl E, Wilsch M, Seiler T. Keratocyte apoptosis after corneal collagen cross-linking using riboflavin/UVA treatment. *Cornea*. 2004;23(1):43–49. doi: 10.1097/00003226-200401000-00008.
30. Wollensak G, Herbst N. Significance of the lacunar hydration pattern after corneal cross linking. *Cornea*. 2010;29(8):899–903. doi: 10.1097/ICO.0b013e3181ca3293.
31. Бикбова Г.М., Заболотная В.А. Гистоморфология роговицы в отдаленный период после кросслинкинга по поводу кератоконуса. Сборник научных трудов конференции с международным участием по офтальмохирургии «Восток-Запад». — Уфа: ДизайнПолиграфСервис; 2011. — С. 64–67. [Bikbova GM, Zabolotnaya VA. Histomorphology of the cornea in long-term follow-up after crosslinking for keratoconus. Collection of scientific papers of the Conference on Ophthalmosurgery with International Participation «East-West». Ufa: DizainPoligrafServis; 2011. p. 64–67. (In Russ).]
32. Mazzotta C, Traversi C, Baiocchi S, et al. Corneal healing after riboflavin ultraviolet-A collagen cross-linking determined by confocal laser scanning microscopy in vivo: early and late modifications. *Am J Ophthalmol*. 2008;146(4):527–533. doi: 10.1016/j.ajo.2008.05.042.
33. Малюгин Б.Э., Борзенко С.А., Мороз З.И., и др. Экспериментальное изучение ферментативной устойчивости донорской роговицы, обработанной по методике УФ-кросслинкинга // *Офтальмохирургия*. — 2014. — №1 — С. 20–23. [Malyugin BA, Borzenok SA, Moroz ZI, et al. Experimental study of a donor cornea UV cross-linking enzymatic stability. *Ophthalmosurgery*. 2014;(1):20–23. (In Russ).]
34. Spoerl E, Wollensak G, Dittter DD, Seiler T. Thermomechanical behavior of collagen-cross-linked porcine cornea. *Ophthalmologica*. 2004;218(2):136–140. doi: 10.1159/000076150.
35. Петров С.Ю., Подгорная Н.Н., Решикова В.С., и др. Исследование биомеханических свойств различных структур глаза: настоящее и перспективы // *Офтальмология*. — 2015. — Т. 12. — №1 — С. 8–14. [Petrov SY, Podgornaya NN, Reshchikova VS, et al. Ocular biomechanics study: current state and perspectives. *Ophthalmology*. 2015;12(1):8–14. (In Russ).]
36. Elsheikh A, Wang D, Brown M, et al. Assessment of corneal biomechanical properties and their variation with age. *Curr Eye Res*. 2007;32(1):11–19. doi: 10.1080/02713680601077145.
37. Andreassen TT, Simonsen AH, Oxlund H. Biomechanical properties of keratoconus and normal corneas. *Exp Eye Res*. 1980;31(4):435–441. doi: 10.1016/S0014-4835(80)80027-3.
38. Oxlund H, Simonsen AH. Biochemical studies of normal and keratoconus corneas. *Acta Ophthalmol*. 1985;63(6):666–669. doi: 10.1111/j.1755-3768.1985.tb01578.x.
39. Christiansen DL, Huang EK, Silver FH. Assembly of type I collagen: fusion of fibril subunits and the influence of fibril diameter on mechanical properties. *Matrix Biol*. 2000;19(5):409–420. doi: 10.1016/S0945-053X(00)00089-5.
40. Wollensak G, Spoerl E, Seiler T. Stress-strain measurements of human and porcine corneas after riboflavin-ultraviolet-A-induced cross-linking. *J Cataract Refract Surg*. 2003;29(9):1780–1785. doi: 10.1016/S0886-3350(03)00407-3.
41. Wollensak G, Iomdina E. Long-term biomechanical properties of rabbit cornea after photodynamic collagen crosslinking. *Acta Ophthalmol*. 2009;87(1):48–51. doi: 10.1111/j.1755-3768.2008.01190.x.
42. Kling S, Remon L, Perez-Escudero A, et al. Corneal biomechanical changes after collagen cross-linking for porcine eye inflation experiments. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2010;51(8):3961–3968. doi: 10.1167/iovs.09-4536.
43. Knox Cartwright NE, Tyrer JR, Marshall J. In vitro quantification of the stiffening effect of corneal cross-linking in the human cornea using radial shearing speckle pattern interferometry. *J Refract Surg*. 2012;28(7):503–508. doi: 10.3928/1081597X-20120613-01.
44. Kohlhaas M, Spoerl E, Schilde T, et al. Biomechanical evidence of the distribution of cross-links in corneas treated with riboflavin and ultraviolet A light. *J Cataract Refract Surg*. 2006;32(2):279–283. doi: 10.1016/j.jcrs.2005.12.029.
45. Dias J, Diakonis VF, Lorenzo M, et al. Corneal stromal elasticity and viscoelasticity assessed by atomic force microscopy after different cross linking protocols. *Exp Eye Res*. 2015;138:1–5. doi: 10.1016/j.exer.2015.06.015.
46. Braun E, Kanellopoulos J, Pe L, Jankov M. Riboflavin ultraviolet A-induced collagen cross-linking in the management of keratoconus. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2005;46(13):4964.
47. Sedaghat M, Naderi M, Zarei-Ghanavati M. Biomechanical parameters of the cornea after collagen crosslinking measured by waveform analysis. *J Cataract Refract Surg*. 2010;36(10):1728–1731. doi: 10.1016/j.jcrs.2010.06.056.
48. Stewart JM, Lee OT, Wong FF, et al. Cross-linking with ultraviolet-A and riboflavin reduces corneal permeability. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52(12):9275–9278. doi: 10.1167/iovs.11-8155.
49. Kasumovic SS, Mavija M, Kasumovic A, et al. Intraocular pressure measurements referring to the corneal thickness in keratoconic eyes after corneal crosslinking with riboflavin and ultraviolet A. *Med Arch*. 2015;69(5):334–338. doi: 10.5455/medarch.2015.69.334-338.
50. Wollensak G, Spoerl E, Wilsch M, Seiler T. Endothelial cell damage after riboflavin-ultraviolet-A treatment in the rabbit. *J Cataract Refract Surg*. 2003;29(9):1786–1790. doi: 10.1016/S0886-3350(03)00343-2.
51. Spoerl E, Schreiber J, Hellmund K, et al. Studies on the stabilization of the cornea in rabbits. *Ophthalmologe*. 2000;97(3):203–206. doi: 10.1007/s003470050515.
52. Bottos KM, Schor P, Dreyfuss JL, et al. Effect of corneal epithelium on ultraviolet-A and riboflavin absorption. *Arq Bras Oftalmol*. 2011;74(5):348–351. doi: 10.1590/S0004-27492011000500008.
53. Malhotra C, Shetty R, Kumar RS, et al. In vivo imaging of riboflavin penetration during collagen cross-linking with hand-held spectral domain optical coherence tomography. *J Refract Surg*. 2012;28(11):776–780. doi: 10.3928/1081597X-20121011-05.
54. Малюгин Б.Э., Измайлова С.Б., Шацких А.В., и др. Экспериментальное обоснование эффективности различных методов доставки рибофлавина в строму роговицы как начального этапа выполнения УФ-кросслинкинга // *Офтальмохирургия*. — 2014. — №1 — С. 24–29. [Malyugin BE, Izmaylova SB, Shatskikh AV, et al. Experimental rationales of the efficacy of different methods of riboflavin delivery into the corneal stroma as the initial step of corneal UV cross-linking. *Ophthalmosurgery*. 2014;(1):24–29. (In Russ).]
55. Filippello M, Stagni E, O'Brart D. Transepithelial corneal collagen crosslinking: bilateral study. *J Cataract Refract Surg*. 2012;38(2):283–291. doi: 10.1016/j.jcrs.2011.08.030.
56. Bikbova G, Bikbov M. Transepithelial corneal collagen cross-linking by iontophoresis of riboflavin. *Acta Ophthalmol*. 2014;92(1):30–34. doi: 10.1111/aos.12235.
57. Lamy R, Chan E, Zhang H, et al. Ultrasound-enhanced penetration of topical riboflavin into the corneal stroma. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2013;54(8):5908–5912. doi: 10.1167/iovs.13-12133.
58. Kissner A, Spoerl E, Jung R, et al. Pharmacological modification of the epithelial permeability by benzalkonium chloride in UVA/Riboflavin CXL. *Curr Eye Res*. 2010;35(8):715–721. doi: 10.3109/02713683.2010.481068.
59. Magli A, Forte R, Tortori A, et al. Epithelium-off corneal collagen cross-linking versus transepithelial cross-linking for pediatric keratoconus. *Cornea*. 2013;32(5):597–601. doi: 10.1097/ICO.0b013e31826cf32d.
60. Mastropasqua L, Nubile M, Lanzini M, et al. Morphological modification of the cornea after standard and transepithelial corneal cross-linking as imaged by anterior segment optical coherence tomography and laser scanning in vivo confocal microscopy. *Cornea*. 2013;32(6):855–861. doi: 10.1097/ICO.0b013e3182844c60.
61. Tao X, Yu H, Zhang Y, et al. Role of corneal epithelium in riboflavin/ultraviolet-A mediated corneal cross-linking treatment in rabbit eyes. *Biomed Res Int*. 2013;2013:624563. doi: 10.1155/2013/624563.
62. Koppen C, Wouters K, Mathysen D, et al. Refractive and topographic results of benzalkonium chloride-assisted transepithelial crosslinking. *J Cataract Refract Surg*. 2012;38(6):1000–1005. doi: 10.1016/j.jcrs.2012.01.024.
63. Novruzlu S, Turku UO, Kvrak I, et al. Can riboflavin penetrate stroma without disrupting integrity of corneal epitheli-

- um in rabbits? Iontophoresis and ultraperformance liquid chromatography with electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Cornea*. 2015;34(8):932–936. doi: 10.1097/ICO.0000000000000438.
64. Shalchi Z, Wang X, Nanavaty MA. Safety and efficacy of epithelium removal and transepithelial corneal collagen crosslinking for keratoconus. *Eye (Lond)*. 2015;29(1):15–29. doi: 10.1038/eye.2014.230.
65. Bueno JM, Gualda EJ, Giakoumaki A, et al. Multiphoton microscopy of ex vivo corneas after collagen cross-linking. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52(8):5325–5331. doi: 10.1167/iovs.11-7184.
66. Mazzotta C, Caragiuli S. Intraoperative corneal thickness measurement by optical coherence tomography in keratoconic patients undergoing corneal collagen cross-linking. *Am J Ophthalmol*. 2014;157(6):1156–1162. doi: 10.1016/j.ajo.2014.02.042.
67. Kaya V, Utine CA, Yilmaz OF. Intraoperative corneal thickness measurements during corneal collagen cross-linking with hypoosmolar riboflavin solution in thin corneas. *Cornea*. 2012;31(5):486–490. doi: 10.1097/ico.0b013e31821e4286.
68. Jacob S, Kumar DA, Agarwal A, et al. Contact lens-assisted collagen cross-linking (CACXL): A new technique for cross-linking thin corneas. *J Refract Surg*. 2014;30(6):366–372. doi: 10.3928/1081597X-20140523-01.
69. Schumacher S, Oeftiger L, Mrochen M. Equivalence of biomechanical changes induced by rapid and standard corneal cross-linking, using riboflavin and ultraviolet radiation. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2011;52(12):9048–9052. doi: 10.1167/iovs.11-7818.
70. McQuaid R, Li J, Cummings A, et al. Second-harmonic reflection imaging of normal and accelerated corneal crosslinking using porcine corneas and the role of intraocular pressure. *Cornea*. 2014;33(2):125–130. doi: 10.1097/ICO.0000000000000015.
71. Famose F. Evaluation of accelerated collagen cross-linking for the treatment of melting keratitis in ten cats. *Vet. Ophthalmol*. 2015;18(2):95–104. doi: 10.1111/vop.12112.
72. Touboul D, Gennisson JL, Nguyen TM, et al. Supersonic shear wave elastography for the in vivo evaluation of transepithelial corneal collagen cross-linking. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2014;55(3):1976–1984. doi: 10.1167/iovs.13-13445.
73. Kanellopoulos AJ. Long term results of a prospective randomized bilateral eye comparison trial of higher fluence, shorter duration ultraviolet A radiation, and riboflavin collagen cross linking for progressive keratoconus. *Clin Ophthalmol*. 2012;6:97–101. doi: 10.2147/OPTH.S27170.
74. Wernli J, Schumacher S, Spoerl E, Mrochen M. The efficacy of corneal cross-linking shows a sudden decrease with very high intensity UV light and short treatment time. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2013;54(2):1176–1180. doi: 10.1167/iovs.12-11409.
75. Cingu AK, Sogutlu-Sari E, Cinar Y, et al. Transient corneal endothelial changes following accelerated collagen cross-linking for the treatment of progressive keratoconus. *Cutan Ocul Toxicol*. 2014;33(2):127–131. doi: 10.3109/15569527.2013.812107.
76. Aldahlawi NH, Hayes S, O'Brart DP, Meek KM. Standard versus accelerated riboflavin-ultraviolet corneal collagen crosslinking: resistance against enzymatic digestion. *J Cataract Refract Surg*. 2015;41(9):1989–1996. doi: 10.1016/j.jcrs.2015.10.004.
77. Leoni-Mesplie S, Mortemousque B, Touboul D, et al. Scalability and severity of keratoconus in children. *Am J Ophthalmol*. 2012;154(1):56–62. doi: 10.1016/j.ajo.2012.01.025.
78. McAnena L, O'Keefe M. Corneal collagen crosslinking in children with keratoconus. *J AAPOS*. 2015;19(3):228–232. doi: 10.1016/j.jaapos.2015.02.010.
79. Buzzonetti L, Petrocelli G, Valente P, et al. Iontophoretic transepithelial corneal cross-linking to halt keratoconus in pediatric cases: 15-month follow-up. *Cornea*. 2015;34(5):512–515. doi: 10.1097/ICO.0000000000000410.
80. Бикбов М.М., Бикбова Г.М., Хабибуллин А.Ф. Применение кросслинkinга роговичного коллагена в лечении буллезной кератопатии // *Офтальмохирургия*. — 2011. — №1 — С. 24–27. [Bikbov MM, Bikbova GM, Habibullin AF. Corneal collagen crosslinking management in bullous keratopathy treatment. *Ophthalmosurgery*. 2011;(1):24–27. (In Russ).]
81. Нероев В.В., Петухова А.Б., Гундорова Р.А., Оганесян О.Г. Влияние кросслинkinга на заживление экспериментальных хирургических ранений роговицы // *Практическая медицина*. — 2012. — №4–1. — С. 107–110. [Neroev VV, Petukhova AB, Gundorova RA, Oganesyanyan OG. Cross-linking effect on experimental surgical corneal wounds healing. *Prakticheskaya meditsina*. 2012;(4–1):107–110. (In Russ).]
82. Martins SA, Combs JC, Noguera G, et al. Antimicrobial efficacy of riboflavin/UVA combination (365 nm) in vitro for bacterial and fungal isolates: a potential new treatment for infectious keratitis. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2008;49(8):3402–3408. doi: 10.1167/iovs.07-1592.
83. Бикбов М.М., Бикбова Г.М. Результаты лечения кератоконуса методом имплантации интрастромальных роговичных колец MyoRing в сочетании с кросслинkinгом роговичного коллагена // *Офтальмохирургия*. — 2012. — №4. — С. 6–9. [Bikbov MM, Bikbova GM. Intrastromal corneal MyoRings with corneal collagen cross-linking in keratoconus treatment. *Ophthalmosurgery*. 2012;(4):6–9. (In Russ).]
84. Celik HU, Alagoz N, Yildirim Y, et al. Accelerated corneal crosslinking concurrent with laser in situ keratomileusis. *J Cataract Refract Surg*. 2012;38(8):1424–1431. doi: 10.1016/j.jcrs.2012.03.034.
85. Wand K, Neuhann R, Ullmann A, et al. Riboflavin-UV-A crosslinking for fixation of biosynthetic corneal collagen implants. *Cornea*. 2015;34(5):544–549. doi: 10.1097/ICO.0000000000000399.
86. Ковшун Е.В., Мороз З.И., Власова В.А., Горохова М.В. Возможности использования кросслинkinг-модифицированного донорского материала для кератопластики и кератопротезирования // *Катарактальная и рефракционная хирургия*. — 2014. — Т. 14. — №1 — С. 27–31. [Kovshun EV, Moroz ZI, Vlasova VA, Gorohova MV. The possibility of using cross-linking modified donor material for keratoplasty and keratoprosthesis. *Kataraktal'naya i refraktsionnaya khirurgiya*. 2014;14(1):27–31. (In Russ).]
87. Анисимов С.И., Пожарицкий М.Д., Ларионов Е.В. и др. Первый опыт коррекции прогрессирующего гиперметропического сдвига методом роговичного кросслинkinга у пациентов, перенесших в прошлом радиальную кератотомию // *Офтальмология*. — 2010. — Т. 7. — №4 — С. 5–8. [Anisimov SI, Pozaritskiy MD, Larionov EV, et al. First experience of progressive hyperopic shift correction by corneal crosslinking in patients after radial keratotomy. *Ophthalmology*. 2010;7(4):5–8. (In Russ).]
88. Ahearne M, Coyle A. Application of UVA-riboflavin crosslinking to enhance the mechanical properties of extracellular matrix derived hydrogels. *J Mech Behav Biomed Mater*. 2016;54:259–267. doi: 10.1016/j.jmbm.2015.09.035.
89. Wollensak G, Redl B. Gel electrophoretic analysis of corneal collagen after photodynamic cross-linking treatment. *Cornea*. 2008;27(3):353–356. doi: 10.1097/ICO.0b013e31815cf66a.

#### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Бикбов Мухаррам Мухтарамович**, доктор медицинских наук, профессор, директор ГБУ «Уфимский научно-исследовательский институт глазных болезней Академии наук Республики Башкортостан»

Адрес: 450008, Уфа, ул. Пушкина, д. 90, тел.: +7 (347) 272-37-75, e-mail: eye@anrb.ru

**Халимов Азат Рашидович**, кандидат биологических наук, заведующий научно-производственным отделом ГБУ «Уфимский научно-исследовательский институт глазных болезней Академии наук Республики Башкортостан»

Адрес: 450008, Уфа, ул. Пушкина, д. 90, тел.: +7 (347) 273-29-52, e-mail: azrakhal@yandex.ru

**Усубов Эмин Логман оглы**, кандидат медицинских наук, заведующий отделением хирургии роговицы и хрусталика ГБУ «Уфимский научно-исследовательский институт глазных болезней Академии наук Республики Башкортостан»

Адрес: 450008, Уфа, ул. Пушкина, д. 90, тел.: +7 (347) 273-03-72, e-mail: emines.us@inbox.ru

DOI: 10.15690/vramn661

И.В. Тихонова<sup>1</sup>, Н.И. Косякова<sup>2</sup>, А.В. Танканаг<sup>1</sup>, Н.К. Чемерис<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Институт биофизики клетки РАН, Пущино, Российская Федерация

<sup>2</sup> Больница Пущинского научного центра РАН, Пущино, Российская Федерация

## Влияние обструкции верхних дыхательных путей на микроциркуляцию кожи у больных бронхиальной астмой

**Обоснование.** В настоящее время установлено, что расстройства легочной гемодинамики зависят от фазы воспалительного процесса и выраженности обструктивного синдрома. Однако влияние характерной для бронхиальной астмы обструкции бронхов на состояние периферической гемодинамики остается малоизученным. **Цель исследования:** изучение влияния обструкции дыхательных путей на параметры кожного кровотока и системы его регуляции у больных с атопической персистирующей бронхиальной астмой в состоянии ремиссии. **Методы.** Проведено сравнительное исследование параметров кожного периферического кровотока у больных бронхиальной астмой с обструкцией ( $50\% < \text{ОФВ}_1 < 80\%$ ; 1-я группа) и без обструкции ( $\text{ОФВ}_1 > 80\%$ ; 2-я группа) дыхательных путей. В исследовании участвовало 20 пациентов с верифицированным диагнозом атопической бронхиальной астмы в возрасте 50–74 лет. Все пациенты получали базисную терапию в режиме постоянного дозирования высоких доз ингаляционных глюкокортикостероидов / длительно действующих бета2-агонистов. В контрольную группу вошли 20 условно здоровых добровольцев без признаков бронхиальной обструкции. Продолжительность исследования составила 3 мес. Бронхиальную обструкцию оценивали по объему форсированного выдоха за первую секунду ( $\text{ОФВ}_1$ ) при помощи метода спирометрии. Перфузию кожи кровью регистрировали методом лазерной доплеровской флоуметрии в покое и в ответ на кратковременную локальную ишемию. Для выявления особенностей функционирования систем регуляции кожной микрогемодинамики проводили амплитудно-временную фильтрацию зарегистрированных сигналов периферического кровотока в 5 частотных диапазонах. **Результаты.** У больных 1-й группы обнаружено достоверное двукратное уменьшение амплитуды колебаний кровотока в частотном диапазоне нейрогенной активности в покое ( $p=0,031$ ), а также достоверное двукратное снижение амплитуды колебаний кровотока в частотных диапазонах миогенной ( $p=0,043$ ;  $p=0,031$ ) и эндотелиальной активности ( $p=0,037$ ;  $p<0,001$ ) в покое и при постокклюзионной реактивной гиперемии, соответственно, по сравнению с контролем. У больных 2-й группы не выявлено достоверных изменений исследуемых параметров кожного кровотока относительно здоровых добровольцев. **Заключение.** Наличие бронхиальной обструкции оказывает значительное влияние на изменения амплитуд колебаний кровотока в микрососудистом русле кожи больных бронхиальной астмой в частотных диапазонах миогенной, нейрогенной и эндотелиальной активности. **Ключевые слова:** микроциркуляция кожи, лазерная доплеровская флоуметрия, спектральный анализ, бронхиальная астма, обструкция дыхательных путей.

(Для цитирования: Тихонова И.В., Косякова Н.И., Танканаг А.В., Чемерис Н.К. Влияние обструкции верхних дыхательных путей на микроциркуляцию кожи у больных бронхиальной астмой. *Вестник РАМН*. 2016;71(3):233–239. doi: 10.15690/vramn661)

233

I.V. Tikhonova<sup>1</sup>, N.I. Kosyakova<sup>2</sup>, A.V. Tankanag<sup>1</sup>, N.K. Chemeris<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institute of Cell Biophysics of the Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russian Federation

<sup>2</sup> Hospital of Pushchino Scientific Center of the Russian Academy of Sciences, Pushchino, Russian Federation

## Effects of the Airway Obstruction on the Skin Microcirculation in Patients with Bronchial Asthma

**Background:** Pulmonary hemodynamic disorders depend on the inflammatory phases and severity of the obstructive syndrome. However, the effect of asthma bronchial obstruction on the state of peripheral hemodynamics remains insufficiently known. **Aims:** To study the effects of airway obstruction on skin blood flow parameters and its regulatory systems in patients with persistent atopic bronchial asthma in the remission state.

**Materials and methods:** A comparative study of the skin peripheral blood flow in patients with bronchial asthma with severe airway obstruction (1<sup>st</sup> group) and without obstruction (2<sup>nd</sup> group) was conducted. 20 patients with confirmed diagnosis of atopic asthma of 50–74 years old participated in the study. All patients received basic therapy in a constant dosing of high doses of inhaled glucocorticosteroids/long-acting beta-2-agonists. The control group included 20 healthy volunteers without evidence of bronchial obstruction. The study lasted for 3 months. The forced expiratory volume in 1 s ( $\text{FEV}_1$ ) was used to evaluate the bronchial obstruction by spirometry technique. Skin blood perfusion changes were recorded by laser Doppler flowmetry at rest and in response to short-term local ischemia. Registered peripheral blood flow signals were examined using the amplitude temporal filtering in five frequency intervals to identify the functional features of the peripheral blood flow regulation systems. **Results:** Consistent two-fold decrease of the oscillation amplitudes was found in the neurogenic interval at rest ( $p=0.031$ ), as well as in the myogenic ( $p=0.043$ ;  $p=0.031$ ) and endothelial intervals ( $p=0.037$ ;  $p<0.001$ ) both at rest and during the postocclusive reactive hyperemia respectively in the 1<sup>st</sup> group of patients with bronchial obstruction ( $\text{FEV}_1 < 80\%$ ) compared with the control group. No significant changes were revealed for skin blood flow parameters in the 2<sup>nd</sup> patient group (without obstruction,  $\text{FEV}_1 > 80\%$ ) in comparison to control subjects. **Conclusions:** The presence of bronchial obstruction has a significant impact on the changes of the amplitudes of skin blood flow oscillations in patients with bronchial asthma in the myogenic, neurogenic and endothelial intervals.

**Key words:** skin microcirculation, laser Doppler flowmetry, reactive hyperemia, spectral analysis, bronchial asthma, obstruction.

(For citation: Tikhonova I.V., Kosyakova N.I., Tankanag A.V., Chemeris N.K. Effects of the Airway Obstruction on the Skin Microcirculation in Patients with Bronchial Asthma. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2016;71(3):233–239. doi: 10.15690/vramn661)

## Обоснование

Бронхиальная астма (БА) — одно из самых распространенных заболеваний, затрагивающих все возрастные группы. Несмотря на значительные научные достижения в области понимания патофизиологии данного заболевания, эффективного управления и контроля за его течением, распространенность патологии остается высокой; кроме того, за последние два десятилетия увеличилась смертность от БА [1, 2].

В основе БА лежит хроническое воспаление дыхательных путей, приводящее к бронхиальной обструкции, что в свою очередь обуславливает развитие гипоксемии и легочной гипертензии, нарушение реологических свойств крови и другие патологические процессы [3]. Степень поражения бронхов, а также фаза воспалительного процесса влияют на выраженность изменений в сердечно-сосудистой системе. Хорошо известно, что расстройства микроциркуляции играют значительную роль в патогенезе БА, определяя ее течение и прогрессирование [1, 3, 4]. При БА воспаление локализуется не только в бронхах, а носит системный характер. Кроме того, при хроническом воспалении в кровеносном русле в большом количестве присутствуют биологически активные вещества, которые вызывают структурные и функциональные нарушения в микроциркуляторном русле очага воспаления (легкие и бронхи) [5–7] и значительно изменяют периферическую микрогемодинамику. Поэтому различные системные нарушения могут быть выявлены при исследовании периферического кровотока, что позволит оценивать эффективность и коррекцию применяемой терапии. В настоящее время в клинической практике традиционно доступными объектами для функциональной диагностики состояния микроциркуляции являются кожа и слизистые оболочки, конъюнктивы глазного яблока, ногтевое ложе [8]. Имеются данные о том, что микрососудистое русло кожи и слизистых оболочек отражает не только специфические особенности кровотока в том или ином органе, но и изменения, происходящие в микроциркуляции всего организма [9]. Это позволяет использовать параметры кожного кровотока в качестве диагностического маркера для оценки как локальных, так и системных реакций [8, 9].

В настоящее время большинство работ посвящено изучению структурно-функциональных изменений в микрососудистом русле легких и бронхов у больных БА [5–7]. Установлено, что нарушения легочной гемодинамики зависят от фазы воспаления и выраженности обструкции [3]. Однако состояние периферической кожной микрогемодинамики и систем ее регуляции у больных с выраженной бронхиальной обструкцией до сих пор остается малоисследованным.

**Цель настоящего исследования** — изучение влияния обструкции дыхательных путей на параметры кожного кровотока и системы его регуляции у больных с atopической персистирующей БА в состоянии ремиссии.

## Методы

### Дизайн исследования

Проведено сравнительное исследование параметров кожного периферического кровотока у больных БА с/без обструкции дыхательных путей.

### Критерии соответствия

В исследовании участвовали 20 пациентов с верифицированным диагнозом atopической бронхиальной аст-

мы в возрасте 50–74 лет в период хорошего контроля над симптомами в соответствии с критериями Глобальной инициативы для бронхиальной астмы (Global Initiative for Asthma, GINA), которые включают отсутствие дневных и ночных симптомов, потребность в применении бета2-агонистов короткого действия, а также любые ограничения активности, обусловленные заболеванием. Все пациенты находились в состоянии ремиссии, за последние 3 мес до обследования у них не было документально зарегистрировано тяжелых обострений. По степени бронхиальной обструкции больные были разделены на две группы: в 1-ю вошли пациенты с объемом форсированного воздуха за первую секунду ( $ОФВ_1$ )  $<80\%$ , во 2-ю — пациенты с  $ОФВ_1 >80\%$  от должного уровня.

Контрольную группу составили условно здоровые добровольцы от 50 до 74 лет, не имеющие сердечно-сосудистых патологий, диабета и других острых и хронических заболеваний. Участники контрольной группы не принимали никаких сосудистых лекарственных препаратов по крайней мере за неделю до исследования.

Все участники исследования воздерживались от курения, а также от употребления алкогольных и кофеинсодержащих напитков за 12 ч до исследования. Каждый испытуемый подписал информированное согласие на участие в исследовании. Исследование одобрено Этическим комитетом Больницы ПНЦ РАН, протокол № 4 от 22 декабря 2014 г.

### Условия проведения

Исследование проводилось на базе отделения иммунологии и аллергологии Больницы Пушкинского научного центра РАН (Пушино, Московская область).

### Продолжительность исследования

Исследование проводилось в осенний период в течение 3 мес (сентябрь–ноябрь). Все измерения проводились в первой половине дня с 8 до 12 ч.

### Описание медицинского вмешательства

В качестве базисной терапии для контроля воспаления пациенты получали высокие дозы ингаляционных глюкокортикостероидов/длительно действующих бета2-агонистов (ИГКС/ДДБА, салметерол/флутиказон) пропранол в дозе 50 мкг/500 мкг 2 раза в сут) в режиме постоянного дозирования, что соответствовало тяжелой степени течения заболевания. Дополнительная потребность ингаляций короткодействующих бета2-агонистов за период наблюдения отсутствовала, ранее была в среднем  $4,36 \pm 1,6$  случаев/нед.

### Исходы исследования

#### Основной исход исследования

В качестве основных оцениваемых результатов рассматривали перфузию кожи кровью, а также амплитуды колебаний скорости периферического кровотока в различных частотных диапазонах в условиях покоя и после кратковременной плечевой ишемии.

### Методы регистрации исходов

Функция внешнего дыхания измерялась при помощи спирометра MIR Spigodoc (Италия). Исходное значение  $ОФВ_1$  за 1 с записывалось как максимальное из трех вторых измерений. Результаты сравнивались со значениями, подобранными в соответствии с возрастом, весом, полом, согласно стандартной методике [10].

Перфузию кожи кровью регистрировали методом лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) при по-

мощи лазерного доплеровского анализатора кожного кровотока ЛАКК-01 (НПП «ЛАЗМА», Россия) с длиной волны 630 нм, мощность 0,5 мВт. Измерения проводились при комнатной температуре  $23 \pm 1$  °С в положении лежа. ЛДФ-зонд фиксировали над наружной поверхностью правого предплечья вблизи лучезапястного сустава. Регистрацию проводили по следующей схеме: в течение 10 мин регистрировали показатель микроциркуляции (ПМ) в покое. Затем для оценки резервных возможностей микрососудистого русла проводили окклюзионную пробу путем нагнетания воздуха до 240–250 мм рт.ст. в пневматическую манжету, расположенную на правом предплечье. По истечении 3 мин воздух сбрасывали и в течение 6 мин регистрировали ПМ в ходе развития постокклюзионной реактивной гиперемии и последующего восстановления кровотока. Рассчитывали усредненное за 10 мин значение ПМ в покое ( $PM_{исх}$ ) и максимальное значение ПМ после прекращения окклюзии ( $PM_{макс}$ ) (рис.).

Для исследования особенностей систем регуляции кожного кровотока проводили амплитудно-временной анализ зарегистрированных лазерных доплерограмм (ЛДФ-грамма) с использованием непрерывной адаптивной вейвлет-фильтрации [11, 12]. Известно, что в частотном диапазоне от 0,009 до 2 Гц выделяют 5 неперекрывающихся областей [13], колебания кровотока в которых связаны с определенными физиологическими процессами [13]: осцилляции кровотока в частотном диапазоне кардиоритма (0,6–2 Гц) обусловлены работой сердца; в диапазоне респираторного ритма (0,2–0,6 Гц) — дыханием; в диапазонах миогенной (0,06–0,2 Гц), нейрогенной (0,02–0,06 Гц) и эндотелиальной активности (0,009–0,02 Гц) — активностью гладкомышечных клеток стенок сосудов, нейрогенным влиянием и функционированием эндотелия сосудов, соответственно. ЛДФ-граммы, зарегистрированные в условиях покоя и при проведении окклюзионной пробы, фильтровали в вышеперечисленных частотных диапазонах и анализировали значения амплитуд колебаний кровотока для каждого частотного диапазона. В состоянии покоя рассчитывали усредненные значения амплитуд колебаний для диапазонов кардио- и респираторного ритмов (A(C) и A(R)), а также миогенной (A(M)), нейрогенной (A(N)) и эндотелиальной (A(E)) активности [12]. При окклюзионной пробе в каждом из исследуемых частотных диапазонов определяли максимальные значения амплитуд колебаний в диапазонах кардио- и респираторного ( $A(C)_{макс}$  и  $A(R)_{макс}$ ) ритмов, миогенной, нейрогенной и эндотелиальной ( $A(M)_{макс}$ ,  $A(N)_{макс}$  и  $A(E)_{макс}$ ) активности [12].

### Этическая экспертиза

Обследование проводили с учетом требований Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki, 2002). Работа одобрена местным комитетом по этике Больницы Пушкинского научного центра РАН, протокол № 4 от 22.12.2014 г. Все испытуемые дали письменное информированное согласие на участие в исследовании.

### Статистический анализ

Статистическую обработку полученных результатов осуществляли при помощи пакета SigmaPlot 11.0 (Systat Software, Inc., США, 2008). Для оценки достоверности наблюдаемых различий проводили непараметрический однофакторный дисперсионный анализ для повторных измерений на основе критерия Фридмана с последующим множественным попарным сравнением по критерию Тьюки, поскольку распределение значений некоторых выборок данных не являлось нормальным (критерий Шапиро–Уилка). Статистически значимыми считались различия при  $p < 0,05$ .

## Результаты

### Объекты (участники) исследования

В исследовании приняли участие 20 пациентов (6 мужчин и 14 женщин) с верифицированным диагнозом атопической персистирующей БА в состоянии ремиссии в период хорошего контроля над симптомами согласно критериям GINA, которые включали отсутствие дневных и ночных симптомов, потребность в применении бета2-агонистов короткого действия, а также любые ограничения активности, обусловленные заболеванием (табл. 1). У всех пациентов не было зарегистрировано тяжелых обострений, требующих применения системных глюкокортикостероидов, госпитализаций и обращений за скорой медицинской помощью за 3 мес до обследования. В соответствии с требованиями GINA-12, все пациенты находились на базисной терапии в режиме постоянного дозирования. Для исследования влияния бронхиальной обструкции на состояние периферической микрогемодинамики больные были разделены на две группы в зависимости от показателей  $ОФВ_1$ : в первую группу ( $n=11$ ) вошли пациенты с обструкцией ( $50\% < ОФВ_1 < 80\%$ ), во вторую ( $n=9$ ) — пациенты с невыраженной обструкцией ( $ОФВ_1 > 80\%$  от должного уровня) [2]. До начала базисной терапии у всех пациентов наблюдался высокий уровень обструкции дыхательных путей ( $ОФВ_1$  от 40 до 50% от должного), поскольку пациенты получали неадекватную тяжести течения заболевания

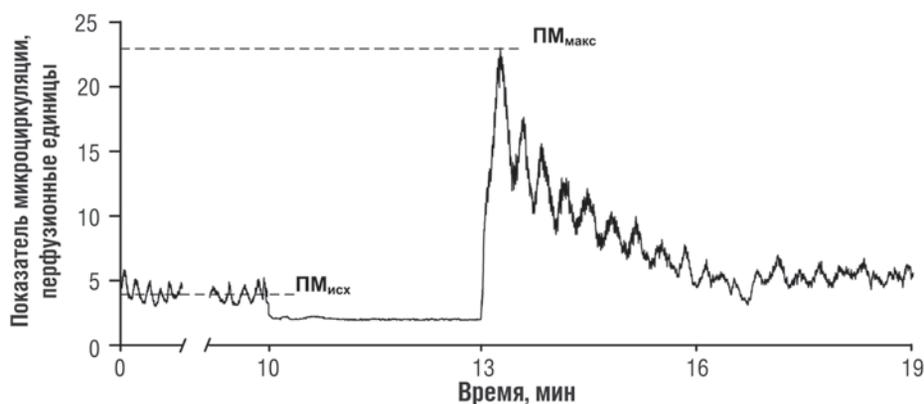


Рис. Схема проведения окклюзионной пробы

Таблица 1. Характеристика участников исследования

Показатель	Контрольная группа	Больные бронхиальной астмой	
		1-я группа (ОФВ <sub>1</sub> <80%)	2-я группа (ОФВ <sub>1</sub> >80%)
Мужчины / Женщины	5/15	3/8	3/6
Возраст, лет	60±2	57±4	65±3
Рост, см	163±2	165±2	164±2
Вес, кг	71±2	80±4	78±5
Индекс массы тела, кг/м <sup>2</sup>	27±0,5	29±1	29±2
Артериальное давление, мм рт.ст.	139±5 / 82±2	142±5 / 88±4	143±5 / 90±4
Пульс, уд/мин.	70±2	72±3	71±4
Длительность БА, лет	-	19±4	14±5

терапию низкими дозами ИГКС в режиме непостоянного дозирования. Анализ анамнеза и медицинской документации (амбулаторных карт и историй болезней) показал, что все пациенты 1-й группы имели сопутствующие заболевания респираторного тракта (аллергический ринит, хронический тонзиллит, риносинусит). Таким образом, больные 1-й группы характеризовались постоянной обструкцией дыхательных путей, в то время как во 2-й группе обструкции дыхательных путей не обнаруживалось. Контрольную группу составили 20 условно здоровых добровольцев (см. табл. 1) с ОФВ<sub>1</sub> >80% от должного. Все участники контрольной группы не имели бронхолегочных, а также других острых и хронических заболеваний. При обследовании больным выполнялись клинические и биохимические анализы крови, оценивались показатели функции внешнего дыхания, данные электрокардиограммы и периферической гемодинамики.

**Основные результаты исследования**

В результате проведенного исследования в обеих группах больных не выявлено достоверных отличий ПМ<sub>исх</sub> и ПМ<sub>макс</sub> от показателей условно здоровых участников. Аналогичная картина наблюдалась и для амплитуд колебаний кровотока в диапазонах кардио- и респираторного ритмов в покое и после прекращения окклюзии. В 1-й и 2-й группах больных обнаружено отсутствие достоверных изменений соответствующих параметров по сравнению с контрольной группой. Напротив, в диапазоне миогенной активности обнаружено достоверное двукратное снижение амплитуд колебаний в покое и после прекращения окклюзии в 1-й группе (с бронхиальной обструкцией) по

сравнению с контрольной ( $p=0,043$ ;  $p=0,031$ ), в то время как во 2-й группе больных (без обструкции) данные показатели достоверно не отличались от соответствующих параметров условно здоровых испытуемых (табл. 2). В диапазоне нейрогенной активности амплитуда колебаний в покое в 1-й группе больных также достоверно двукратно уменьшалась по сравнению с контрольной группой ( $p=0,031$ ), в то время как во 2-й группе больных не обнаружено достоверных отличий данного параметра от такового в контроле (см. табл. 2). В ответ на кратковременную ишемию амплитуды колебаний в диапазоне нейрогенной активности у больных обеих групп достоверно не отличались относительно соответствующих параметров в контрольной группе (см. табл. 2). В диапазоне эндотелиальной активности амплитуды колебаний в покое и после прекращения окклюзии в 1-й группе больных были достоверно в два раза ниже по сравнению с соответствующими показателями у условно здоровых испытуемых ( $p=0,037$ ;  $p<0,001$ ), в то время как у больных 2-й группы достоверных отличий не обнаружено (см. табл. 2).

**Нежелательные явления**

В ходе проведения исследования нежелательные явления отсутствовали.

**Обсуждение**

**Резюме основного результата исследования**

В результате проведенного исследования у больных БА 1-й группы (с обструкцией дыхательных путей) было

Таблица 2. Сравнительная характеристика параметров микроциркуляции в условиях покоя и в процессе развития постокклюзионной реактивной гиперемии в исследуемых группах

Показатель	Контрольная группа (n=20)	Больные бронхиальной астмой	
		1-я группа (n=11)	2-я группа (n=9)
A(M)	0,30±0,07	0,18±0,06*	0,18±0,02
A(M) <sub>макс</sub>	1,18±0,21	0,57±0,08*	0,99±0,15
A(N)	0,26±0,03	0,17±0,04*	0,20±0,04
A(N) <sub>макс</sub>	0,72±0,13	0,42±0,07	0,61±0,09
A(E)	0,25±0,05	0,12±0,03*	0,15±0,04
A(E) <sub>макс</sub>	0,64±0,12	0,17±0,02*	0,29±0,04

Примечание. В таблице представлены средние значения ± стандартная ошибка. \* —  $p<0,05$  относительно контрольной группы.

выявлено достоверное двукратное уменьшение значений  $A(M)$  и  $A(M)_{\text{макс}}$ ,  $A(N)$ ,  $A(E)$  и  $A(E)_{\text{макс}}$  относительно соответствующих параметров в контрольной группе. У больных 2-й группы без признаков бронхиальной обструкции не обнаружено достоверных изменений исследуемых параметров кожного периферического кровотока.

### Обсуждение основного результата исследования

В отдельных исследованиях показано усиление кровотока в микрососудистом русле бронхов у больных БА относительно здоровых добровольцев [5, 6]. Также у больных БА даже с умеренной и средней тяжестью заболевания наблюдались значительное увеличение числа сосудов и/или процента сосудистой площади, а также увеличение размеров капилляров в бронхах [7, 14, 15]. Исходя из этого, усиление бронхиального кровотока, вероятно, обусловлено расширением артериол и увеличением числа сосудов и размеров капилляров. При бронхиальной астме воспаление носит распространенный характер и сопровождается изменениями различных системных реакций организма (например, эндотелиальной дисфункцией), что может оказывать существенное влияние на параметры периферической микрогемодинамики.

Настоящее исследование показало отсутствие достоверных отличий перфузии кожи кровью у всех пациентов с БА по сравнению со здоровыми добровольцами как в покое, так и в ответ на кратковременную локальную ишемию. Полученный результат может свидетельствовать о сохранении нормального кровоснабжения и резерва микрососудистого русла кожи в ответ на кратковременную ишемию у данных больных. Однако, несмотря на то, что у больных БА перфузия кожи кровью не изменяется относительно контрольной группы, в настоящем исследовании выявлено изменение систем регуляции периферического кровотока у больных БА с выраженной обструкцией.

Так как обследуемые больные БА различались по состоянию функции внешнего дыхания на момент исследования, была проанализирована зависимость параметров периферической микрогемодинамики от  $ОФВ_1$  — показателя, характеризующего степень бронхиальной обструкции, бронхоконстрикции или бронходилатации при БА [16]. Была проверена гипотеза о том, что степень бронхиальной обструкции может влиять на исследуемые параметры кожного периферического кровотока у больных БА. Отсутствие достоверных изменений значений  $PM_{\text{исх}}$  и  $PM_{\text{макс}}$ ,  $A(C)$  и  $A(C)_{\text{макс}}$ ,  $A(R)$  и  $A(R)_{\text{макс}}$  у больных БА обеих групп по сравнению с соответствующими параметрами в контрольной группе может свидетельствовать о том, что выраженность обструкции дыхательных путей не влияет на вышеперечисленные показатели. Напротив, такие показатели, как  $A(M)$  и  $A(M)_{\text{макс}}$ ,  $A(N)$ ,  $A(E)$  и  $A(E)_{\text{макс}}$ , значительно снижались у больных с обструкцией (1-я группа) относительно соответствующих показателей в контрольной группе, в то время как у больных без обструкции (2-я группа) не выявлено достоверных отличий данных параметров по сравнению с условно здоровыми испытуемыми. Полученные результаты свидетельствуют о том, что у больных БА выраженная обструкция дыхательных путей сопровождается подавлением миогенной, нейрососудистой и эндотелиальной функций микрососудов кожи.

В последнее десятилетие отмечается, что у больных уже на ранних стадиях БА с невыраженной бронхиальной обструкцией и артериальной гипоксемией развивается эндотелиальная дисфункция [17–19]. Существует мнение, что при обострении заболевания к

повреждению эндотелия сосудов приводит даже кратковременная гипоксия с одновременным воздействием воспалительных агентов и бактериальных эндотоксинов [18–20]. В исследованиях показано, что при БА, несмотря на повышенный исходный уровень микрососудистого кровотока в слизистой оболочке дыхательных путей, наблюдается значительная аномальная сосудистая реактивность в сторону снижения бета2-адренергической вазодилаторной чувствительности и повышения  $\alpha$ -адренергической вазоконстрикторной чувствительности [5, 21, 22]. Некоторые ученые [23] предполагают наличие аномальной эндотелийзависимой вазодилатации (эндотелиальной дисфункции) у больных БА. Наблюдаемое в нашем исследовании уменьшение  $A(E)$  и  $A(E)_{\text{макс}}$  может свидетельствовать о снижении сосудодвигательной функции эндотелия микрососудистого русла кожи у больных БА в сторону подавления вазодилаторной функции эндотелия.

Кроме того, полученные нами результаты подтверждают гипотезу о том, что нарушение функционирования эндотелия (эндотелиальная дисфункция) у больных БА носит системный характер и наблюдается не только в сосудах дыхательных путей, но и в других сосудистых регионах, в частности в микрососудистом русле кожи верхних конечностей.

Выявленное уменьшение  $A(N)$  у больных БА с обструкцией, по-видимому, может быть объяснено изменением регуляции автономных нервов в сторону подавления нейрососудистой функции. Полученные результаты согласуются с литературными данными. Показано, что у больных БА наблюдается автономная нервная дисфункция дыхательных путей, которая играет главную роль в патогенезе бронхиальной обструкции и гиперчувствительности гладкомышечных клеток дыхательных путей [24]. В частности, авторы отмечают, что при астме усиливается обструкция дыхательных путей, опосредованная холинергическими нервными волокнами, а также имеет место изменение регуляции нехолинергических нервов в дыхательных путях [24, 25].

Известно, что на гладкомышечные клетки стенок сосудов оказывают влияние различные нейрогенные и гуморальные факторы [23, 24, 26]. По-видимому, наблюдаемое уменьшение значений  $A(M)$  и  $A(M)_{\text{макс}}$  у больных с обструкцией дыхательных путей (1-я группа) может быть связано как с подавлением спонтанной активности гладкомышечных клеток сосудистой стенки, так и с изменением нейрогенной и эндотелиальной регуляции гладкомышечного тонуса.

Таким образом, полученные нами результаты позволяют заключить, что изменения амплитуд колебаний кровотока в микрососудистом русле кожи в частотных диапазонах миогенной, нейрогенной и эндотелиальной активности более выражены у пациентов с обструкцией дыхательных путей.

### Ограничения исследования

Данное исследование имеет некоторые ограничения. Во-первых, участники исследования — пациенты с БА — находились в состоянии ремиссии. Результаты исследуемых параметров периферического кровотока кожи у пациентов с астмой в острой стадии могут отличаться от таковых у пациентов в состоянии ремиссии. Во-вторых, длина ЛДФ-сигналов после прекращения кратковременной ишемии составляла 6 мин. Это связано с тем, что в данном исследовании участвовали пациенты с серьезной дыхательной патологией, которым трудно длительное время находиться в неподвижном

положении во время регистрации. Таким образом, выбранная длительность регистрации была оптимальной для данных пациентов.

### Заключение

У пациентов с БА были выявлены достоверные изменения в миогенной, нейрогенной и эндотелиальной системах регуляции кожного кровотока. Показано, что у больных БА с бронхиальной обструкцией в покое достоверно двукратно снижаются амплитуды колебаний кровотока в диапазонах миогенной, нейрогенной и эндотелиальной активности по сравнению с условно здоровыми добровольцами. Кроме того, в данной группе в ответ на кратковременную ишемию амплитуды колебаний в диапазонах миогенной и эндотелиальной активности также двукратно снижаются относительно контроля. Полученные результаты свидетельствуют о подавлении систем регуляции периферического кровотока в частотных диапазонах миогенной, нейрогенной и эндотелиальной активности. Полученный результат подтверждает гипотезу о том, что воспаление при БА локализуется не только в бронхах, а носит системный характер и сопровождается изменениями различных системных реакций организма (например, эндотелиальной дисфункцией), что и может

быть выявлено при исследовании периферического кровотока. У больных 2-й группы без признаков бронхиальной обструкции не было выявлено достоверных изменений в системах регуляции кожной микрогемодинамики. Таким образом, можно предположить, что выявленные изменения в микроциркуляторном кожном кровотоке у больных 1-й группы связаны с выраженностью бронхиальной обструкции.

### Источник финансирования

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант РНФ № 16-15-00248).

### Конфликт интересов

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

### Выражение признательности

Авторы выражают благодарность всем участникам исследования за их время, усилия и сотрудничество.

### ЛИТЕРАТУРА

- Barnes PJ. Severe asthma: advances in current management and future therapy. *J Allergy Clin Immunol.* 2012;129(1):48–59. doi: 10.1016/j.jaci.2011.11.006.
- ginasthma.org [Internet]. Global Initiative for Asthma (GINA). 2016 GINA Global Strategy for Asthma Management and Prevention [cited 2016 Mar 10]. Available from: <http://www.ginasthma.org>.
- Ходюшина И.Н., Урясьев О.М. Изменения показателей гемодинамики у больных бронхиальной астмой // *Российский медико-биологический вестник им. акад. И.П. Павлова.* — 2011. — №2. — С. 22. [Khodyushina IN, Uryasyev OM. Changes of hemodynamics in the patients bronchial asthma. *Rossiiskii mediko-biologicheskii vestnik imeni akademika I.P. Pavlova.* 2011;(2):22. (In Russ).]
- Чучалин А.Г. Бронхиальная астма: новые перспективы в терапии // *Терапевтический архив.* — 2012. — Т.84. — №3. — С. 5–11. [Chuchalin AG. Bronchial asthma: new prospects in therapy. *Ter Arkh.* 2012;84(3):5–11. (In Russ).]
- Kumar SD, Emery MJ, Atkins ND, et al. Airway mucosal blood flow in bronchial asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 1998;158(1):153–156. doi: 10.1164/ajrccm.158.1.9712141.
- Li X, Wilson JW. Increased vascularity of the bronchial mucosa in mild asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 1997;156(1):229–233. doi: 10.1164/ajrccm.156.1.9607066.
- Zanini A, Chetta A, Imperatori AS, et al. The role of the bronchial microvasculature in the airway remodelling in asthma and COPD. *Respir Res.* 2010;11(1):132. doi: 10.1186/1465-9921-11-132.
- Roustit M, Cracowski JL. Assessment of endothelial and neurovascular function in human skin microcirculation. *Trends Pharmacol Sci.* 2013;34(7):373–384. doi: 10.1016/j.tips.2013.05.007.
- Holowatz LA, Thompson-Torgerson CS, Kenney WL. The human cutaneous circulation as a model of generalized microvascular function. *J Appl Physiol (1985).* 2008;105(1):370–372. doi: 10.1152/jappphysiol.00858.2007.
- Miller MR, Hankinson J, Brusasco V, et al. Standardisation of spirometry. *Eur Respir J.* 2005;26(2):319–338. doi: 10.1183/09031936.05.00034805.
- Tankanag AV, Chemeris NK. A method of adaptive wavelet filtering of the peripheral blood flow oscillations under stationary and non-stationary conditions. *Phys Med Biol.* 2009;54(19):5935–5948. doi: 10.1088/0031-9155/54/19/018.
- Tikhonova IV, Tankanag AV, Chemeris NK. Time-amplitude analysis of skin blood flow oscillations during the post-occlusive reactive hyperemia in human. *Microvasc Res.* 2010;80(1):58–64. doi: 10.1016/j.mvr.2010.03.010.
- Stefanovska A, Bracic M, Kvernmo HD. Wavelet analysis of oscillations in the peripheral blood circulation measured by laser Doppler technique. *IEEE Trans Biomed Eng.* 1999;46(10):1230–1239. doi: 10.1109/10.790500.
- Hashimoto M, Tanaka H, Abe S. Quantitative analysis of bronchial wall vascularity in the medium and small airways of patients with asthma and COPD. *Chest.* 2005;127(3):965–972. doi: 10.1378/chest.127.3.965.
- Salvato G. Quantitative and morphological analysis of the vascular bed in bronchial biopsy specimens from asthmatic and non-asthmatic subjects. *Thorax.* 2001;56(12):902–906. doi: 10.1136/thorax.56.12.902.
- National Institutes of Health; National Heart, Lung, and Blood Institute. *Guidelines for the Diagnosis and Management of Asthma. Expert panel report 2.* NIH Publication; 1997. 148 p.
- Al-Muhsen S, Johnson JR, Hamid Q. Remodeling in asthma. *J Allergy Clin Immunol.* 2011;128(3):451–462. doi: 10.1016/j.jaci.2011.04.047.
- Mak A, Kow NY. Imbalance between endothelial damage and repair: a gateway to cardiovascular disease in systemic lupus erythematosus. *Biomed Res Int.* 2014;2014:178721. doi: 10.1155/2014/178721.
- Xiao L, Liu Y, Wang N. New paradigms in inflammatory signaling in vascular endothelial cells. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2014;306(3):317–325. doi: 10.1152/ajpheart.00182.2013.
- Krishnaswamy G, Kelley J, Yerra L, Smith JK, Chi DS. Human endothelium as a source of multifunctional cytokines: molecular regulation and possible role in human disease. *J Interferon Cytokine Res.* 1999;19(2):91–104. doi: 10.1089/1079999099314234.

21. Brieva JL, Danta I, Wanner A. Effect of an inhaled glucocorticosteroid on airway mucosal blood flow in mild asthma. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000;161(1):293–296. doi: 10.1164/ajrccm.161.1.9905068.
22. Brieva J, Wanner A. Adrenergic airway vascular smooth muscle responsiveness in healthy and asthmatic subjects. *J Appl Physiol (1985).* 2001;90(2):665–669.
23. Wanner A, Mendes ES. Airway endothelial dysfunction in asthma and chronic obstructive pulmonary disease: a challenge for future research. *Am J Respir Crit Care Med.* 2010;182(11):1344–1351. doi: 10.1164/rccm.201001-0038PP.
24. Canning BJ, Woo A, Mazzone SB. Neuronal modulation of airway and vascular tone and their influence on nonspecific airways responsiveness in asthma. *J Allergy (Cairo).* 2012;2012:108149. doi: 10.1155/2012/108149.
25. Mitchell RW, Ruhlmann E, Magnussen H, et al. Passive sensitization of human bronchi augments smooth muscle shortening velocity and capacity. *Am J Physiol.* 1994;267(2 Pt 1):L218–222.
26. Westcott EB, Segal SS. Perivascular innervation: a multiplicity of roles in vasomotor control and myoendothelial signaling. *Microcirculation.* 2013;20(3):217–238. doi: 10.1111/micc.12035.

#### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Тихонова Ирина Валерьевна**, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории клеточной нейробиологии Института биофизики клетки РАН

**Адрес:** 142290, Московская область, г. Пушкино, ул. Институтская, д. 3, **тел.:** +7 (496) 773-91-98,

**e-mail:** irinka\_ti27@mail.ru

**Косякова Нинель Ивановна**, доктор медицинских наук, заместитель главного врача по научной работе, заведующая отделением иммунологии и аллергологии Больницы Пушкинского научного центра РАН

**Адрес:** 142290, Московская область, г. Пушкино, ул. Институтская, д. 3, **тел.:** +7 (496) 7730933,

**e-mail:** nelia\_kosiakova@mail.ru

**Танканаг Арина Владимировна**, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории клеточной нейробиологии Института биофизики клетки РАН

**Адрес:** 142290, Московская область, г. Пушкино, ул. Институтская, д. 3, **тел.:** +7 (496) 7739198, **e-mail:** tav@icb.psn.ru

**Чемерис Николай Константинович**, доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории клеточной нейробиологии Института биофизики клетки РАН

**Адрес:** 142290, Московская область, г. Пушкино, ул. Институтская, д. 3, **тел.:** +7 (496) 7739412, **e-mail:** nkc@inbox.ru

# Содержание миокинов в сыворотке крови у пациентов с эндогенным гиперкортицизмом и акромегалией: одномоментное исследование «случай—контроль»

**Обоснование.** Миокины продуцируются и высвобождаются миоцитами в ответ на сокращения мышц. Эндогенный гиперкортицизм и акромегалия вызывают значимые изменения в мышечной ткани, приводящие к ее атрофии или гипертрофии. Вместе с тем нет данных, влияют ли эти эндокринные нарушения на секреторную функцию мышц. **Цель исследования:** оценить сывороточное содержание миокинов (интерлейкин 6, IL6, миостатин, иризин) у пациентов с эндогенным гиперкортицизмом и акромегалией. **Методы.** Для проведения исследования заморожены при температуре ниже 20°C образцы сывороток крови, взятой утром натощак у лиц с подтвержденной активностью болезни Иценко—Кушинга (БИК) и акромегалии, а также у здоровых добровольцев, подобранных по возрасту, полу и индексу массы тела (ИМТ). Для определения уровня миокинов использованы коммерчески доступные наборы для иммуноферментного анализа. У всех включенных лиц сила сжатия кисти измерялась ручным динамометром. Инсулиноподобный фактор роста-1 (Insulin-like Growth Factor-1, IGF1) и свободный кортизол в суточной моче определялись иммунохемилюминесцентным методом, свободный кортизол в слюне — электрохемилюминесцентным методом. Для оценки различий между группами использован однофакторный дисперсионный анализ ANOVA. **Результаты.** В исследование включены 88 человек: 30 пациентов с болезнью Иценко—Кушинга (группа 1), 28 — с акромегалией (группа 2) и 30 условно здоровых лиц (группа 3), подобранных по полу, возрасту и ИМТ ( $p=0,492$ ,  $0,062$  и  $0,174$  между группами, соответственно). Среднее значение свободного кортизола в суточной моче у пациентов с БИК и средний уровень IGF1 у пациентов с акромегалией были значимо выше, нежели в других группах ( $p<0,001$ ). Сила сжатия правой кисти была ниже у пациентов с БИК по сравнению с пациентами, страдающими акромегалией, и здоровыми лицами ( $p=0,04$ ). Однако не было найдено статистически значимых различий в измеренных уровнях миокинов: для иризина —  $p=0,15$ , для IL6 —  $p=0,34$ , для миостатина —  $p=0,50$ . В каждой подгруппе и в целом среди пациентов имелась корреляционная связь между уровнями миостатина и иризина ( $p<0,001$ ), но не с IL6. Не выявлено зависимости между уровнем миокинов и содержанием кортизола в суточной моче и IGF1 в сыворотке крови как в целом, так и в отдельных группах. **Заключение.** Эндогенный гиперкортицизм (болезнь Иценко—Кушинга) и супрафизиологический уровень IGF1 значимо не влияют на сывороточные уровни миостатина, IL6 и иризина у молодых пациентов.

**Ключевые слова:** миокины, интерлейкин-6, миостатин, иризин, болезнь Иценко—Кушинга, акромегалия.

(Для цитирования: Цориев Т.Т., Белая Ж.Е., Рожинская Л.Я., Мельниченко Г.А., Гребенникова Т.А., Никанкина Л.В., Ильин А.В., Дедов И.И. Содержание миокинов в сыворотке крови у пациентов с эндогенным гиперкортицизмом и акромегалией: одномоментное исследование «случай—контроль». *Вестник РАМН.* 2016;71(3):240–247. doi: 10.15690/vramn659)

## Обоснование

Мышечная ткань, как было показано в ряде исследований [1–3], обладает эндокринной и паракринной активностью, вырабатывая гормоноподобные субстанции — миокины, которые влияют на различные виды обмена веществ. Миокины секретируются скелетными мышцами в ответ на физические упражнения, осуществляют паракринную регуляцию в самих мышцах, оказывают влияние на другие органы и системы, вмешиваясь в обмен веществ по принципу действия гормонов. Ряд исследований позволил установить роль этих мышечных факторов в качестве важной составляющей положительных эффектов физических упражнений: миокины занимают центральное место в понимании перекрестного взаимодействия между мышцами и прочими органами в ходе и после физических упражнений. Например, в исследовании механизма действия относительно недавно обнаруженного миокина CXCL1 было установлено, что его избыточная экспрессия интенсифицирует окисление жирных кислот в мышцах с сопутствующим ослаблением диетобусловленного отложения жира в подкожной клетчатке [4]. Стоит отметить, что была обнаружена связь регулярных физических нагрузок с уменьшением

частоты развития и прогрессирования злокачественных опухолей, в частности рака молочной железы [5, 6]. При инкубации культуры клеток опухоли в сыворотке, взятой сразу после интенсивной физической нагрузки и, как следует из приведенных выше данных, содержащей значительное количество миокинов, наблюдалось угнетение деления раковых клеток вследствие активации апоптоза через каспазный путь. Миокин, оказывавший антипролиферативный эффект, был идентифицирован как онкостатин М [7]. Миокин, подавляющий рост и дифференцировку мышечной ткани, — миостатин, скорее всего, имеет и другие метаболические эффекты. Снижение уровня миостатина в ответ на физическую нагрузку, помимо активации роста мышц, рассматривают как один из механизмов положительных метаболических эффектов регулярных упражнений при ожирении и сахарном диабете [8]. Миостатин рассматривается как перспективная мишень для терапевтического вмешательства у пациентов с саркопенией, в том числе в ранних формах саркопении вследствие эндокринных заболеваний, в частности при гиперкортицизме [9]. Другой миокин — иризин, по мнению ряда исследователей, способен через собственные рецепторы трансформировать свойства белой жировой ткани, придавая ей качества

бурой жировой ткани. Это оказывает не только положительные метаболические эффекты, но и увеличивает длину теломера: таким образом, некоторые специалисты рассматривают иризин как «миокин молодости и жизни» [10]. Кроме того, хорошо известный цитокин интерлейкин 6 (Interleukin 6, IL6), выброс которого во время физических нагрузок ранее связывали с повреждением мышц, на сегодняшний день рассматривается исследователями как секретируемый в ответ на физическую нагрузку миокин. По мнению ученых, быстрый выброс этого цитокина и короткий период его циркуляции во время физической нагрузки оказывают положительный эффект на рост мышц [2]. Также не вызывает сомнений, что в ответ на мышечные сокращения выделяется целый ряд других биологически активных веществ — гормонов и паракринных регуляторов. Вместе с тем функция миокинов изучалась преимущественно у здоровых лиц либо лабораторных животных *in vivo*, поэтому остается неизвестным, изменяется ли уровень этих факторов при различных заболеваниях, сопровождающихся поражением скелетных мышц. При классических заболеваниях эндокринных желез нередко происходят органические изменения опорно-двигательного аппарата. В частности, при болезни Иценко–Кушинга (БИК), других формах эндогенного гиперкортицизма и, соответственно, высоком содержании кортизола в сыворотке крови развивается атрофия мышц, особенно конечностей (так называемая проксимальная миопатия), в результате чего отмечается сильная мышечная слабость — довольно характерный признак заболевания [11, 12]. При акромегалии (опухоль гипофиза с повышенной продукцией соматотропина), напротив, происходит гипертрофия мышечных волокон, которая, однако, не приводит к увеличению силы сокращения мышц [13]. Более того, возможно развитие мышечной слабости, что может быть связано с затруднением кровоснабжения гипертрофированных мышечных волокон и формированием хронической гипоксии. Было

бы логично предположить, что наряду с нарушением основной, сократительной, функции мышц при указанных заболеваниях изменяется и секреторная функция. Исследование взаимосвязей между органическим повреждением мышечной ткани и изменением ее секреторной активности в перспективе поможет проверить гипотезу о возможностях лечения саркопении, разработать новые методы коррекции метаболических нарушений, возникающих при указанных заболеваниях.

**Цель исследования:** изучение содержания миокинов (IL6, миостатин, иризин) в сыворотке крови при эндогенном гиперкортицизме и акромегалии и выявление потенциальных различий в секреторной активности мышечной ткани по сравнению со здоровыми лицами.

## Методы

### Дизайн исследования

Исследование проводилось одномоментно по типу случай–контроль; в него были включены пациенты, подобранные по возрасту и полу, с клинически и лабораторно подтвержденными диагнозами болезни Иценко–Кушинга и акромегалии, находившиеся на обследовании в отделении нейроэндокринологии и остеопатий ФГБУ «ЭНЦ», а также здоровые лица, составившие контрольную группу. Образцы сыворотки крови, взятые у всех обследуемых утром натощак, центрифугировались при температуре  $-5^{\circ}\text{C}$  в течение 30 мин (3000 об./мин), затем были заморожены в аликвотах при температуре ниже  $-20^{\circ}\text{C}$ . Группа контроля также была подобрана по возрасту, полу и индексу массы тела (ИМТ). Никто из участников исследования не занимался регулярными специфическими физическими упражнениями. Всего было обследовано 88 человек, из них 30 с болезнью Иценко–Кушинга, 28 с акромегалией и 30 условно здоровых лиц.

T.T. Tsoriev, Z.E. Belaya, L.Y. Rozhinskaya, G.A. Melnitchenko, T.A. Grebennikova,  
L.V. Nikankina, A.V. Ilyin, I.I. Dedov

Endocrinology Research Centre, Moscow, Russian Federation

## Serum Myokines Levels in Patients with Endogenous Cushing Syndrome and Acromegaly: Cross-Sectional Case–Control Study

**Background:** Myokines are produced and released by muscle cells in response to muscular contractions. Endogenous Cushing syndrome (CS) and acromegaly cause significant changes in muscle tissue leading to atrophy or hypertrophy. However, there is no data whether these endocrine abnormalities influence myokine secretion. **Aims:** To evaluate serum levels of myostatin, interleukin-6 (IL6) and irisin in patients with CS and acromegaly. **Materials and methods:** Fasting serum samples were taken and stored in aliquot at  $\leq -20^{\circ}\text{C}$  from consecutive subjects with clinically evident and biochemically confirmed active CS, acromegaly and healthy volunteers matched by age, sex and body mass index (BMI). Commercially available kits were used to assay serum myokine levels. Grip strength was measured by a dynamometer. Insulin-like growth factor-1 (IGF1) was measured by immunochemiluminescence assay (Liaison), twenty-four hours urine free cortisol (24hUFC) — by immunochemiluminescence assay (Vitros ECI), salivary free cortisol — by electrochemiluminescence assay (Cobas). One-way ANOVA was utilized to assess the difference between groups. **Results:** We enrolled 88 subjects: 30 patients suffered from CS (group 1), 28 — acromegaly (2) and 30 matched healthy controls (3) with no difference among the groups in sex, age and BMI ( $p=0.492$ ,  $0.062$  and  $0.174$  respectively). Mean 24hUFC in subjects with CS and mean IGF1 in subjects with acromegaly were significantly higher as compared to other groups ( $p<0.001$ ). Right-hand grip strength was lower in patients with CS as compared to both patients with acromegaly and healthy subjects ( $p=0.04$ ). However, among these young adults we did not find statistically significant differences in measured myokines levels: irisin —  $p=0.15$ ; IL6 —  $p=0.34$ ; myostatin —  $p=0.50$ . There was a significant correlation between myostatin and irisin in the whole group of people and in every separately analyzed subset of patients ( $p<0.001$ ), but no correlation was found between any measured myokines and 24hUFC or IGF1. **Conclusions:** Hypercortisolism or supraphysiological IGF1 levels do not significantly influence serum levels of myostatin, IL6 and irisin in young adults.

**Key words:** interleukin-6; myostatin; irisin; Cushing syndrome; acromegaly.

(For citation: Tsoriev T.T., Belaya Z.E., Rozhinskaya L.Y., Melnitchenko G.A., Grebennikova T.A., Nikankina L.V., Ilyin A.V., Dedov I.I. Serum Myokines Levels in Patients with Endogenous Cushing Syndrome and Acromegaly: Cross–Sectional Case–Control Study. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2016;71(3):240–247. doi: 10.15690/vramn659)

### Критерии исключения

Из протокола исследования были исключены пациенты, находящиеся в состоянии ремиссии на фоне проведенного хирургического лечения или получаемой медикаментозной терапии, а также лица, принимающие глюкокортикостероиды (в т.ч. вследствие надпочечниковой недостаточности), находящиеся в терминальных состояниях, с тяжелыми, угрожающими жизни состояниями (такими как острая почечная и печеночная недостаточность, инфаркт миокарда, острое нарушение мозгового кровообращения), острыми инфекциями, обострением хронических заболеваний, тяжелыми психиатрическими заболеваниями, с длительной (>1 нед) общей иммобилизацией, беременные, имеющие другие заболевания, приводящие к саркопении (кроме эндогенного гиперкортицизма и акромегалии), а также длительно принимающие медикаменты, потенциально оказывающие значимое влияние на мышечную функцию и обмен веществ (препараты тестостерона, спортивные анаболики, экзогенный гормон роста).

### Условия проведения

Все клинические, лабораторные и инструментальные манипуляции, выполненные в рамках данного исследования, были проведены на базе одного учреждения (ЭНЦ, Москва). Каких-либо специфических факторов, способных повлиять на внешнюю обобщаемость выводов исследования, не выявлено.

### Продолжительность исследования

Набор материала продолжался в течение года. Образцы сывороток исследовались одномоментно после сбора всего биологического материала.

### Исходы исследования

**Основной исход исследования:** определены и изучены сывороточные уровни миокинов — иризина, миостатина, IL6 во всех группах (пациенты и здоровый контроль), а также кистевая динамометрия, проводимая для исключения миопатии как в группах пациентов, так и в группе здорового контроля.

**Дополнительные исходы исследования:** определены и изучены уровни свободного кортизола в суточной моче и вечерней слюне, инсулиноподобного фактора роста 1 (Insulin-like Growth Factor-1, IGF1) в сыворотке крови, используемые для подтверждения диагноза БИК или акромегалии, а также биохимические показатели кальциево-фосфорного обмена и почечной функции (кальций общий и ионизированный, фосфор, щелочная фосфатаза, креатинин) для исключения метаболических нарушений, способных повлиять на сократительную способность мышц.

### Методы регистрации исходов

Для определения активности заболеваний у пациентов и исключения гиперкортицизма и акромегалии в группе контроля были исследованы уровни свободного кортизола в суточной моче (пациенты с БИК), свободного кортизола в вечерней слюне и IGF1. Свободный кортизол в суточной моче измеряли иммунохемилюминесцентным методом на анализаторе Vitros Eci (США, Великобритания) (референсные значения 60–413 нмоль/сут). Для определения уровня свободного кортизола в слюне использован электрохемилюминесцентный модуль Cobas e601 (Roche, Швейцария) (0,5–9,4 нмоль/л). IGF1 был определен иммунохемилюминесцентным методом на анализаторе Liaison (Италия, Германия) (60–280 нг/мл).

Биохимический анализ крови проводился стандартными наборами на анализаторе Architect c4000 (Abbott, США) (кальций общий и ионизированный, фосфор, щелочная фосфатаза, креатинин).

Для определения уровня миокинов в сыворотке крови были использованы коммерчески доступные наборы для иммуноферментного анализа Myostatin ELISA kit Immunodiagnostik AG, IL6 (eBioscience BMS 213HS) и Irisin E\_ENG.001.B ELISA kit.

Сила сжатия кисти измерялась ручным динамометром (динамометр медицинский электронный ручной ДМЭР-120 с пределами измерения 2–120 даН и ценой деления 0,5 даН). Исследование проводилось двукратно с интервалом 5 с последовательно на правой и левой руке путем максимально сильного сжатия корпуса динамометра, отведенной на 90° и разогнутой в локтевом и лучезапястном суставах (норма для мужчин — >35 даН, для женщин — >25 даН). В последующем вычислялось среднее арифметическое значение для каждой руки в отдельности, которое и было использовано в расчетах.

### Этическая экспертиза

Локальным этическим комитетом ФГБУ «Эндокринологический научный центр» Минздрава России, согласно протоколу № 12 заседания Комитета от 28.10.2015 г., постановлено, что планируемая научная работа соответствует этическим стандартам добросовестной клинической практики и может быть проведена на базе отделения нейроэндокринологии и остеопатий ФГБУ «ЭНЦ».

Все пациенты подписывали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

### Статистический анализ

#### Принципы расчета размера выборки

Ввиду отсутствия пилотных исследований мощность выборки оценена эмпирически с учетом редкости данных заболеваний.

#### Методы статистического анализа данных

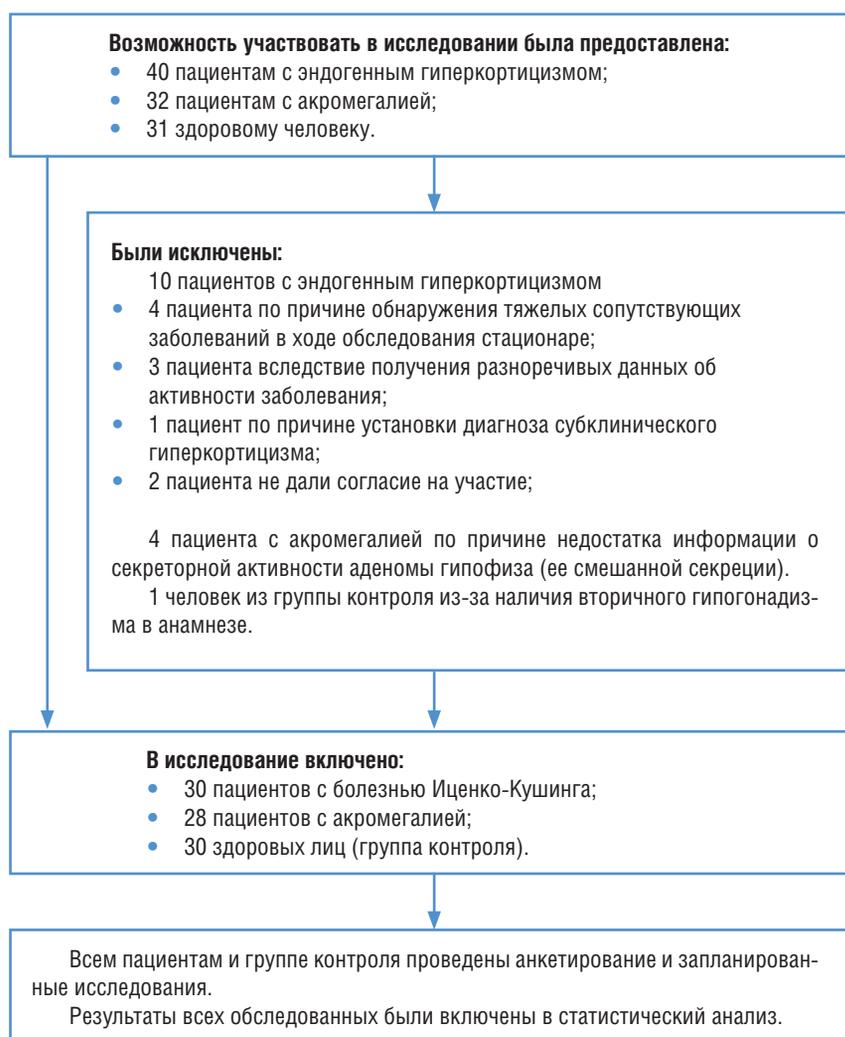
Анализ данных производился в пакете статистических программ IBM SPSS Statistics Base (SPSS, США). Описательная статистика: количественные значения признаков представлены как средние и 95% доверительный интервал (Confidence Interval, CI). Качественные параметры представлены в процентах. Для оценки различий по количественным параметрам в трех независимых выборках был использован однофакторный дисперсионный анализ ANOVA и в последующем апостериорный (post hoc) анализ при выявлении различий между группами с поправкой Бонферрони. Для сравнения качественных пропорций использовался точный критерий Фишера. Корреляционный анализ проводился параметрическим методом — применялась корреляция Пирсона (r). Статистически достоверным считался  $p < 0,05$ . Все  $p$  рассчитывались как двусторонние.

## Результаты

### Объекты (участники) исследования

Процесс формирования групп пациентов и контроля кратко изложен на рис. 1.

В исследование были включены 88 человек, из них 51 женщина и 37 мужчин без различий по полу между группами ( $p=0,492$ ). Средний возраст обследованных составил 38 лет (95% CI 35–41), существенно не различаясь во всех группах ( $p=0,062$ ), ИМТ — 27 кг/м<sup>2</sup> (95% CI 26–28) ( $p=0,174$ ). Средняя продолжительность заболевания с мо-



**Рис. 1.** Схема включения в исследование пациентов и группы контроля. Приведено описание алгоритма исключения пациентов и лиц контроля из протокола проведения исследования для соответствия критериям, указанным в разделе «Методы»

мента установки диагноза у пациентов с БИК составила 2,0 года (95% CI 0,6342–3,3658), у пациентов с акромегалией — 2,4 года (95% CI 0,8940–3,8203), т.е. была сопоставима в обеих группах.

Предварительно у пациентов с БИК и акромегалией были исследованы уровни свободного кортизола в суточной моче и IGF1 в сыворотке крови соответственно, для подтверждения активности заболевания: среднее значение свободного кортизола в суточной моче у пациентов с БИК составило 2887 нмоль/сут (95% CI 1285–4489); данные по IGF1 представлены в табл. 1. Эти показатели значимо выше, нежели в группе контроля ( $p < 0,001$ ), что подтверждает активность заболевания в обеих группах. Для исключения смешанной секреции аденомы во всех группах были исследованы уровни IGF1 и свободного кортизола в слюне поздно вечером (в 23:00). Эти показатели были в пределах референсных значений для пациентов с БИК и акромегалией соответственно.

Общая характеристика включенных участников приведена в табл. 1.

### Основные результаты исследования

В ходе проведенного анкетирования 19 пациентов с БИК (63,3% от их общего числа) отметили признаки мышечной слабости, преимущественно в конечностях. В структуре обследованных с проявлениями саркопении доля пациентов с БИК составила также 63,3% (рис. 2), что

подтвердило хорошо известный факт развития стероидной миопатии в условиях гиперкортицизма. В то же время 30% обследованных с указанными проявлениями мышечной слабости составили пациенты с акромегалией, что также значительно превысило количество здоровых лиц, указавших на наличие упомянутых признаков (6,7%). Среди обследуемых с самопроизвольными падениями вследствие мышечной слабости почти половину (48,57%) составили пациенты с болезнью Иценко–Кушинга. Преобладание пациентов с БИК среди обследованных с мышечной слабостью было подтверждено измерением силы сжатия при помощи кистевого динамометра: статистически достоверные результаты были получены при определении силы правой руки (как правило, рабочей), которая была ниже у пациентов с БИК по сравнению как с пациентами, страдающими акромегалией, так и со здоровыми лицами.

Несмотря на статистически значимые различия по жалобам на мышечную слабость, функциональным возможностям мышц, отраженным в силе сжатия динамометра, а также количеству самопроизвольных падений за последний год, секреторная функция мышечной ткани у пациентов с БИК, акромегалией и лиц группы контроля статистически значимо не отличалась (табл. 2).

При проведении корреляционного анализа не выявлено зависимости сывороточной концентрации миокинов от уровня свободного кортизола в суточной моче

Таблица 1. Общая характеристика включенных пациентов\*

Параметры	Эндегенный гиперкортицизм, М (95% CI)	Акромегалия, М (95% CI)	Контроль, М (95% CI)	p (ANOVA)
Количество больных	30	28	30	
Возраст, лет	38,43 (31,43–45,43)	41,72 (35,84–47,60)	37,33 (31,93–42,74)	0,062
Пол М / Ж, %	33,33/66,67	46,43/53,57	46,67/53,33	0,492
Индекс массы тела, кг/м <sup>2</sup>	27,83 (24,79–30,86)	28,99 (26,57–31,40)	29,70 (25,92–33,47)	0,174
Кальций общий, ммоль/л	2,41 (2,37–2,46)	2,40 (2,35–2,44)	2,38 (2,34–2,41)	0,421
Фосфор, ммоль/л	1,19 (1,12–1,25)	1,41 (1,35–1,46)	1,18 (1,12–1,25)	<0,001
Щелочная фосфатаза, Ед/л	67,14 (56,32–77,96)	79,17 (67,32–91,02)	54,43 (48,37–60,49)	0,002
Креатинин, мкмоль/л	78,64 (72,81–84,47)	63,94 (60,79–67,09)	72,45 (68,14–76,75)	<0,001
IGF1, нг/мл	210 (162–259)	803 (688–917)	176 (150–202)	<0,001
Число лиц с жалобами на мышечную слабость	19	9	2	<0,001
Количество пациентов с зафиксированными за последний год падениями	17	12	6	0,014
Число пациентов с низкотравматическими переломами в анамнезе	19	11	2	<0,001
Число пациентов с гипогонадизмом, выявленным в ходе обследования**	11	8	0	0,04
Число пациентов с сахарным диабетом	9	7	1	0,09
Динамометрия справа, даН	31,31 (27,58–35,04)	41,88 (34,55–49,20)	40,07 (32,02–48,12)	0,042
Динамометрия слева, даН	30,45 (26,96–33,94)	39,69 (32,83–46,56)	38,13 (31,52–44,75)	0,09

Примечание. \* — данные представлены в виде средних (М) и 95% доверительного интервала; \*\* — имеется в виду вторичный гипогонадизм, развившийся на фоне заболевания, женщины в постменопаузе в указанную статистику не включались.

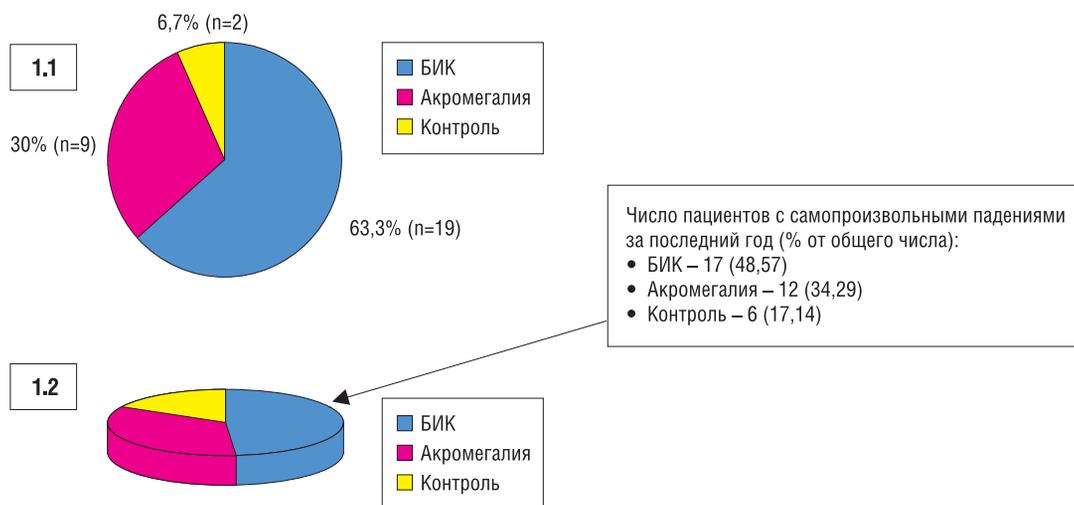


Рис. 2. Структура пациентов с клиническими признаками мышечной слабости. На диаграмме 1.1 представлено распределение обследованных с выявленной в ходе анкетирования мышечной слабостью (как проксимальной, так и дистальной). Распределение обследуемых с самопроизвольными падениями вследствие мышечной слабости представлено на диаграмме 1.2

Таблица 2. Содержание миокинов в сыворотке крови пациентов с болезнью Иценко–Кушинга, акромегалией и здоровой группы контроля\*

Параметры	Эндогенный гиперкортицизм, М (95% CI)	Акромегалия, М (95% CI)	Контроль, М (95% CI)	p (ANOVA)
Иризин, мкг/мл	3,02 (2,54–3,50)	2,88 (2,07–3,69)	3,79 (2,55–5,03)	0,146
Миостатин, нг/мл	22,60 (18,62–26,58)	21,25 (18,11–24,38)	24,04 (17,66–30,42)	0,501
Интерлейкин 6, пг/мл	1,87 (0,48–3,26)	0,76 (0,49–1,03)	1,56 (0,20–3,31)	0,343

Примечание. \* — данные представлены в виде средних (М) и 95% доверительного интервала.

или IGF1 в сыворотке крови. Вместе с тем сохранялась сильная корреляционная зависимость между уровнями миостатина и иризина среди больных с акромегалией —  $r=0,726$  ( $p<0,0001$ ); у пациентов с БИК —  $r=0,457$  ( $p=0,011$ ), в группе контроля —  $r=0,731$  ( $p<0,001$ ), а также среди всех лиц, включенных в исследование, —  $r=0,665$  ( $p<0,0001$ ) (рис. 3).

**Дополнительные результаты исследования**

Уровень общего кальция, который важен для нормальной сократительной функции мышц, был сопоставим во всех группах, однако средний уровень фосфора у пациентов с акромегалией существенно превышал таковой у пациентов с БИК и лиц контроля.

Умеренное повышение фосфора по сравнению с контролем, выявленное в нашем исследовании, было ранее описано у пациентов с акромегалией [14]. Показатели креатинина демонстрировали существенную разницу между пациентами с БИК и акромегалией, в контрольной группе — результат промежуточный. Тем не менее снижения скорости клубочковой фильтрации  $<60$  мл/1,73 м<sup>2</sup> в мин не наблюдалось ни у одного из обследованных лиц, т.е. мы вправе говорить о сохранной почечной функции и отсутствии существенного влияния почечного клиренса на уровень биологически активных веществ, в т.ч. миокинов.

**Нежелательные явления**

Нежелательных явлений в ходе исследования не отмечено ни в одной из трех групп.

**Обсуждение**

**Резюме основного результата исследования**

В настоящем исследовании проведен анализ функциональных возможностей мышц и сывороточных уровней отдельных миокинов, т.е. эндокринной функции мышц у пациентов с БИК и акромегалией, которые имеют яркую клиническую картину изменений опорно-двигательного аппарата. Хотя клиническое влияние этих нейроэндокринных заболеваний на состояние опорно-двигательного аппарата достаточно очевидно, различий по сывороточному содержанию исследованных миокинов между пациентами с эндогенной гиперпродукцией кортизола и соматотропного гормона и здоровыми лицами контрольной группы не выявлено.

**Обсуждение основного результата исследования**

Исследованные нами миокины были выбраны ввиду известных значительных изменений, в том числе в объеме мышечной и жировой ткани (миостатин, иризин), описанных у больных с БИК и акромегалией, а также изменений иммунологического статуса и, следовательно, воспалительных реакций у пациентов с БИК, что могло бы найти отражение в изменении уровня цитокина ИЛ6. Относительно последнего имеются также сведения о способности некоторых клеток гипофиза к экспрессии мРНК ИЛ6 и его секреции [15]. Синтез миостатина, как было показано Shyu и соавт. [16] и Gaussin и соавт. [17], стимулируется IGF1, что приводит к реализации механизма отрицательной обратной связи и ингибированию IGF1.

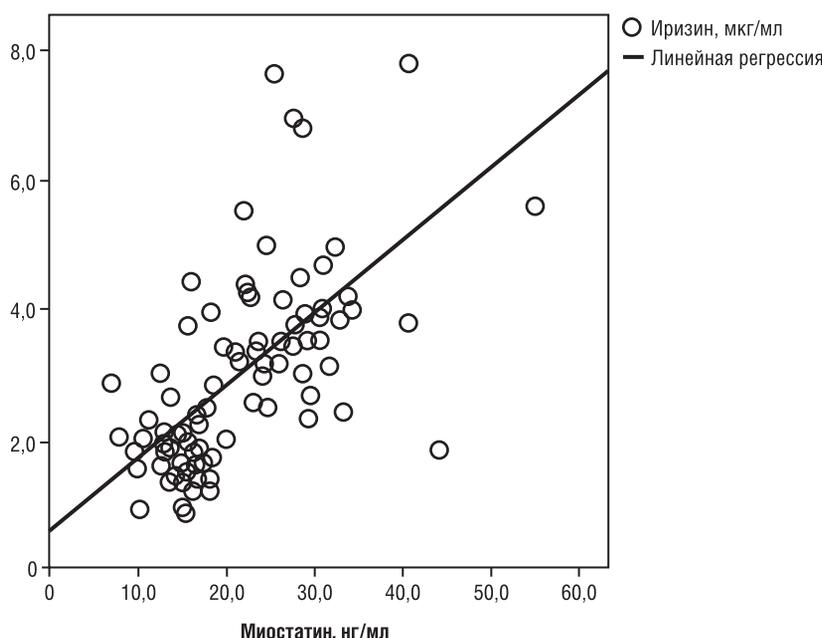


Рис. 3. Корреляционная зависимость уровня миостатина и иризина в общей выборке участников исследования (n=88). Выявлена статистически значимая корреляционная зависимость иризина и миостатина в целом в исследуемой когорте и по группам пациентов/контроля

Следует отметить, что это первое исследование, посвященное содержанию миокинов при БИК и акромегалии. Те исследования, которые имели место ранее, в основном проводились в лабораторных условиях *in vitro* или *in vivo* на лабораторных животных. В клинической практике метаболические эффекты миокинов (иризина) изучались у лиц с ожирением [18, 19] и/или сахарным диабетом [20]: в результате были выявлены некоторые положительные взаимосвязи между уровнем миокинов и массой тела.

Учитывая наличие клинических признаков мышечной атрофии (а следовательно, снижение потенциальной секреторной активности) почти у 2/3 пациентов с болезнью Иценко–Кушинга и менее чем у 1/3 пациентов с акромегалией, наиболее вероятным результатом исследования могло бы стать обнаружение повышенного уровня миостатина и сниженных — иризина и ИЛ6 у лиц с БИК и акромегалией. Соотношение обследованных с интересующими нас эндокринными патологиями (63,3 и 30% для БИК и акромегалии соответственно) и лиц из группы контроля (6,7%) в структуре пациентов с признаками мышечной слабости (см. рис. 2) достаточно убедительно демонстрирует влияние заболевания на развитие последней. Об этом же свидетельствуют и данные кистевой динамометрии, и статистика самопроизвольных падений за последний год. Однако вопреки предполагавшимся исходам исследования статистически значимых различий в уровне миокинов у пациентов и здоровых лиц не обнаружено ни по одному из оцениваемых показателей. Значения ИЛ6, иризина и миостатина никак не соотносились со степенью выраженности метаболических нарушений (в частности, при ожирении и патологии углеводного обмена). Продукция ИЛ6 в аденогипофизе, судя по полученным данным, не зависит от наличия гормонально-активных аденом (в нашем случае — кортикотропин- и соматотропинпродуцирующих). Что касается миостатина, стимуляция его синтеза в мышечных волокнах под действием IGF1 не достигает статистически значимых величин даже у пациентов с активной стадией акромегалии. Корреляционный анализ лишь подтвердил полученные результаты, не показав зависимости сывороточной концентрации миокинов от степени активности заболевания (определенной по уровню свободного кортизола в суточной моче или сывороточного IGF1 для БИК и акромегалии соответственно). Более того, была обнаружена положительная корреляционная зависимость между миостатином и иризином во всех группах участников исследования (см. рис. 3), что представляется довольно парадоксальным исходом. По всей видимости, повышенное содержание кортизола или соматотропного гормона вследствие гормонально-активных новообразований гипофиза у людей в условиях сходных физических нагрузок,

ограниченных повседневной активностью, не приводит к изменению секреции миостатина, ИЛ6 или иризина, даже несмотря на выявленные нарушения углеводного обмена у пациентов с нейроэндокринной патологией, в то время как у больных сахарным диабетом 2-го типа уровни миокинов изменяются [21], а корреляционная зависимость миостатина и иризина приобретает отрицательный характер [22].

На наш взгляд, требуется дальнейшее исследование секреции миокинов в условиях эндогенного гиперкортицизма и гиперпродукции соматотропного гормона на большей выборке пациентов с целью подтверждения описанных нами результатов.

### Ограничения исследования

Коллектив авторов допускает, что определенное влияние на полученные результаты оказал объем произведенной выборки; с другой стороны, значения *p* достаточно велики, чтобы связывать отсутствие различий между группами исключительно с объемом выборки.

### Заключение

Таким образом, несмотря на выраженные клинические изменения со стороны общего функционального состояния мышц при эндогенном гиперкортицизме вследствие болезни Иценко–Кушинга и при повышенном содержании IGF1 и соматотропного гормона у пациентов с акромегалией, секреторная функция мышц не изменяется и, по всей видимости, зависит, в первую очередь, от уровня физической активности. Метаболические нарушения, развивающиеся у пациентов с БИК и акромегалией, связаны с изменением концентрации гормонов и, судя по полученным результатам, не опосредуются через изменения секреторной активности мышц.

### Источник финансирования

Финансирование работы проводилось за счет средств гранта Президента РФ для молодых ученых МД-3332.2015.7.

### Конфликт интересов

Коллектив авторов подтверждает отсутствие конфликта интересов по данному исследованию в ходе его проведения и на момент подачи рукописи данной статьи в редакцию, о котором следовало сообщить.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Pedersen BK, Febbraio MA. Muscle as an endocrine organ: focus on muscle-derived interleukin-6. *Physiol Rev.* 2008;88(4):1379–1406. doi: 10.1152/physrev.90100.2007.
2. Pedersen BK, Febbraio MA. Muscles, exercise and obesity: skeletal muscle as a secretory organ. *Nat Rev Endocrinol.* 2012;8(8):457–465. doi: 10.1038/nrendo.2012.49.
3. Pratesi A, Tarantini F, Di Bari M. Skeletal muscle: an endocrine organ. *Clin Cases Miner Bone Metab.* 2013;10(1):11–14. doi: 10.11138/ccmbm/2013.10.1.011.
4. Pedersen L, Hojman P. Muscle-to-organ cross talk mediated by myokines. *Adipocyte.* 2012;1(3):164–167. doi: 10.4161/adip.20344.
5. Friedenreich CM, Orenstein MR. Physical activity and cancer prevention: etiologic evidence and biological mechanisms. *J Nutr.* 2002;132(11 Suppl):3456–3464.
6. Holick CN, Newcomb PA, Trentham-Dietz A, et al. Physical activity and survival after diagnosis of invasive breast cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2008;17(2):379–386. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-07-0771.
7. Hojman P, Dethlefsen C, Brandt C, et al. Exercise-induced muscle-derived cytokines inhibit mammary cancer cell growth. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2011;301(3):E504–510. doi: 10.1152/ajpendo.00520.2010.

8. Allen DL, Hittel DS, McPherron AC. Expression and function of myostatin in obesity, diabetes, and exercise adaptation. *Med Sci Sports Exerc.* 2011;43(10):1828–1835. doi: 10.1249/MSS.0b013e3182178bb4.
9. Cohen S, Nathan JA, Goldberg AL. Muscle wasting in disease: molecular mechanisms and promising therapies. *Nat Rev Drug Discov.* 2015;14(1):58–74. doi: 10.1038/nrd4467.
10. Rana KS, Arif M, Hill EJ, et al. Plasma irisin levels predict telomere length in healthy adults. *Age (Dordr).* 2014;36(2):995–1001. doi: 10.1007/s11357-014-9620-9.
11. Белая Ж.Е., Рожинская Л.Я., Драгунова Н.В., и др. Метаболические осложнения эндогенного гиперкортицизма. Выбор пациентов для скрининга // *Ожирение и метаболизм.* — 2013. — №1. — С. 26–31. [Belaya ZE, Rozhinskaya LY, Dragunova NV, et al. Metabolic complications of endogenous Cushing: patient selection for screening. *Obesity and metabolism.* 2013;(1):26-31. (In Russ).] doi: 10.14341/2071-8713-5068.
12. Драгунова Н.В., Белая Ж.Е., Рожинская Л.Я. Состояние костно-мышечной системы при эндогенном гиперкортицизме // *Остеопороз и остеопатии.* — 2012. — №3. — С. 18–24. [Dragunova NV, Belaya ZE, Rozhinskaya LY. Musculoskeletal system in the endogenous hypercortisolism. *Osteoporosis and osteopathy.* 2012;(3):18–24. (In Russ).]
13. Потешкин Ю.Е., Пронин В.С., Мельниченко Г.А., и др. Влияние избытка гормона роста и ИФР-1 на костно-суставную систему при акромегалии // *Актуальная эндокринология.* — 2015. — №10. — С. 1–30. [Poteshkin YE, Pronin VS, Melnichenko GA, et al. Growth hormone and IGF-1 effects on articular and skeletal system in acromegaly. *Aktual'naya endokrinologiya.* 2015;(10):1–30. (In Russ).] doi: 10.18508/endo3539.
14. Halse J, Haugen HN. Calcium and phosphate metabolism in acromegaly. *Acta Endocrinol (Copenh).* 1980;94(4):459–467.
15. Borg SA, Kerry KE, Baxter L, et al. Expression of interleukin-6 and its effects on growth of HP75 human pituitary tumor cells. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003;88(10):4938–4944. doi: 10.1210/jc.2002-022044.
16. Shyu KG, Ko WH, Yang WS, et al. Insulin-like growth factor-1 mediates stretch-induced upregulation of myostatin expression in neonatal rat cardiomyocytes. *Cardiovasc Res.* 2005;68(3):405–414. doi: 10.1016/j.cardiores.2005.06.028.
17. Gaussin V, Depre C. Myostatin, the cardiac chalone of insulin-like growth factor-1. *Cardiovasc Res.* 2005;68(3):347–349. doi: 10.1016/j.cardiores.2005.09.007.
18. Demirpençe M, Yılmaz H, Colak A, et al. The effect of sleeve gastrectomy on serum irisin levels in patients with morbid obesity. *Endokrynol Pol.* 2016. doi: 10.5603/EP.a2016.0029.
19. Polyzos SA, Kountouras J, Anastasilakis AD, et al. Irisin in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Metabolism.* 2014;63(2):207–217. doi: 10.1016/j.metabol.2013.09.013.
20. Li L, Rampersad S, Wang X, et al. Serum irisin concentrations were increased after transient continuous subcutaneous insulin infusion in type 2 diabetes mellitus patients. *Diabetes Res Clin Pract.* 2016;113:44–47. doi: 10.1016/j.diabres.2016.01.030.
21. Белая Ж.Е., Смирнова О.М., Дедов И.И. Роль физических нагрузок в норме и при сахарном диабете // *Проблемы эндокринологии.* — 2005. — Т. 51. — №2. — С. 28–37. [Belaya ZE, Smirnova OM, Dedov II. Rol' fizicheskikh nagruzok v norme i pri sakharnom diabete. *Probl Endokrinol (Mosc).* 2005;51(2):8–37. (In Russ).]
22. Garcia-Fontana B, Reyes-Garcia R, Morales-Santana S, et al. Relationship between myostatin and irisin in type 2 diabetes mellitus: a compensatory mechanism to an unfavourable metabolic state? *Endocrine.* 2016;52(1):54–62. doi: 10.1007/s12020-015-0758-8.

### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Цориев Тимур Тамерланович**, аспирант отделения нейроэндокринологии и остеопатий Федерального государственного бюджетного учреждения «Эндокринологический научный центр» Министерства здравоохранения Российской Федерации  
**Адрес:** 117036, Москва, ул. Дмитрия Ульянова, д. 11, **тел.:** +7 (916) 631-92-60, **e-mail:** timur.tsoriev@gmail.com

**Белая Жанна Евгеньевна**, доктор медицинских наук, главный научный сотрудник, заведующая отделением нейроэндокринологии и остеопатий Федерального государственного бюджетного учреждения «Эндокринологический научный центр» Министерства здравоохранения Российской Федерации  
**Адрес:** 117036, Москва, ул. Дмитрия Ульянова, д. 11, **тел.:** +7 (499)668-20-79, **e-mail:** jannabelaya@gmail.com

**Рожинская Людмила Яковлевна**, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник отделения нейроэндокринологии и остеопатий Федерального государственного бюджетного учреждения «Эндокринологический научный центр» Министерства здравоохранения Российской Федерации  
**Адрес:** 117036, Москва, ул. Дмитрия Ульянова, д. 11, **тел.:** +7 (499)668-20-79, **e-mail:** rozhinskaya@rambler.ru

**Мельниченко Галина Афанасьевна**, академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, директор Института клинической эндокринологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Эндокринологический научный центр» Министерства здравоохранения Российской Федерации  
**Адрес:** 117036, Москва, ул. Дмитрия Ульянова, д. 11, **тел.:** +7 (495)500-00-96, **e-mail:** teofrast2000@mail.ru

**Гребенникова Татьяна Алексеевна**, клинический ординатор второго года обучения Федерального государственного бюджетного учреждения «Эндокринологический научный центр» Министерства здравоохранения Российской Федерации  
**Адрес:** 117036, Москва, ул. Дмитрия Ульянова, д. 11, **тел.:** +7(985)483-16-94, **e-mail:** grebennikova@hotmail.com

**Ильин Александр Викторович**, заведующий клинико-диагностической лабораторией Федерального государственного бюджетного учреждения «Эндокринологический научный центр» Министерства здравоохранения Российской Федерации  
**Адрес:** 117036, Москва, ул. Дмитрия Ульянова, д. 11, **тел.:** +7 (499)126-76-00, **e-mail:** alexilin2005@yandex.ru

**Никанкина Лариса Вячеславовна**, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник клинико-диагностической лаборатории Федерального государственного бюджетного учреждения «Эндокринологический научный центр» Министерства здравоохранения Российской Федерации  
**Адрес:** 117036, Москва, ул. Дмитрия Ульянова, д. 11, **тел.:** +7 (499)126-76-00, **e-mail:** larisarikan@rambler.ru

**Дедов Иван Иванович**, академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, директор Федерального государственного бюджетного учреждения «Эндокринологический научный центр» Министерства здравоохранения Российской Федерации  
**Адрес:** 117036, Москва, ул. Дмитрия Ульянова, д. 11, **тел.:** +7(499)124-43-00, **e-mail:** dedov@endocrincentr.ru

DOI: 10.15690/vramn629

Л.И. Колесникова, И.М. Мадаева, Н.В. Семёнова, Е.В. Осипова, М.А. Даренская

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

# Гендерные особенности процессов свободно-радикального окисления липидов при возрастных гормонально-дефицитных состояниях

**Обоснование.** Изучение вопросов, связанных со старением, занимает одно из ведущих мест в современной фундаментальной и клинической медицине. Определенным рубежом в инволюции как женского, так и мужского организма является утрата репродуктивной функции, что приводит к целому ряду патологических изменений со стороны различных органов и систем. Представляется интересным проведение сравнительной оценки течения окислительно-восстановительных процессов у мужчин и женщин при возрастном снижении половых стероидов. **Цель исследования:** определить особенности течения процессов свободно-радикального окисления липидов в мено- и андропаузе. **Методы:** клиничко-anamnestическое обследование, исследование системы перекисного окисления липидов-антиоксидантной защиты (ПОЛ-АОЗ) и расчет коэффициента окислительного стресса как интегрального показателя активности процессов перекисидации. В исследовании участвовали 74 женщины, из них 22 в периоде перименопаузы, средний возраст  $49,03 \pm 3,13$  года; 15 — в постменопаузе, средний возраст  $54,43 \pm 4,54$  года. Группу сравнения составили 37 здоровых репродуктивных женщин в возрасте  $34 \pm 1,2$  года. В группу мужчин с возрастным андрогенным дефицитом вошли 20 человек в возрасте  $50,38 \pm 2,63$  года, в группу сравнения — 17 мужчин, средний возраст  $35,21 \pm 4,75$  года. По индексу массы тела основные и контрольные группы были сопоставимы. **Результаты.** Установлено, что в пери- и постменопаузе увеличивается содержание в крови субстратов с сопряженными двойными связями. В системе АОЗ отмечается снижение содержания в крови жирорастворимых витаминов по сравнению с перименопаузой. При сравнении групп мужчин отличий не обнаружено. Сопоставление групп в зависимости от гендерной принадлежности показало, что у мужчин повышено содержание субстратов с сопряженными двойными связями и окисленной формы глутатиона, снижено содержание кетодиенов и сопряженных триенов,  $\alpha$ -токоферола и супероксиддисмутаза. Коэффициент окислительного стресса у женщин в перименопаузе составил 2,05, а в постменопаузе — 3,48. У мужчин при переходе от репродуктивной фазы к угасанию данный показатель равен 0,97, что указывает на баланс между прооксидантными и антиоксидантными звеньями. **Заключение.** Выраженная активность процессов ПОЛ-АОЗ является более физиологичной при возрастном андрогенном дефиците, чем при эстрогендефицитных состояниях у женщин, обуславливая большие функциональные резервы и адаптивные возможности при относительно плавном снижении функции секреции андрогенов тестикулами.

**Ключевые слова:** перекисное окисление липидов, антиокислительная защита, окислительный стресс, возрастной гипогонадизм, перименопауза, постменопауза.

**(Для цитирования:** Колесникова Л.И., Мадаева И.М., Семёнова Н.В., Осипова Е.В., Даренская М.А. Гендерные особенности процессов свободно-радикального окисления липидов при возрастных гормонально-дефицитных состояниях. *Вестник РАМН*. 71(3):248–254. doi: 10.15690/vramn629)

## Обоснование

Изучение вопросов, связанных со старением, занимает одно из ведущих мест в современной фундаментальной и клинической медицине. Старение — естественный и непреложный процесс. Определенным рубежом в инволюции как женского, так и мужского организма является утрата репродуктивной функции, что приводит к целому ряду патологических изменений со стороны разных органов и систем [1].

Несмотря на развитие различных теорий старения, которых насчитывается более 300, начиная со знаменитого феномена «лимит Хейфлика», рассматривающего инволюционные процессы как индивидуальный и программированный лимит деления клетки, заканчивая современными теориями, основанными на молекулярно-генетических механизмах, интерес к проблеме старения не утихает. Однако, еще в XX в. D. Hartmann [2] сформулировал теорию о роли свободнорадикального окисления (СРО) липидов в старении организма, заключающуюся в разрушении клеточных макромолекул (ДНК, белки, липиды) гидроксильными радикалами и синглетным кислородом. Следует отметить, что контроль уровня свободных радикалов в клетках представляет собой сложный регуляторный механизм, нарушающийся при старении в результате дисрегуляции окислительно-восстановительного баланса, причем причина подобной

дисрегуляции до сих пор не представляется ясной. Ранее проведенными исследованиями была доказана роль многокомпонентной системы антиоксидантной защиты в инактивации свободных радикалов при различных патологических состояниях во время сна [3, 4]. Одним из признаков старения человека является снижение уровня половых гормонов, приводящих к снижению репродуктивной функции. Несмотря на имеющиеся в литературе данные [5, 6] по изучению процессов СРО липидов при менопаузе, представляется интересным проведение сравнительной оценки течения окислительно-восстановительных процессов у мужчин и женщин при возрастном снижении половых стероидов, что даст возможность патогенетически обосновать гендерную дифференциацию подходов к терапии и коррекции возникающих метаболических нарушений.

**Цель исследования:** определить особенности течения процессов свободно-радикального окисления липидов в мено- и андропаузе и провести сравнительную оценку данных процессов в различных гендерных и возрастных группах.

## Методы

### Дизайн исследования

Проведено проспективное нерандомизированное исследование.

**Критерии соответствия**

**Критерии включения женщин в группу перименопаузы:**

- возраст 45–55 лет;
- концентрация фолликулостимулирующего гормона (ФСГ) >20 мЕд/мл;
- изменение ритма менструаций по типу олигоменореи или отсутствие менструальной функции в течение 12 мес;
- ультразвуковые параметры: несоответствие структуры и толщины эндометрия 1-й и 2-й фазе менструального цикла;
- истощение фолликулярного аппарата яичников.

**Критерии включения женщин в группу постменопаузы:**

- возраст 56–60 лет;
- отсутствие менструальной функции более 24 мес;
- уровень ФСГ >20 мЕд/мл, индекс лютеинизирующий гормон (ЛГ) /ФСГ <1;
- ультразвуковые критерии: тонкий нефункциональный эндометрий, М-эхо ≤0,5 см; отсутствие фолликулярного аппарата яичников.

**Критерии включения женщин в группу сравнения:**

- женщины в возрасте 32–34 лет;
- сохранная менструальная функция;
- уровни гормонов в фолликулиновую фазу: ЛГ1, 1–8,7; ФСГ 1,8–11,3 мЕд/мл; эстрадиол 0,05–0,07 нмоль/л.

**Критерии исключения женщин из исследования:**

- применение заместительной гормонотерапии;
- декомпенсированные психические, неврологические, сердечно-сосудистые, эндокринные заболевания;
- обострение хронических заболеваний;
- индекс массы тела (ИМТ) >25 кг/м<sup>2</sup>;
- вредные привычки (курение, прием алкоголя >7 доз в нед).

**Критерии включения мужчин в группу с возрастным андрогенным дефицитом:**

- возраст 46–55 лет;

- общий тестостерон <12,1 нмоль/л.

**Критерии исключения мужчин из исследования:**

- декомпенсированные психические, неврологические, сердечно-сосудистые, эндокринные заболевания;
- обострение хронических заболеваний;
- вредные привычки (курение, прием алкоголя >7 доз в нед);
- ИМТ >24,9 кг/м<sup>2</sup>;
- объем талии >94 см.

**Критерии включения мужчин в группу сравнения:**

- возраст 35,21 ± 4,75 года;
- общий тестостерон >12,1 нмоль/л.

**Условия проведения**

Исследование проведено в лаборатории патофизиологии ФГБНУ «НЦ ПЗСРЧ», Иркутск.

**Продолжительность исследования**

Исследование проведено в 2013–2015 гг.

**Медицинское вмешательство в данном исследовании**

Забор крови для гормональных и биохимических исследований осуществляли из локтевой вены, натощак, с 8 до 9 ч утра в соответствии с общепринятыми требованиями. В качестве материала для биохимических исследований использовали сыворотку, плазму крови и гемолизат, приготовленный из эритроцитов. Сбор анамнеза, клиническое исследование (осмотр, ультразвуковое исследование половых органов) были проведены врачами гинекологом, эндокринологом и урологом.

**Исходы исследования**

Определены показатели системы пероксидации: субстраты окисления, диеновые конъюгаты (ДК), кетодиены и сопряженные триены (КД-СТ), активный продукт тиобарбитуровой кислоты (ТБК-АП).

L.I. Kolesnikova, I.M. Madaeva, N.V. Semenova, E.V. Osipova, M.A. Darenskaya

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

**Gender Features of Radical Oxidation of Lipids in Menopausal Women and Men in Andropause**

**Aims:** Our aim was to assess lipid peroxidation — antioxidant protection in menopausal women and men in andropause and to compare these processes in different gender and age groups. **Materials and methods:** 74 women and 37 men were examined. This study was a prospective, randomized cohort study. Women were divided into perimenopausal group (n=22, mean age 49.03±3.13), postmenopausal group (n=15, mean age 54.43±4.54) and control (n=37, mean age 34±1.2). Men were divided into a group of andropause (n=20, mean age 50.38±2.63) and control (n=17, mean age 35.21±4.75). Body mass index in the main and control groups was comparable. Questionnaires, clinical examination, assessment of the lipid peroxidation-antioxidant defense system, and the calculation of oxidative stress ratio were conducted to all participants of the study. **Results:** In women from the reproductive phase transition to its extinction increases content of compounds with conjugated double bonds by 22% (p<0.05) in perimenopause and by 27% (p<0.05) in postmenopause, increases content of the ketodienes and coupled trienes by 21% (p<0.05) in perimenopause relative to the control group and reduced by 27% (p<0.05) in postmenopausal women relative to the group of perimenopause. The antioxidant system in women observed the following changes: decrease in the α-tocopherol levels in postmenopausal women by 37% relative to control and by 22% (p<0.05) to compare perimenopause; reduction of retinol level by 29% (p<0.05) in the perimenopause and by 39% (p<0.05) in postmenopause relative to control, increasing of the content of GSSG by 18% (p<0.05) in postmenopause to compare control. When comparing groups of men statistically significant differences were not found. When comparing the groups according to gender, we revealed in men the increased content of compounds with conjugated double bonds by 38% (p<0.05), the GSSG by 13% (p<0.05), reduced content of the ketodienes and coupled trienes by 43% (p<0,05), α-tocopherol by 24% (p<0.05), SOD activity by 9% (p<0.05). Coefficient oxidative stress in perimenopausal women was 2,5, in postmenopausal — 3,48, in andropause — 0,97. **Conclusions:** Expressed lipid peroxidation activity is more physiological in andropause than in menopause. Men in andropause have large functional reserves and adaptive capacity than menopausal women.

**Key words:** lipid peroxidation, antioxidant protection, oxidative stress, andropause, perimenopause, postmenopause, aging.

(For citation: Kolesnikova L.I., Madaeva I.M., Semenova N.V., Osipova E.V., Darenskaya M.A. Gender Features of Radical Oxidation of Lipids in Menopausal Women and Men in Andropause. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2016;71(3):248–254. doi: 10.15690/vramn629)

**Анализ в подгруппах**

При формировании групп использовали такие показатели, как пол, возраст, стадии эстрогендефицита, возрастное снижения уровня андрогенов.

**Методы регистрации исходов**

Спектрофотометрическими методами определяли содержание субстратов для процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) — соединений с изолированными двойными связями (усл. ед.), продуктов процессов липопероксидации — ДК, (мкмоль/л), КД-СТ, (усл. ед.) по методу И.А. Волчегорского и соавт. [7]. Содержание ТБК-АП (мкмоль/л) липопероксидации определяли в реакции с тиобарбитуровой кислотой методом В.Б. Гаврилова с соавт. [8]. Антиоксидантный статус оценивали методом Г.И. Клебанова и соавт. по уровню общей антиокислительной активности сыворотки крови (усл.ед.) [9]. Об активности системы антиоксидантной защиты (АОЗ) судили также по содержанию α-токоферола и ретинола (мкмоль/л), определенных методом Р.Ч. Черняускене и соавт. [10], восстановленного и окисленного глутатиона (GSH и GSSG, ммоль/л) — методом P.J. Hsini и R. Hilf [11]. Активность супероксиддисмутазы (СОД, усл.ед.) устанавливали по динамике аутоокисления адреналина по методу Н.Р. Misra и I. Fridovich [12]. Измерения проводили на спектрофлуориметре SHIMADZU-1501 (Япония), состоящего из двух блоков — спектрофотометра UV-1650PC и спектрофлуориметра RF-1501. В качестве интегрального показателя для характеристики нарушений в системе ПОЛ-АОЗ применяли коэффициент окислительного стресса (КОС), который представляет собой отношение прооксидантного звена к антиоксидантному:

$$КОС = \frac{(Дв.св.i/Дв.св.n) \times (ДКи/ДКn)}{(СОДи/СОДn) \times (GSHi/GSHn)} \times \frac{(КД-СТi/КД-СТn) \times (ТБК-АПи/ТБК-АПn)}{(Ретинол i/Ретинол n) \times (\alpha\text{-Токоферол } i/\alpha\text{-Токоферол } n)}$$

где Дв.св. — изолированные двойные связи, *i* — показатели обследуемого пациента, *n* — средние показатели контрольной группы.

В норме КОС стремится к условной 1. Значение КОС >1 рассматривают как нарастание степени окислительного стресса. Чем больше величина КОС, тем более интенсивны процессы пероксидации липидов и менее эффективна система АОЗ у обследуемого пациента.

**Этическая экспертиза**

Обследование всех участников исследования соответствовало этическим нормам Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki, 2008). Все участники подписали письменное информированное согласие. Протокол исследования был рассмотрен Локальным биоэтическим комитетом ФБНУ «НЦ ПЗСРЧ» СО РАМН 25 февраля 2013 г. Заключение: Одобрить проведение данного исследования на базе ФГБНУ «НЦ ПЗСРЧ».

**Статистический анализ**

Размер выборки предварительно не рассчитывался, однако применяли стандартный набор величин, используемых в статистическом анализе, позволяющий достигнуть критический уровень значимости, равный 5% (*p*=0,05). Возможность подтвердить или опровергнуть предполагаемые различия между сравниваемыми группами позволяет использовать данный критический уровень значимости. Поскольку распределение показателей в изу-

чаемых группах не соответствовало нормальному, при анализе межгрупповых различий для независимых выборок использовали непараметрический критерий Манна–Уитни. Данные представлены в виде среднего (М) ± стандартное отклонение (σ). Для статистического анализа полученных данных использовали статистический пакет Statisticav. 6.1 (StatSoft Inc., США). ФГБНУ «НЦ ПЗСРЧ» имеет лицензию на правообладание данной версией.

**Результаты**

**Объект (участники) исследования**

В проспективном нерандомизированном исследовании в период 2013–2015 гг. в качестве добровольцев приняли участие 74 женщины и 37 мужчин. Отсутствие хронических и острых воспалительных заболеваний подтверждено данными анамнеза и заключением терапевта по месту жительства. Исследуемые были разделены на несколько групп в соответствии с возрастом, полом и течением возрастного гормонально-дефицитного состояния: 22 женщины (средний возраст 49,03±3,13 года) составили группу в состоянии перименопаузы, 15 (средний возраст 54,43±4,54 года) — группу в состоянии постменопаузы. Сохранный уровень репродуктивной функции и отсутствие эстрогенного дефицита обусловили выбор контрольной группы — 37 здоровых женщин в возрасте 34±1,2 года.

Группы мужчин, участвующие в исследовании, отбились в соответствии с возрастными характеристиками основных групп женщин с эстрогенной недостаточностью: группу с возрастным андрогенным дефицитом составили 20 человек (средний возраст 50,38±2,63 года), группу сравнения — 17 (средний возраст 35,21±4,75 года). По индексу массы тела основные и контрольные группы были сопоставимыми.

Всем участникам исследования проведено клинико-анамнестическое обследование (анкетирование, общеклиническое обследование), исследование системы ПОЛ-АОЗ.

**Основные результаты исследования**

Результаты наблюдений, характеризующие процессы липопероксидации в системе АОЗ в исследуемых группах, представлены в табл.

В результате проведенного исследования установлено, что у женщин в разные периоды эстрогенного дефицита увеличивается содержание в крови субстратов с сопряженными двойными связями на — 22% (*p*<0,05) в перименопаузе и на 27% (*p*<0,05) в постменопаузе; содержание КД-СТ повышается на 21% (*p*<0,05) в перименопаузе относительно группы сравнения и снижается на 27% (*p*<0,05) в постменопаузе относительно группы женщин перименопаузального периода. В системе АОЗ у женщин отмечены следующие изменения: снижение содержания в крови α-токоферола в постменопаузе на 37% и на 22% (*p*<0,05) в контрольной группе по сравнению с перименопаузой; снижение содержания ретинола на 29% (*p*<0,05) в перименопаузе и на 39% (*p*<0,05) в постменопаузе относительно контроля; повышение содержание GSSG на 18% (*p*<0,05) в постменопаузе относительно сравниваемой группы женщин репродуктивного периода.

При сравнении групп мужчин статистически значимых отличий не выявлено. При сравнении контрольных групп в зависимости от гендерной принадлежности выявлено, что у мужчин повышено содержание субстратов с сопряженными двойными связями на 38% (*p*<0,05),

Таблица. Показатели процессов ПОЛ-АОЗ в исследуемых группах

Показатель	Женщины			Мужчины		Уровень значимости, $p < 0,05$
	Контроль (n=37)	Перименопауза (n=22)	Постменопауза (n=15)	Контроль (n=17)	Возрастной андрогенный дефицит (n=20)	
	1	2	3	4	5	
M±δ						
Субстраты с Дв.св, усл.ед	1,47±0,50	1,79±0,97	1,86±0,75	2,03±1,52	2,06±0,84	1-2 1-3 1-4
ДК, мкмоль/л	0,97±0,60	1,10±0,72	1,00±0,60	1,33±1,21	1,78±1,32	2-5 3-5
КД-СТ, усл.ед	0,48±0,26	0,58±0,32	0,41±0,17	0,27±0,17	0,40±0,28	1-2 1-4 2-3
ТБК-активные продукты, мкмоль/л	0,91±0,42	1,30±0,48	0,87±0,29	1,81±0,36	0,73±0,37	2-5
АОА, усл. ед.	16,70±6,88	14,68±5,68	13,14±6,75	19,79±9,55	18,29±8,79	-
GSH, ммоль/л	2,43±0,11	2,64±0,45	2,63±0,48	2,82±0,89	2,49±0,53	-
GSSG, ммоль/л	1,66±0,07	1,84±0,51	1,96±0,35	1,87±0,25	1,69±0,48	1-3 1-4
α-Токоферол, мкмоль/л	9,74±0,54	7,86±3,28	6,16±1,27	7,44±2,42	8,85±2,45	1-3 1-4 2-3 3-5
Ретинол, мкмоль/л	0,96±0,06	0,68±0,22	0,58±0,20	0,78±0,13	0,81±0,23	1-2 1-3 2-3 3-5
СОД, усл.ед.	1,78±0,09	1,71±0,09	1,71±0,10	1,63±0,09	1,69±0,14	1-4

Примечание. Здесь и на рис. 1–3: ПОЛ-АОЗ — перекисное окисление липидов-антиоксидантная защита, ДК— диеновые конъюгаты, КД-СТ — кетодиены и сопряженные триены, ТБК — тиобарбитуровая кислота, АОА — общая антиокислительная активность, СОД — супероксиддисмутаза, GSH (Glutathione) — восстановленная форма глутатиона, GSSG (Glutathione disulfide) — окисленная форма глутатиона.

GSSG — на 13% ( $p < 0,05$ ), снижено содержание КД-СТ на 43% ( $p < 0,05$ ), α-токоферола — на 24% ( $p < 0,05$ ). Активность СОД снижена на 9% ( $p < 0,05$ ) (рис. 1).

При сравнении групп перименопаузы и возрастного гипогонадизма установлено повышение содержания ДК на 15% ( $p < 0,05$ ) и снижение ТБК-АП на 44% ( $p < 0,05$ ) у мужчин (рис. 2).

При сравнении групп постменопаузы и возрастного гипогонадизма установлено повышение содержания ДК на 78% ( $p < 0,05$ ), α-токоферола — на 44% ( $p < 0,05$ ), ретинола — на 40% ( $p < 0,05$ ) у мужчин (рис. 3).

На заключительном этапе исследования нами был рассчитан интегральный показатель оценки окислительного стресса в крови (рис. 4). Так, у женщин перименопаузального периода он составил 2,05, а в постменопаузе — 3,48. Данные значения свидетельствуют о нарастании окислительного стресса у женщин с возрастом. Следует отметить, что у мужчин при переходе от репродуктивной фазы к угасанию данный показатель равен 0,97, что указывает на баланс между прооксидантным и антиоксидантным звеньями.

Нежелательные явления в ходе исследования не наблюдались.

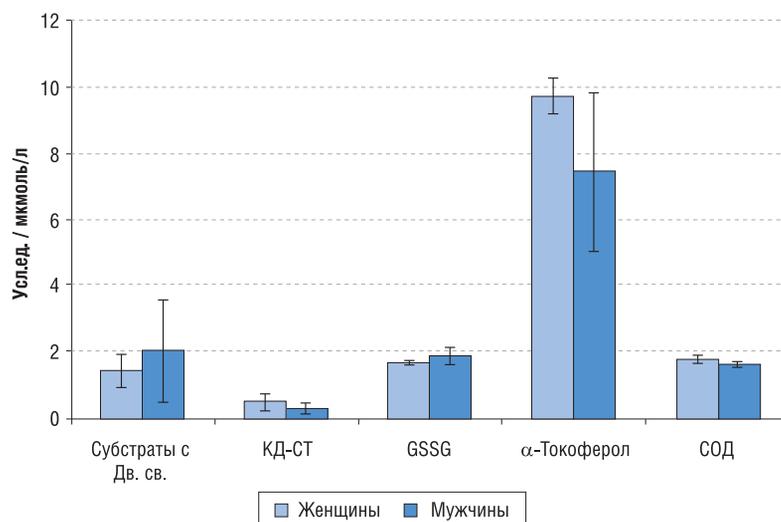


Рис. 1. Гендерные различия показателей системы ПОЛ-АОЗ в контрольных группах (представлены статистически значимые различия,  $p < 0,05$ )

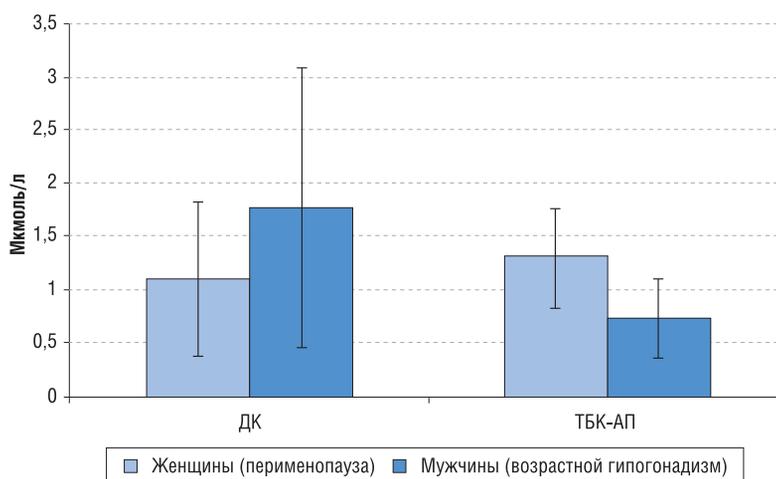


Рис. 2. Гендерные различия показателей системы ПОЛ-АОЗ в группах перименопаузы и возрастного гипогонадизма (представлены статистически значимые различия,  $p < 0,05$ )

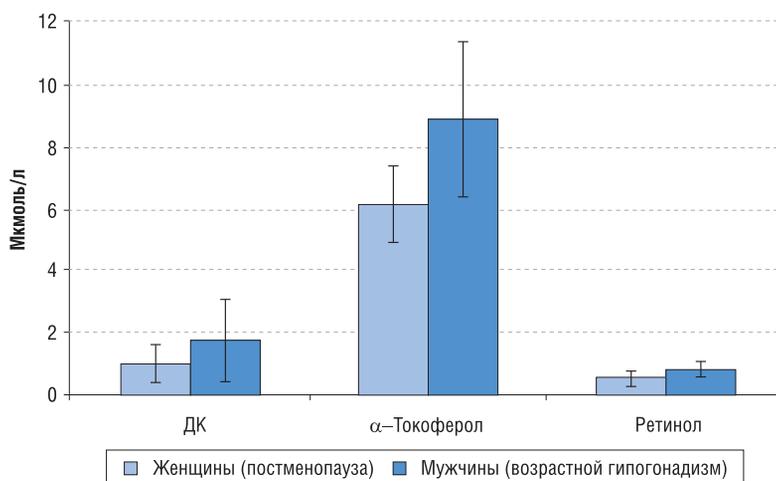


Рис. 3. Гендерные различия показателей системы ПОЛ-АОЗ в группах постменопаузы и возрастного гипогонадизма (представлены статистически значимые различия,  $p < 0,05$ )

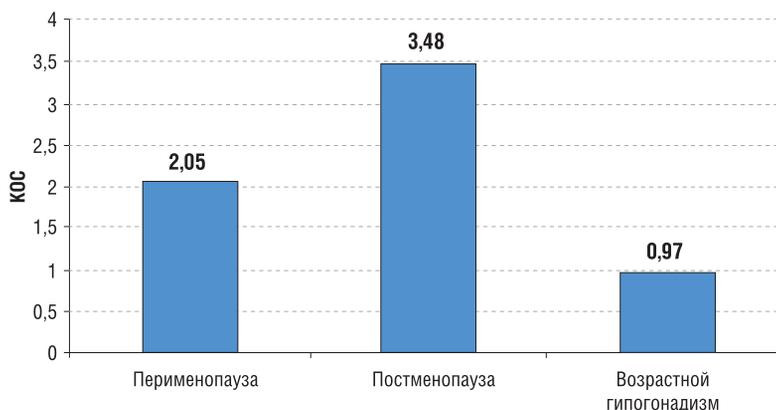


Рис. 4. Коэффициент окислительного стресса в группах с дефицитом половых стероидов

### Обсуждение

Следует отметить, что факт нарушения функционирования клетки вследствие накопления свободных радикалов при возрастных гормонально-дефицитных состояниях описан многократно и не подлежит сомнению [13–18]. В настоящее время менопауза рассматривается как независимый фактор риска развития окислительного стресса [19], который может усиливать тяжесть проявления климактерического синдрома [20, 21]. Полученные нами результаты не вступают в противоречие

с описанными ранее биохимическими процессами с участием свободных радикалов при эстрогендефицитных состояниях. В настоящее время известно о выраженной антиоксидантной активности эстрогенов, которая может превосходить таковую у витаминов Е и С до 2,5 раз [22, 23], причем антиоксидантные свойства выявлены у эстрадиола и эстриола [24]. Таким образом, дефицит эстрогенов у женщин в менопаузе может рассматриваться одной из причин недостаточной работы системы АОЗ при достаточно активном процессе перекисидации, что доказывает значение КОС > 1, достига-

ющее 3,48 в постменопаузе, демонстрируя выраженный окислительный стресс.

Иная картина течения процессов ПОЛ-АОЗ у мужчин при возрастном андрогенном дефиците: при анализе полученных нами результатов *факт развития окислительного стресса не выявлен*. Хотя отдельными авторами таковой был отмечен: окислительные процессы преобладают над восстановительными, при этом при одинаковой степени выраженности патологического процесса более ощутимые нарушения пероксидации наблюдаются у мужчин по сравнению с женщинами [25–27]. В популяционном исследовании, проведенном в Японии, у здоровых мужчин и женщин аналогичная картина — окислительный стресс возникает чаще у мужчин [28]: вышеприведенные результаты подтверждают таковые, полученные в серии экспериментальных работ на крысах линии Вистар, а именно: у самцов при высокой продукции активных кислородных метаболитов обнаружено более низкое содержание антиоксидантов, чем у самок [29]. Это связано с отсутствием таких состояний у животных, отсутствие таких состояний, как инсулинорезистентность, ожирение, дислипидемия, априори вызывающих окислительный стресс. Таким образом, здоровый образ жизни, отсутствие преморбидного фона, сохранное метаболическое состояние организма мужчин, несмотря на физиологическое снижение общего тестостерона, позволяют сохранять равновесие между свободными радикалами, антиоксидантами и биомолекулами, что подтверждается также и отсутствием окислительного стресса (КОС=1). Подобное состояние было впервые описано E. Cargmeli и соавт. [30] и С.Ю. Калининко с соавт. [18] как «золотой треугольник окислительного баланса».

Обсуждая полученный нами результат (отсутствие окислительного стресса у мужчин при возрастном андрогенном дефиците), стоит заметить, что в отличие от эстрогендефицитных состояний при различной степени выраженности окислительного стресса сохранению окислительного баланса способствует также, по нашему мнению, иной уровень функционирования системы инактивации свободных радикалов. Так, при сравнении субстратов окисления и первичных продуктов пероксидации как в контроле, так и в группе с возрастным андрогенным дефицитом отмечается достоверное увеличение данных показателей у мужчин. Однако, компоненты антиоксидантной системы, в частности содержание жирорастворимых витаминов — α-токоферола и ретинола, в группе постменопаузальных женщин значимо ниже, чем у мужчин с возрастным андрогенным дефицитом. Данные результаты вполне согласуются с тем фактом, что в здоровой клетке работают хорошо сбалансированные механизмы системы ПОЛ-АОЗ по принципу обратной связи. Увеличение уровня антиоксидантов приводит к торможению ПОЛ, что в свою очередь вызывает изменение самих липидов. В липидах появляются легкоокисляемые фракции, что ускоряет процессы ПОЛ. На этом фоне активизируется ферментативное звено антиоксидантов, а также по-

вышается расход неферментативных антиоксидантов, что способствует сбалансированности процессов. Выявленная нами закономерность активации процессов липопероксидации с высокой степенью окисляемости липидов (отношение Дв.св. к ДК>1) и адекватным антиоксидантным профилем демонстрирует гиперпероксидацию. Антиоксидантная же система запускает ответную реакцию, что проявляется избыточным потреблением СОД, восстановленного глутатиона и расходом витамина Е. Данные изменения можно трактовать как пусковые факторы, стимулирующие ряд дальнейших метаболических реакций на клеточном, тканевом и организменном уровне, свойственных человеку в условиях адаптации, когда метаболические процессы осуществляются на более напряженном уровне функционирования, обеспечивая физиологичность окислительно-восстановительных процессов.

Возможным объяснением данного факта является формирование функциональных резервов и адаптивных возможностей метаболической системы при относительно плавном снижении функции секреции андрогенов тестикулами. Выявленные гендерные особенности функционирования системы ПОЛ-АОЗ позволяют на ранних этапах патогенетически обосновать последующую таргетную коррекцию и профилактику антиоксидантной недостаточности на начальных этапах эстрогенного дефицита.

### Заключение

Проведенный анализ собственных результатов с сопоставлением литературных данных позволяет сделать следующие выводы.

1. При возрастном андрогенном дефиците выявлена активность процессов пероксидации: увеличивается концентрация первичных продуктов ПОЛ и снижается концентрация конечных продуктов — ТБК-АП — с одновременным повышением содержания антиоксидантов, что обеспечивает сбалансированность системы ПОЛ-АОЗ. Данный факт подтверждает значение коэффициента окислительного стресса, равный единице.
2. При эстрогендефицитных состояниях выраженность окислительного стресса нарастает от перименопаузы к постменопаузе, что подтверждают высокие цифры коэффициента окислительного стресса (2,05 и 3,48, соответственно).

### Источник финансирования

Исследование выполнено в рамках плановой научно-исследовательской деятельности ФГБНУ «НЦ ПЗСРЧ».

### Конфликт интересов

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

### ЛИТЕРАТУРА

1. Дедов И.И., Калининко С.Ю. Возрастной андрогенный дефицит у мужчин. — М.: Практическая медицина; 2006. — 240 с. [Dedov II, Kalinchenko SY. *Vozrastnoi androgennyi defitsit u muzhchin*. Moscow: Prakticheskaya meditsina; 2006. 240 p. (In Russ).]
2. Harmann D. Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *J Gerontol*. 1956;11(3):298–300. doi: 10.1093/geronj/11.3.298.
3. Колесникова Л.И., Мадаева И.М., Семёнова Н.В. и др. Оценка системы «перекисное окисление липидов — антиоксидантная защита» у женщин с нарушениями сна в перименопаузальном периоде // *Вестник Российской академии медицинских наук*. — 2014. — Т. 69. — №11–12. — С. 11–16. [Kolesnikova LI, Madaeva IM, Semenova NV, et al. Evaluation of lipidperoxidation — anti-

- oxidant protection in perimenopausal women with sleep disorders. *Annals of the Russian academy of medical sciences*. 2014;69(11–12):11–16. (In Russ.)] doi: 10.15690/vramn.v69i11-12.1177.
4. Kolesnikova LI, Madaeva IM, Semenova NV, et al. Antioxidant potential of the blood in men with obstructive sleep breathing disorders. *Bull Exp Biol Med*. 2013;154(6):731–733. doi: 10.1007/s10517-013-2041-4.
  5. Sanches-Rodriguez MA, Zacarias-Flores M, Arronte-Rosales A, et al. Menopause as risk factor for oxidative stress. *Menopause*. 2012;19(3):361–367. doi: 10.1097/gme.0b013e318229977d.
  6. Mendoza CCC, Zamarripa CAJ. *Menopause induces oxidative stress*. In: *Oxidative stress and chronic degenerative diseases — a role for antioxidants*. InTech; 2013. doi: 10.5772/52082.
  7. Волчегорский И.А., Налимов А.Г., Яровинский Б.Г. Сопоставление различных подходов к определению продуктов перекисного окисления липидов в гептан-изопропанольных экстрактах крови // *Вопросы медицинской химии*. — 1989. — Т. 35. — Вып. 1. — С. 127–131. [Volchegorskii IA, Nalimov AG, Yarovinskii BG, Lifshits RI. Sopotavlenie razlichnykh podkhodov k opredeleniyu produktov perekisnogo okisleniya lipidov v geptan-izopropanol'nykh ekstraktakh krovi. *Vopr Med Khim*. 1989;35(1):127–131. (In Russ).]
  8. Гаврилов В.Б., Гаврилова А.Р., Мажуль Л.М. Анализ методов определения продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови по тесту с тиобарбитуровой кислотой // *Вопросы медицинской химии*. — 1987. — Т. 35. — №1. — С. 118–122. [Gavrilov VB, Gavrilova AR, Mazhul' LM. Analiz metodov opredeleniya produktov perekisnogo okisleniya lipidov v syvotke krovi po testu s tiobarbiturovoi kislotoi. *Vopr Med Khim*. 1987;35(1):118–122. (In Russ).]
  9. Клебанов Г.И., Бабенкова И.В., Теселкин Ю.О. Оценка АОА плазмы крови с применением желточных липопротеидов // *Лабораторное дело*. — 1988. — Т. 5. — С. 59–60. [Klebanov GI, Babenkova IV, Teselkin YuO, et al. Otsenka antiokislitel'noi aktivnosti plazmy krovi s primeneniem zheltchnykh lipoproteidov. *Lab Delo*. 1988;(5):59–60. (In Russ).]
  10. Черняускене Р.Ч., Варшкявичене З.З., Грибаускас П.С. Одновременное определение концентраций витаминов Е и А в сыворотке крови // *Лабораторное дело*. — 1984. — №6. — С. 362–365. [Chernyauuskene RC, Varshkyavichene ZZ, Gribauskas PS. Odnovremennoe opredelenie kontsentratsii vitaminov E i A v syvotke krovi. *Lab Delo*. 1984;(6):362–365. (In Russ).]
  11. Hissin PJ, Hilf R. A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathione in tissues. *Anal Biochem*. 1976;74(1):214–226. doi: 10.1016/0003-2697(76)90326-2.
  12. Misra HP, Fridovich I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *J Biol Chem*. 1972;247(10):3170–3175.
  13. Viña J, Borras C, Abdelaziz KM, et al. The free radical theory of aging revisited: the cell signaling disruption theory of aging. *Antioxid Redox Signal*. 2013;19(8):779–787. doi: 10.1089/ars.2012.5111.
  14. Merksamer PI, Liu Y, He W, et al. The sirtuins, oxidative stress and aging: an emerging link. *Aging (Albany NY)*. 2013;5(3):144–50. doi: 10.18632/aging.100544.
  15. Ворслов Л.О., Калинин С.Ю., Гадзиева И.В. «Квартет здоровья» против «смертельного квартета» часть первая: метаболическая невропатия, легко диагностировать, трудно лечить // *Эффективная фармакология. Урология и нефрология*. — 2013. — №1. — С. 38–47. [Vorslov LO, Kalinchenko SYu, Gadzieva IV. «Kvartet zdorov'ya» protiv «smertel'nogo kvarteta» chast' pervaya: metabolicheskaya nevropatiya, legko diagnostirovat', trudno lechit'. *Effektivnaya farmakoterapiya. Urologiya i Nefrologiya*. 2013;(1):38–47. (In Russ).]
  16. Rahal A, Kumar A, Singh V, et al. Oxidative stress, prooxidants, and antioxidants: the interplay. *Biomed Res Int*. 2014;2014:761264. doi: 10.1155/2014/761264.
  17. Wu YT, Wu SB, Wei YH. Metabolic reprogramming of human cells in response to oxidative stress: implications in the pathophysiology and therapy of mitochondrial diseases. *Curr Pharm Des*. 2014;20(35):5510–5526. doi: 10.2174/1381612820666140306103401.
  18. Калинин С.Ю., Ворслов Л.О., Тюзиков И.А., Тишова Ю.А. Окислительный стресс как причина системного старения. роль препаратов α-липоевой кислоты (эспа-липон) в лечении и профилактике возраст-ассоциированных заболеваний // *Фарматека*. — 2014. — №6 — С. 44–54. [Kalinchenko SYu, Vorslov LO, Tyuzikov IA, Tishova YuA. Okislitel'nyi stress kak prichina sistemnogo stareniya. Rol' preparatov α-lipoevoi kisloty (espa-lipon) v lechenii i profilaktike vozrast-assotsiirovannykh zabolevaniy // *Farmateka*. 2014;(6):43–54. (In Russ).]
  19. Palmieri B, Sblendorio V. Oxidative stress detection: what for? Part II. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2007;11(1):27–54.
  20. Звычайный М.А. Преждевременное старение женского организма при дефиците половых стероидов — патогенез, терапия и профилактика: автореф. дис. ... докт. мед. наук. — Челябинск; 2004. 40 с. [Zvychainyi MA. *Prezhdevremennoe starenie zhenskogo organizma pri defitsite polovykh steroidov — patogenez, terapiya i profilaktika*. [dissertation] Chelyabinsk; 2004. 40 p. (In Russ).]
  21. Гилева В.В. Механизмы формирования полиморбидности у женщин пожилого возраста: автореф. дис. ... канд. мед. наук. — СПб.; 2009. — 25 с. [Gileva VV. *Mekhanizmy formirovaniya polimorbidnosti u zhenshchin pozhilogo vozrasta*. [dissertation] Saint Petersburg; 2009. 25 p. (In Russ).]
  22. Bednarek-Tupikowska G. Antioxidant properties of estrogens. *Ginecol Pol*. 2002;73(1):61–67. [In Polish].
  23. Arora KS, Gupta N, Singh RA, et al. Role of free radicals in menopausal distress. *J Clin Diagn Res*. 2009;3(6):1900–1902.
  24. Reyes MR, Sifuentes-Alvarez A, Lalzalde B. Estrogens are potentially the only steroids with an antioxidant role in pregnancy: in vitro evidence. *Acta Obstet Gynecol Scand*. 2006;85(9):1090–1093. doi: 10.1080/00016340500453685.
  25. Giordano G, Tait L, Furlong CE, et al. Gender differences in brain susceptibility to oxidative stress are mediated by levels of paraoxonase-2 expression. *Free Radic Biol Med*. 2013;58:98–108. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2013.01.019.
  26. Gardner AW, Parker DE, Montgomery PS, et al. Gender and racial differences in endothelial oxidative stress and inflammation in patients with symptomatic peripheral artery disease. *J Vasc Surg*. 2015;61(5):1249–1257. doi: 10.1016/j.jvs.2014.02.045.
  27. Muller GC, Gottlieb MG, Luz Correa B, et al. The inverted CD4:CD8 ratio is associated with gender-related changes in oxidative stress during aging. *Cell Immunol*. 2015;296(2):149–154. doi: 10.1016/j.cellimm.2015.05.006.
  28. Miwa K, Fujita M. Gender difference in oxidative stress and its genesis by analysis of serum α-tocopherol concentrations in a Japanese population. *Int J Cardiol*. 2008;129(3):453–454. doi: 10.1016/j.ijcard.2007.05.064.
  29. Vica J, Borras C, Gambini J. Why females live longer than males. Importance of the upregulation of longevity-associated genes by oestrogenic compounds. *FEBS Lett*. 2005;579(12):2541–2545. doi: 10.1016/j.febslet.2005.03.090.
  30. Carmeli E, Coleman R, Reznick AZ. The biochemistry of aging muscle. *Exp Gerontol*. 2002;37(4):477–489. doi: 10.1016/S0531-5565(01)00220-0.

### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Колесникова Любовь Ильинична**, член-корреспондент РАН, научный руководитель ФГБНУ «НЦ ПЗСРЧ»

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

**Мадаева Ирина Михайловна**, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории патофизиологии ФГБНУ «НЦ ПЗСРЧ»

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

**Семёнова Наталья Викторовна**, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории патофизиологии ФГБНУ «НЦ ПЗСРЧ»

Адрес: 664003, Иркутск, ул. Тимирязева, д. 16, тел.: +7 (3952) 20-76-36, e-mail: natkor84@mail.ru

**Осипова Елена Владимировна**, доктор биологических наук, главный научный сотрудник лаборатории патофизиологии ФГБНУ «НЦ ПЗСРЧ»

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

**Даренская Марина Александровна**, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории патофизиологии ФГБНУ «НЦ ПЗСРЧ»

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

DOI: 10.15690/vramn647

А.В. Лисица, Е.А. Пономаренко, П.Г. Лохов, А.И. Арчаков

Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича,  
Москва, Российская Федерация

## Постгеномная медицина: альтернатива биомаркерам

В статье обсуждается востребованность достижений высокопроизводительных постгеномных технологий. Рассматриваются причины, препятствующие внедрению геномики, протеомики и метаболомики в рутинную клиническую практику. Устранение этих причин и дальнейшее развитие постгеномной медицины требует принципиального изменения существующих исследовательских подходов. Возможности для развития таких подходов иллюстрируются на примере выполненных на базе ИБМХ им. В.Н. Ореховича исследований метаболома плазмы крови человека. Ситуация с поиском постгеномных биомаркеров иллюстрируется молекулярным «айсбергом», большая часть которого недоступна для детектирования измерительными методами. С учетом многообразия форм РНК и белков, возникающих в результате всевозможных модификаций кодируемых геномом продуктов, наблюдаемый спектр молекулярных маркеров всегда, независимо от уровня развития технологий, будет характеризоваться неполнотой и противоречивостью. Эти свойства характерны для так называемых больших данных (Big Data), для работы с которыми нужны специальные вычислительные методы, не всегда совместимые с принципом доказательности в медицине.

**Ключевые слова:** геном, протеом, метаболом, биомаркер.

(Для цитирования: Лисица А.В., Пономаренко Е.А., Лохов П.Г., Арчаков А.И. Постгеномная медицина: альтернатива биомаркерам. Вестник РАМН. 2016;71(3):255–260. doi: 10.15690/vramn647)

255

### Введение

В докладе, опубликованном в 1952 г., академик В.Н. Орехович охарактеризовал функции нескольких белков плазмы крови человека и предположил, что в крови может встречаться до сотен различных высокомолекулярных азотсодержащих соединений [1]. Показательно, что все белки, упомянутые в докладе, на современном этапе развития медицины служат маркерами заболеваний, применяемыми для определения функционального статуса печени, поражения сердечно-сосудистой системы, нарушения работы почек, системы свертываемости крови, аутоиммунных патологий и др.

Предположение академика В.Н. Ореховича о том, что в крови присутствуют около ста белков-маркеров, нашло свое подтверждение в метаанализе публикаций последнего десятилетия [2]. На фоне стремительного развития постгеномных технологий арсенал диагностических маркеров современного врача-биохимика с трудом достигает сделанной более полувека назад оценки. Динамика появления скрининговых биомаркеров (официально одобренных для клинического применения) с

2000 г. неуклонно снижается, что закономерно побуждает к поиску новых индикаторов состояния человеческого организма [3, 4].

Постгеномные технологии развиваются уже более 15 лет, обеспечивая исследователям широкоформатный охват происходящих в организме молекулярных событий. Количество внедренных за это время в диагностику тестов невелико, практически все из них являются уточняющими и не заменяют стандартных методов обследования.

- Панель *Oncotype DX* (разработана компанией Genomic Health, США) состоит из нуклеотидных зондов для 21 гена, анализ экспрессии которых позволяет оценить риски возникновения отдаленных рецидивов рака молочной железы после резекции опухоли.
- Тест *OVA1* (разработана компанией Vermillion Inc., Austin TX, США) представляет собой набор для иммуноферментного анализа пяти белков плазмы крови и применяется для уточнения объемов хирургического вмешательства при плановых операциях (например, при удалении кисты яичников).

A.V. Lisitsa, E.A. Ponomarenko, P.G. Lokhov, A.I. Archakov

Orekhovich Institute of Biomedical Chemistry,  
Moscow, Russian Federation

## Postgenomic Medicine: Alternative to Biomarkers

In the article relevance of high-performance postgenomic technologies is tackled. The intrinsic problems of the implementation of genomics, proteomics and metabolomics in routine clinical practice are considered. Further development of postgenomic medicine requires severe change in the current research approaches. Avenue for development of such approaches are illustrated by metabolome research of human blood plasma. The postgenomic biomarkers are pictured as molecular iceberg, greater part of which is inaccessible for detection with measurement methods. Due to diversity of protein forms the spectrum of molecular markers will always evaluate in terms of incompleteness and inconsistency regardless of technological development level. These properties of «big data» are typical of data intensive domains. Special computational methods are essential for data intensive analytics and hardly suitable for the evidence-based medicine.

**Key words:** genome, proteome, metabolome, biomarker.

(For citation: Lisitsa A.V., Ponomarenko E.A., Lokhov P.G., Archakov A.I. Postgenomic Medicine: Alternative to Biomarkers. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2016;71(3):255–260. doi: 10.15690/vramn647)

- Масс-спектрометрический тест на идентификацию белков xPresys Lung (разработана компанией Indi. Integrated Diagnostics Inc. Seattle, WA, США) разрешен к применению в качестве дополнительного исследования, подтверждающего доброкачественную природу биоптата ткани легкого.
- Широко используемый для микробиологических исследований тест *MALDI-Biotyper* (Bruker Daltonics, Германия) базируется на видовой идентификации микроорганизмов путем масс-спектрометрического анализа.
- Несомненным успехом в области постгеномной медицины можно считать *неинвазивную диагностику нарушений развития* у плода.
- *Геномное секвенирование* используется для получения информации о серьезных хромосомных нарушениях путем анализа молекул ДНК ребенка, проникающих в кровь матери.

Скромное количество тестов, нашедших практическое применение, резко контрастирует с десятками тысяч опубликованных за 15 лет потенциальных биомаркеров. Существуют объективные факторы, затрудняющие путь от исследования индикаторов до их использования в клинической диагностике *in vitro* [5]. Прежде всего, анализ молекулярного профиля проводится аналитическими методами, обладающими ограниченной чувствительностью [6]. Во-вторых, игнорируется множественность форм белков, возникающих в результате альтернативного сплайсинга, однонуклеотидных замен или наличия посттрансляционных модификаций [7]. Третьим и, по-видимому, основным является отсутствие интервальных оценок: неизвестны персональные диапазоны концентрации маркеров. Индивидуальный

характер нормы для постгеномных биомаркеров представляет собой ключевую проблему персонализированной медицины [8, 9].

### Молекулярный «айсберг»

Постгеномные подходы не являются вероятностными, в чем расходятся с детерминистскими моделями медицинской генетики, геномики, — эти дисциплины требуют сопряжения молекулярных наблюдений с причиной. Например, наличие анеуплоидии влечет возникновение синдрома Дауна; мутация в гене *BRCA* приводит с 20% вероятностью к развитию рака молочной железы [10]. На смену детерминированным связям между причиной и следствием в постгеномной медицине приходят оценки рисков, исходящие из неполных или даже противоречивых данных. Оценка рисков основана на допущении, что молекулярный профиль человека не может быть полностью расшифрован, а может быть исследована только его сравнительно небольшая часть.

Многообразие молекулярного состава организма схематически представлено в виде «айсберга» (рис. 1). По расчетам, в клетке может встречаться более 100 тыс. различных молекул [11], а плазма крови содержит свыше 2 млн различных протеоформ [12]. Надводная часть «айсберга» представлена хорошо известными высококопийными белками, которые нашли клиническое применение [2]. Подводная часть содержит существенно большее число белков, но изучена гораздо хуже, поскольку низкокопийные белки не определяются из-за недостаточной чувствительности постгеномных аналитических методов [13]. В геномике проблема более сглажена, так

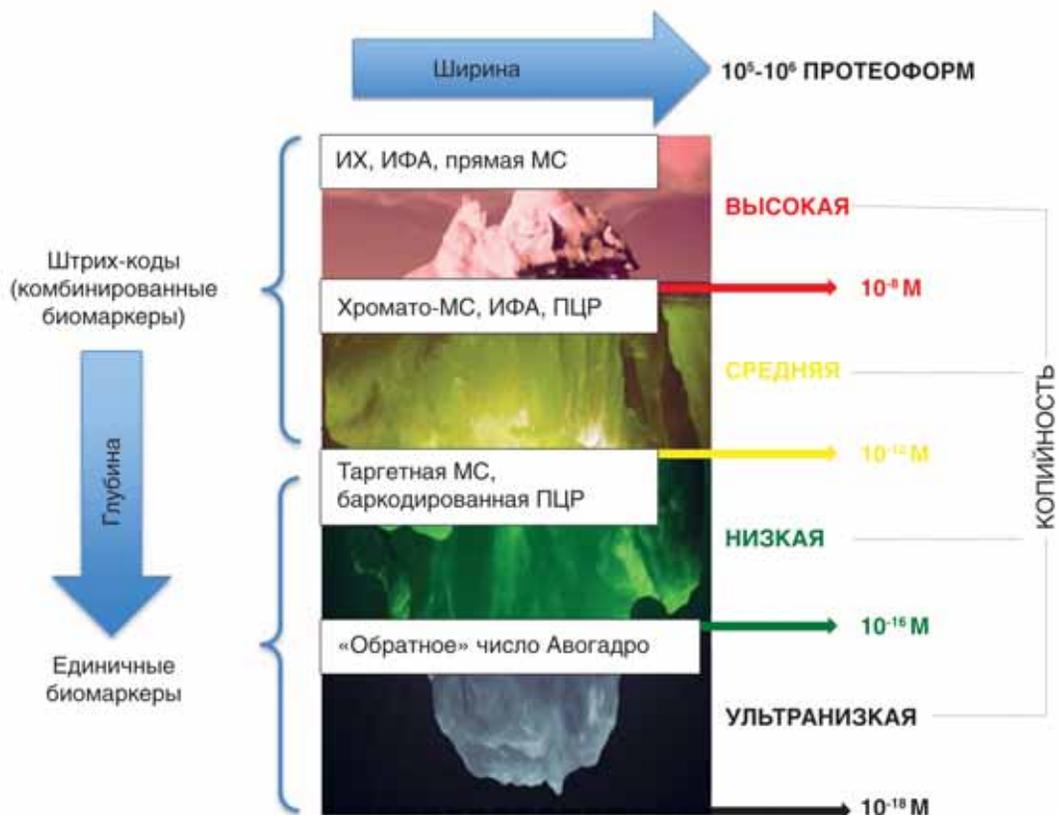


Рис. 1. Ограничения по чувствительности современных методов молекулярной медицины (стрелками отмечены два направления освоения молекулярного «айсберга»; описание в тексте)

Примечание. ИХ — иммунохимический анализ, ИФА — иммуноферментный анализ, МС — масс-спектрометрия, ПЦР — полимеразная цепная реакция.

как единичная молекула теоретически может быть бесконечно размножена методом полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Исследование молекулярного «айсберга» может выполняться в двух направлениях: по горизонтали, раскрывая ширину молекулярного профиля за счет протеоформ высококопийных белков, доступных для анализа (см. стрелку «ширина» на рис. 1), либо вертикально путем увеличения чувствительности методов детектирования белков в глубинных низко- и ультранизкокопийных областях (см. стрелку «глубина» на рис. 1) [14].

Ширина молекулярного профиля определяется количеством белоккодирующих генов, которых в геноме порядка 20 тыс. [5, 15]. Надежды, возлагаемые учеными и медиками на расшифровку генома человека, на сегодняшний день не оправдались. В практическом плане в результате расшифровки генома возник гигантский рынок биотехнологической продукции, но не более того [16]. Прогресс достигнут в диагностике редких заболеваний, что, скорее, связано не столько с развитием постгеномных технологий, сколько с изобретением ПЦР более 30 лет назад [17].

Прорыва в диагностике и лечении социально-значимых заболеваний не удалось достигнуть даже тогда, когда геномика была дополнена постгеномными методами исследования транскриптома и протеома [4]. Одна из причин, как уже указывалось выше, связана с недостаточной чувствительностью аналитических методов (см. рис. 1). До уровня  $10^{-8}$  М («ватерлиния айсберга») работают иммуноферментные методы, позволяющие регистрировать в биологических образцах высококопийные белки. На аффинных взаимодействиях между антигеном и антителом или ферментом и субстратом построена вся современная диагностика *in vitro* [3].

Основу современных диагностических тестов составляют молекулярно-биологические процессы (процессы биосинтеза и ферментативного катализа), что неизбежно ведет к появлению неточностей. Например, ферментативная реакция полимеризации, лежащая в основе ПЦР, допускает ошибки, и в отсутствие механизма репарации через 15–20 циклов «размножения» единичных молекул продукт амплификации близок к случайной последовательности нуклеотидных остатков. Сходным (в данном контексте) примером является зависимость чувствительности методов иммунного анализа от константы аффинности антитела к антигену. Кроме того, ограничением использования антител является неизбирательность по отношению к модифицированным формам белковых молекул.

Аналитические методы работают до уровня  $10^{-14}$  М; дальше начинается *terra incognita* (см. рис. 1). В этой области концентрационные количественные оценки теряют смысл: нужно осуществлять подсчет единичных молекул. Концентрация  $10^{-12}$  М является порогом, за которым содержание молекул целесообразно выражать не в концентрационных единицах, а в «штуках» — как результат «инвентаризации» молекулярного состава образца [11]. С целью «инвентаризации» белков применяются детекторы единичных молекул, основанные на нанопроводах [18], атомно-силовой микроскопии [19]. ПЦР-баркодирование [20] используется для исследования низкокопийных нуклеотидных последовательностей в составе иммунома.

### Важно не кто голосует, а кто и как считает

Аналитические ограничения измерительных методов позволяют «слышать голоса» только незначительной части молекулы. Большинство молекул (и тем более их

модифицированные формы) невозможно зарегистрировать на современном оборудовании; они скрыты в подводной части молекулярного «айсберга». Насколько глубоко нужно «погружаться», чтобы выявить единичные предвестники, имеющие связь с молекулярной патологией до клинических проявлений? В аномальной зоне предрака, которая не наблюдается современными методами визуализации (магнитно-резонансной томографией), имеется несколько миллионов трансформированных клеток, которые может опознать и элиминировать иммунная система. Расчеты показывают, что для опухоли диаметром около 1 мм единичный биомаркер будет иметь концентрацию в крови порядка  $10^{-17}$  М [21]. Таким образом, обнаружить в плазме крови ранние опухолевые маркеры крайне сложно из-за их низкого содержания — примерно 1 молекула маркера в 1 мкл крови.

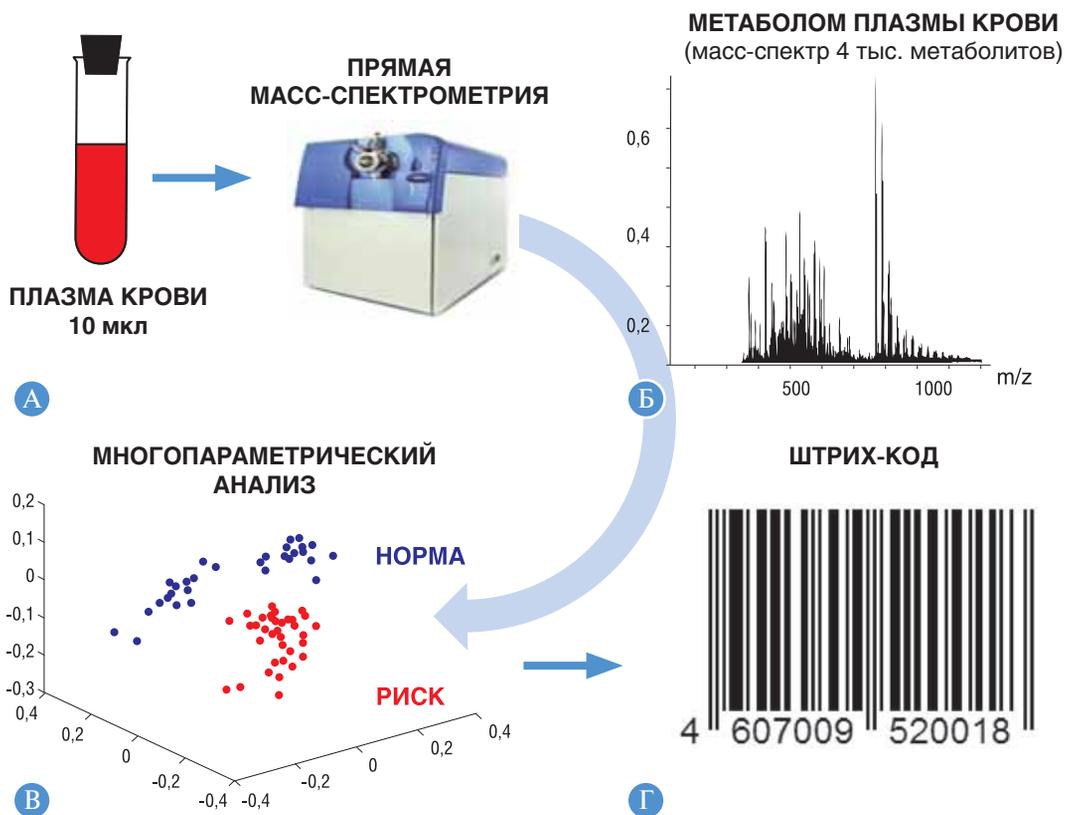
Концентрационные ограничения не позволяют достичь единичных биомаркеров, что создает, казалось бы, непреодолимые препятствия для развития постгеномной медицины. Исследования в области метаболомики подсказывают альтернативный выход. Высокопроизводительные технологии способны предоставлять широкополосную развертку молекулярного состава биологического образца. В результате получается своего рода «штрих-код» — набор линий, не предназначенных для интерпретации человеком, но тем не менее автоматически считываемых электронно-вычислительными машинами.

«Штрих-коды» биоматериала можно получить с помощью метаболомики — масс-спектрометрического метода, позволяющего регистрировать тысячи органических веществ с небольшой молекулярной массой (ксенобиотики, ингредиенты пищи, лекарства).

Высокая производительность метаболомного профилирования является следствием методических особенностей. Подготовка пробы длится 10 мин, последующее измерение занимает менее 5 мин на образец. Это обеспечивается прямым вводом образца в масс-спектрометрический детектор, минуя стадию длительного хроматографического разделения, которое применяется при обычном метаболомном анализе (рис. 2). Прямой ввод снижает чувствительность (см. на рис. 1 отметку «прямая МС»), вследствие чего примерно в 2–3 раза сокращается количество детектируемых метаболитов по сравнению с хромато-масс-спектрометрическими методами. Несмотря на это, регистрируемых пиков вполне достаточно, чтобы даже при невысокой чувствительности применять метаболомное «штрих-кодирование» для оценки рисков развития заболеваний [22].

Метаболом плазмы крови представляет собой набор пиков, где каждый пик соответствует веществу с определенным соотношением массы этого вещества к его заряду (см. рис. 2). Высота пика, нормализованная алгоритмическим образом, может быть представлена как ширина полоски в штрих-коде.

Изложенный подход обладает высокой точностью при построении как прогностических, так и диагностических моделей. В основе моделирования лежит алгоритм подготовки масс-спектрометрических данных, позволяющий осуществить выравнивание масс-спектров разных биологических образцов. После выравнивания дальнейшая обработка наборов масс-спектрометров данных осуществляется методами машинного обучения. Из исходных данных извлекается содержательная информация, которая конвертируется в штрих-код, пригодный для автоматического распознавания.



**Рис. 2.** Метаболомное «штрих-кодирование». Образцы плазмы крови поступают в масс-спектрометрический детектор напрямую, минуя стадию хроматографического разделения (А). Результатом является набор пиков (Б), каждый из которых используется для построения многопараметрической модели оценки рисков (В). Модель используется с целью трансформации масс-спектры последующих образцов в штрих-код (Г), являющийся предвестником заболевания.

258

Оптимизация классификационной модели позволяет сформировать алгоритм, по которому масс-спектр любых последующих образцов автоматически преобразуется в диагностический штрих-код. Оценка информационной ценности метаболомных данных проведена в исследовании корреляции с результатами биохимического анализа крови [23]. На выборке из нескольких десятков образцов получено, что коэффициенты корреляции ( $r$ ) достаточно высоки: для уровня глюкозы — 0,71, для мочевой кислоты — 0,63, для холестерина — 0,65, для триглицеридов и инсулина — 0,58. Следовательно, метаболомное штрих-кодирование является высокопроизводительным способом получения клинически значимых сведений.

Метаболомные профили также применимы и при построении бинарных классификаторов «свой-чужой». Для оценки качества классификационных моделей применяется метод ROC-кривой\*. На выборках из 30–100 образцов продемонстрировано, что точность бинарного распознавания метаболомных кодов превышает 90% для случаев онкологических заболеваний, диабета 2-го типа и болезни Паркинсона [24–26]. Обнаружено интересное свойство, что точность распознавания выше для ранних стадий заболевания: при исследовании образцов рака легкого на первой стадии точность была 100%, на второй упала до 94%, на третьей — до 92% [27]. Одно из возможных объяснений следующее: разработанная модель «свой-чужой» чувствительна к специфическим изменениям на раннем этапе, когда организм работает как естествен-

ный мультипликатор сигналов о начале дисрегуляторного процесса. На поздних стадиях болезни преобладают процессы неспецифического характера: воспаление, развитие кахексии, функциональное поражение органа и т.п. Впоследствии метаболомный сигнал, связанный непосредственно с источником проблемы, становится сопоставимым с уровнем шума.

На примере исследования метаболомных штрих-кодов видно, что постгеномная медицина выступает не как средство диагностики, а как инструмент оценки рисков развития заболеваний. Рассмотренный выше метаболомный подход (как и другие постгеномные методы) вряд ли сразу найдет применение в диагностике заболеваний, поскольку на этапе валидации неизбежно возникнет статистическая неопределенность из-за межличностных различий людей.

Постгеномные методы, тем не менее, являются эффективными для проведения комплексного обследования здоровья, не подразумевающего диагностику или профилактику определенных нозологических форм. Скрининг обращает внимание человека на риски возникновения проблем со здоровьем и предполагает дальнейшее консультирование у специалиста.

Постгеномная медицина основана на представлении о динамическом контекстозависимом характере биологической системы, на допущении присущей организму человека изменчивости [28]. Как следствие, для постгеномной медицины не подходят шаблоны, нарабатываемые в ходе эпидемиологических исследований. Показателем здоровья являются не факторы риска, а способность конкретного организма долговременно выдерживать воздействие определенного сочетания неблагоприятных факторов без запуска компенсаторных механизмов. По-

\* ROC-кривая (англ. Receiver Operating Characteristic) — график, позволяющий визуально оценить качество классификации наблюдения как нормы («свой») и как отличия от нее («чужой»).

видимому, постгеномный биомаркер — это не объект, а процесс.

В молекулярной диагностике активно используется информация о метаболитах, белках и тем более о молекулах ДНК. Это обеспечивается принципами доказательной медицины: если детектирована мутация, повышен уровень определенного белка или метаболита, то можно предсказать вероятность определенного заболевания. Задача постгеномной медицины иная — провести оценку рисков, располагая исходными данными, не имеющими доказательной силы из-за заведомо известной неполноты и недостоверности.

### Заключение

В постгеномном исследовании из-за чувствительности технологий становятся видны события, каждое из которых малозначимо по отдельности, а совокупности малозначимых признаков настолько многообразны, что теряют статистическую достоверность в эпидемиологических масштабах. Решить проблему можно с использованием информационно-интенсивных интеллектуальных моделей, способных «интуитивно» отличать молекулярные события, действительно имеющие отношение к вопросу сохранения здоровья, от статистического шума [29]. По-видимому, именно такие задачи ставятся перед

глобальными проектами в области нейронаук Blue Brain (Евросоюз) и Connectome (США). Пилотные варианты решений уже воплощены в виде нейроморфных компьютерных программ: например, программой «Доктор Watson», разработанной компанией ИВМ (США) [30].

### Источник финансирования

Работа выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013–2020 гг.

### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов в отношении данной публикации.

### Выражение признательности

Авторы благодарят коллег из клинических центров, дискуссию с которыми позволила выстроить концепцию постгеномной медицины, а также Отделение медицинских наук РАН за плодотворное обсуждение и конструктивную критику.

259

### ЛИТЕРАТУРА

- Орехович В.Н. Современные представления о белках и их значение в биологии и медицине. — М.: Знание; 1952. — 22 с. [Orekhovich VN. *Sovremennyye predstavleniya o belkakh i ikh znachenie v biologii i meditsine*. Moscow: Znanie; 1952. 22 p. (In Russ).]
- Anderson NL. The clinical plasma proteome: a survey of clinical assays for proteins in plasma and serum. *Clin Chem*. 2010;56(2):177–185. doi: 10.1373/clinchem.2009.126706.
- Gutman S, Kessler LG. The US Food and Drug Administration perspective on cancer biomarker development. *Nat Rev Cancer*. 2006;6(7):565–571. doi: 10.1038/nrc1911.
- Veenstra TD. Where are all the biomarkers? *Expert Rev Proteomics*. 2011;8(6):681–683. doi: 10.1586/ep.11.60.
- Archakov A, Zgoda V, Kopylov A, et al. Chromosome-centric approach to overcoming bottlenecks in the Human Proteome Project. *Expert Rev Proteomics*. 2012;9(6):667–676. doi: 10.1586/ep.12.54.
- Archakov AI, Ivanov YD, Lisitsa AV, Zgoda VG. AFM fishing nanotechnology is the way to reverse the Avogadro number in proteomics. *Proteomics*. 2007;7(1):4–9. doi: 10.1002/pmic.200600467.
- Lisitsa A, Moshkovskii S, Chernobrovkin A, et al. Profiling proteoforms: promising follow-up of proteomics for biomarker discovery. *Expert Rev Proteomics*. 2014;11(1):121–129. doi: 10.1586/14789450.2014.878652.
- Trifonova O, Likhov P, Archakov A. Postgenomics diagnostics: metabolomics approaches to human blood profiling. *OMICS*. 2013;17(11):550–559. doi: 10.1089/omi.2012.0121.
- Дедов И.И., Тюльпаков А.Н., Чехонин В.П., и др. Персонализированная медицина: современное состояние и перспективы // *Вестник Российской академии медицинских наук*. — 2012. — Т. 67. — № 12. — С. 4–12. [Dedov II, Tyul'pakov AN, Chekhonin VP, et al. Personalized medicine: State-of-the-art and prospects. *Annals of the Russian academy of medical sciences*. 2012;67(12):4–12. (In Russ).] doi: 10.15690/vramn.v67i12.474.
- Lin PH, Kuo WH, Huang AC, et al. Multiple gene sequencing for risk assessment in patients with early-onset or familial breast cancer. *Oncotarget*. 2016;7(7):8310–8320. doi: 10.18632/oncotarget.7027.
- Lisitsa AV, Poverennaya EV, Ponomarenko EA, Archakov AI. The width of human plasma proteome compared with cancer cell line and bacteria. *J Biomol Res Ther*. 2015;4(4):1000132. doi: 10.4172/2167-7956.1000132.
- Archakov A, Ivanov Y, Lisitsa A, Zgoda V. Biospecific irreversible fishing coupled with atomic force microscopy for detection of extremely low-abundant proteins. *Proteomics*. 2009;9(5):1326–1343. doi: 10.1002/pmic.200800598.
- Liotta LA, Petricoin EF, 3rd. -Omics and cancer biomarkers: link to the biological truth or bear the consequences. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2012;21(8):1229–1235. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-12-0635.
- Ponomarenko E, Baranova A, Lisitsa A, et al. The chromosome-centric human proteome project at FEBS Congress. *Proteomics*. 2014;14(2-3):147–152. doi: 10.1002/pmic.201300373.
- Venter JC, Smith HO, Adams MD. The sequence of the human genome. *Clin Chem*. 2015;61(9):1207–1208. doi: 10.1373/clinchem.2014.237016.
- Miroshnichenko YV, Prostova MA, Kvetinskaya AV, Lisitsa AV. Life sciences in Russia: Priorities in 2014–2020. *Acta Naturae*. 2015;7(3(26)):6–14.
- Bartlett JM, Stirling D. *A short history of the polymerase chain reaction*. In: Bartlett JM, Stirling D, editors. *PCR Protocols*. 2<sup>nd</sup> ed. Humana Press; 2003. p. 3–6. doi: 10.1385/1-59259-384-4:3.
- Мальсагова К.А., Иванов Ю.Д., Плешакова Т.О., и др. КНИ-нанопроволочный биосенсор для детекции белка d-nfat 1 // *Биомедицинская химия*. — 2015. — Т. 61. — № 4. — С. 462–467. [Malsagova KA, Ivanov YuD, Pleshakova TO, et al. SOI-nanowire biosensor for the detection of D-NFAT 1 protein. *Biomed Khim*. 2015;61(4):462–467. (In Russ).] doi: 10.18097/PBMC20156104462.
- Ivanov YD, Pleshakova T, Malsagova K, et al. Highly sensitive protein detection by combination of atomic force microscopy fishing with charge generation and mass spectrometry analysis. *FEBS J*. 2014;281(20):4705–4717. doi: 10.1111/febs.13011.

20. Shugay M, Britanova OV, Merzlyak EM, et al. Towards error-free profiling of immune repertoires. *Nat Methods*. 2014;11(6):653–655. doi: 10.1038/nmeth.2960.
21. Hori SS, Gambhir SS. Mathematical model identifies blood biomarker-based early cancer detection strategies and limitations. *Sci Transl Med*. 2011;3(109):109–116. doi: 10.1126/scitranslmed.3003110.
22. Lokhov PG, Balashova EE, Voskresenskaya AA, et al. Mass spectrometric signatures of the blood plasma metabolome for disease diagnostics. *Biomed Rep*. 2016;4(1):122–126. doi: 10.3892/br.2015.548.
23. Лохов П.Г., Маслов Д.Л., Трифонова О.П., и др. Масс-спектрометрический анализ низкомолекулярной фракции крови как способ унификации терапевтического лекарственного мониторинга // *Биомедицинская химия*. — 2015. — Т. 60. — № 2. — С. 201–216. [Lokhov PG, Maslov DL, Trifonova OP, et al. Mass spectrometry of blood low-molecular fraction as a method for unification of therapeutic drug monitoring. *Biomed Khim*. 2014;60(2):201–216. (In Russ).]
24. Lokhov PG, Dashtiev MI, Moshkovskii SA, Archakov AI. Metabolite profiling of blood plasma of patients with prostate cancer. *Metabolomics*. 2010;6(1):156–163. doi: 10.1007/s11306-009-0187-x.
25. Lokhov PG, Trifonova OP, Maslov DL, Archakov AI. Blood plasma metabolites and the risk of developing lung cancer in Russia. *Eur J Cancer Prev*. 2013;22(4):335–341. doi: 10.1097/CEJ.0b013e32835b3898.
26. Lokhov PG, Trifonova OP, Maslov DL, et al. Diagnosing impaired glucose tolerance using direct infusion mass spectrometry of blood plasma. *PLoS One*. 2014;9(9):e105343. doi: 10.1371/journal.pone.0105343.
27. Lokhov PG, Kharybin ON, Archakov AI. Diagnosis of lung cancer based on direct-infusion electrospray mass spectrometry of blood plasma metabolites. *Int J Mass Spectrom*. 2012;309:200–205. doi: 10.1016/j.ijms.2011.10.002.
28. He MX. The synergy between bioinformatics and cognitive informatics. In: Buzatu C, editor. *Modern computer applications in science and education: Proceedings of the 14th International Conference on Applied Computer Science (ACS '14)*; Cambridge, MA, USA. WSEAS Press; 2014. p. 258–262.
29. Lisitsa AV, Stewart E, Kolker E. Is it time for cognitive bioinformatics? *J Data Mining Genomics Proteomics*. 2015;6:173. doi: 10.4172/2153-0602.1000173.
30. Васильков А. Когнитивные технологии ИВМ: на пути к искусственному мозгу. Компьютерра [интернет]. 8.08.2013 [доступ от 14.03.2016]. Доступ по ссылке <http://computerra.ru/78397/ibm-synapse-cognitive-computing>. [Vasilkov A. Kognitivniye tekhnologii ИВМ: на пути к искусственному мозгу. Компьютерра [Internet]. 08.08.2013. Access date 14.03.2016. Available on: <http://computerra.ru/78397/ibm-synapse-cognitive-computing> (In Russ.)]

#### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Лисица Андрей Валерьевич**, доктор биологических наук, член-корреспондент РАН, директор Научно-исследовательского института биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича  
**Адрес:** 119121, Москва, ул. Погодинская, д. 10, стр. 8, **тел.:** +7 (499) 246-37-31, **e-mail:** lisitsa063@gmail.com

**Пономаренко Елена Александровна**, кандидат биологических наук, заведующая лабораторией анализа постгеномных данных Научно-исследовательского института биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича  
**Адрес:** 119121, Москва, ул. Погодинская, д. 10, стр. 8, **тел.:** +7 (499) 245-27-53, **e-mail:** 2463731@gmail.com

**Лохов Пётр Генриевич**, доктор биологических наук, заведующий лабораторией масс-спектрометрической метаболомной диагностики Научно-исследовательского института биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича  
**Адрес:** 119121, Москва, ул. Погодинская, д. 10, стр. 8, **e-mail:** lokhovpg@gmail.com

**Арчаков Александр Иванович**, доктор биологических наук, академик РАН, профессор, научный руководитель Научно-исследовательского института биомедицинской химии им. В.Н. Ореховича  
**Адрес:** 119121, Москва, ул. Погодинская, д. 10, стр. 8, **тел.:** +7 (499) 246-69-80, **e-mail:** archak@ibmc.msk.ru

## Юлия Васильевна Ананьина

2 июня 2016 г. исполнилось 70 лет со дня рождения члена-корреспондента РАН, доктора медицинских наук, профессора Юлии Васильевны Ананьиной.

Ю.В. Ананьина родилась в 1946 г. в Москве. В 1970 г. окончила санитарно-гигиенический факультет I Московского медицинского института им. И.М. Сеченова. В том же году поступила в аспирантуру, а в 1974 г. защитила кандидатскую диссертацию в НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи (ныне ФГБУ «Федеральный научно-исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России). С работой в этом Институте, а конкретнее с лабораторией лептоспирозов отдела природно-очаговых инфекций связан весь дальнейший профессиональный путь Юлии Васильевны: в 1991 г. она возглавила лабораторию лептоспирозов, которая выполняла функции Национального центра Минздрава России и Сотрудничающего центра ВОЗ по лептоспирозам; в 1999–2014 гг. занимала должность заместителя директора Института по научной работе; в настоящее время является главным научным сотрудником и заведующей лабораторией лептоспирозов.

Основные направления научных исследований Ю.В. Ананьиной — экология лептоспир, эпидемиология и эпизоотология лептоспирозов, разработка средств диагностики и профилактики этой группы природно-очаговых инфекций. Юлией Васильевной выполнен большой цикл работ по изучению видового и внутривидового экологического и генетического разнообразия лептоспир и его влияния на эпидемические особенности и клинические проявления лептоспирозов. Впервые установлен механизм преодоления возбудителями барьера гостальной специфичности, в результате которого расширяется спектр эпидемически значимых источников инфекции в очагах. Выявлен феномен нейротропности у лептоспир и его роль в этиопатогенезе поздних осложнений инфекции. Разработаны молекулярно-генетические подходы к видовой и внутривидовой идентификации лептоспир, позволившие усовершенствовать таксономию и классификацию этих спирохет.

Под руководством и при участии Ю.В. Ананьиной разработаны новые методы лабораторной диагностики лептоспирозов для применения в очагах с различной этиологической структурой. Предложены новые молекулярно-генетические методы идентификации лептоспир на видовом, подвидовом и инфраподвидовом уровнях, необходимые для мониторинга циркуляции возбудителей в очагах, предупреждения завоза новых патогенов на территорию страны и создания диагностических и вакцинных препаратов. С целью изучения краевых особенностей эпидемиологии и эпизоотологии лептоспирозов Юлия Васильевна неоднократно участвовала в экспедиционных

полевых исследованиях на Северном Кавказе, в Приморском, Хабаровском крае (БАМ) и многих других регионах страны.

В 2007 г. Ю.В. Ананьина избрана членом-корреспондентом РАМН по специальности «Микробиология», в 2014 г. — членом-корреспондентом РАН.

Спектр педагогической деятельности Ю.В. Ананьиной разнообразен, поскольку включает подготовку специалистов на международных (ВОЗ/ЮНЕП) и национальных семинарах и курсах (в том числе для противочумной службы), чтение лекций, руководство кандидатскими и докторскими диссертациями. Под руководством и при ее консультировании защищены 2 докторские и 7 кандидатских диссертаций.

Ю.В. Ананьина в течение многих лет активно участвует в научно-организационной деятельности: она председатель Проблемной комиссии «Медицинская микробиология и молекулярная биология микроорганизмов», член Проблемной комиссии «Природно-очаговые инфекции» Научного совета по микробиологии, член бюро Комиссии по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию при Федеральной службе по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека.

Юлия Васильевна работала в составе Международного подкомитета по таксономии лептоспир. Многократно принимала участие в международных совещаниях и конгрессах, в том числе по проблеме биобезопасности. Является членом Правления Европейского общества лептоспирологов, председателем специализированного Совета по защите докторских диссертаций по специальности «Эпидемиология» в ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи»; член редакционных коллегий трех ведущих научных журналов — «Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии», «Медицинская паразитология» и «Эпидемиология и вакцинопрофилактика».

Ю.В. Ананьина — автор и соавтор около 200 научных работ, в том числе монографий и руководств, изданий ВОЗ по контролю и диагностике лептоспирозов, нормативно-методических документов Минздрава СССР и Минздрава России, нескольких авторских свидетельств на изобретения и патентов.

Награждена почетными грамотами РАМН, Минздрава России; имеет благодарность Правительства Российской Федерации (Распоряжение Правительства Российской Федерации от 17 апреля 2012 г. № 484-Р).

*Редколлегия журнала «Вестник РАМН», Бюро Отделения медицинских наук РАН, коллеги, друзья и ученики сердечно поздравляют уважаемую Юлию Васильевну с юбилеем и желают ей крепкого здоровья, счастья, благополучия, долгих лет жизни и новых творческих успехов!*

## Нина Владимировна Зайцева



22 мая 2016 г. исполнилось 70 лет со дня рождения директора Федерального научного центра медико-профилактических технологий управления рисками здоровью населения, заведующей кафедрой общественного здоровья и здравоохранения Пермского государственного медицинского университета им. академика Е.А. Вагнера, академика РАН, заслуженного деятеля науки Российской Федерации профессора Нины Владимировны Зайцевой.

После успешного окончания санитарно-гигиенического факультета и ординатуры при кафедре коммунальной гигиены Пермского государственного медицинского института Нина Владимировна последовательно прошла путь от младшего научного сотрудника (1971), доцента (1979), профессора (1985) до директора Федерального научного центра (с 1996 г. по настоящее время). Свои первые шаги в науке Нина Владимировна сделала еще в студенчестве под руководством профессора Якова Иосифовича Вайсмана. Научным направлением была выбрана профилактическая медицина, в частности фундаментальные и прикладные основы гигиены. Работы Н.В. Зайцевой касаются изучения закономерностей формирования негативных эффектов со стороны критических органов и систем человека при воздействии профессиональных и факторов внешней среды. Под ее руководством и непосредственном участии были выполнены теоретические и прикладные работы в области изучения механизмов и патогенетических особенностей токсико-кинетических и метаболических процессов в организме в условиях модельных и натуральных экспозиций, клинических наблюдений при изолированном и комбинированном воздействии широкого спектра соединений — ароматических углеводородов, алифатических аминов, хлорорганических соединений, тяжелых металлов и др. В рамках этих направлений созданы научно-методические основы и методы исследований, позволяющие выявить ранние нарушения функций экспонированного организма, в том числе детского. Эти исследования легли в основу создания системы методов биомониторинга маркеров экспозиции (более 50) и маркеров развития негативных эффектов (более 30), системного анализа причинно-следственных связей, в том числе методов прогноза и доказательности причинения вреда здоровью человека при нарушении санитарного законодательства.

В рамках развития теоретических и методических основ гигиенического анализа накоплены обширные материалы по диагностике и коррекции экологически и профессионально обусловленных процессов дезадаптации, ранних функциональных или устойчивых патологических нарушений иммунной, эндокринной, сердечно-сосуди-

стой и других систем; разработаны критерии и методы их оценки. В результате этих исследований получило развитие актуальное направление гигиенического анализа, связанного с оценкой разнородных факторов риска, оптимизацией системы социально-гигиенического мониторинга, повышением эффективности и адресности медико-профилактических мероприятий. Впервые сформулированы методологические аспекты анализа эволюции риска здоровью, разработаны методы ее количественной оценки. Развитие концептуальных основ прогнозирования риска здоровью с использованием эволюционных математических моделей в многоуровневых системах (макро-, мезо- и микроуровня) позволяет совершенствовать научный инструментарий оценки риска в динамике и расширять «библиотеку» моделей, параметры которых представляют интерес для мировой науки в этой области знаний.

Именно на научной базе анализа эволюции риска здоровью разработан комплекс научно-методических документов федерального уровня, который активно используется в практической деятельности Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, в том числе в рамках совершенствования рискориентированной модели контрольно-надзорной деятельности с целью предотвращения причинения вреда здоровью при нарушении санитарного законодательства. На основании методологии гигиенического анализа, в том числе эволюционного моделирования риска здоровью, разработанных под руководством Н.В. Зайцевой, были защищены на международном уровне позиции России и еще 50 стран по критериям безопасности пищевой (содержание антибиотиков тетрациклинового ряда, рактопамина, нитратов, листерий и др.) и непившей (формальдегид и др.) продукции. Разработаны и внедрены в практику новые подходы, расширяющие представления о профессиональных рисках для сердечно-сосудистой системы, органов дыхания, опорно-двигательного аппарата и других систем организма у работников предприятий металлургической, химической, горно-добывающей, нефтехимической промышленности и внешнесредовых рисках для экспонированного населения.

Сфера научных интересов академика РАН Н.В. Зайцевой отображена более чем в 850 научных работах, приоритет 58 научных изобретений подтвержден авторскими свидетельствами и патентами госкомитета СССР по делам изобретений и открытий и Комитета Российской Федерации по патентам и товарным знакам.

Н.В. Зайцева — автор и соавтор более 20 книг и монографий, среди которых «Анализ риска здоровью в стратегии государственного социально-экономического развития» (2014), «Контроль содержания химических соединений и элементов в биологических средах», «Цитогенетические маркеры и гигиенические критерии оценки хромосомных нарушений у населения и работников в условиях воздействия химических факторов с мутагенной активностью» (2013), «Гигиеническая индикация последствий для здоровья при внешнесредовой экспозиции химических факторов» (2011), «Гигиени-

ческие аспекты нарушения здоровья детей при воздействии химических факторов среды обитания» с отдельным изданным руководством (2011), «Здоровье населения и среда обитания. Анализ многосредового риска и ущерба при воздействии химических факторов» (2011), «Эпидемиологические, клинические и клинико-лабораторные особенности развития и течения бронхиальной астмы у детей с эндемическим зобом в регионе техногенного воздействия химических факторов» (2007), «Научно-методические и прикладные аспекты экологии человека» (2004) и др.

Н.В. Зайцевой создана научная школа: при ее консультировании и под научным руководством выполнены и защищены 62 диссертации, в их числе 20 докторских и 42 кандидатские. Ее ученики — коллеги и единомышленники — активно развивают основные направления гигиенического анализа и реализуют научные идеи в деятельности Федерального научного центра медико-профилактических технологий управления рисками здоровьем населения, созданного по инициативе и непосредственном участии Н.В. Зайцевой. Сегодня это один из наиболее эффективных научных и консультационных центров в стране, осуществляющих научно-методическое сопровождение деятельности органов и организаций Роспотребнадзора по широкому кругу вопросов в сфере своей компетентности, усовершенствования и подготовки научных кадров.

Нина Владимировна является доверенным лицом Президента В.В. Путина. Она входит в состав Ученого совета и бюро Комиссии по государственному санитарно-эпидемиологическому нормированию Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, является экспертом международной рабочей группы по проблемам безопасности потребительских товаров ОЭСР; состоит в международных обществах по эпидемиологии окружающей среды (International Society for Environmental Epidemiology, ISEE) и по оценке экспозиции (International Society for Exposure Science, ISES). Является членом Ученого совета ФГБОУ ВПО «Пермский государственный национальный исследовательский университет». Она входит в состав Президиума правления Всероссийского научного медицинского общества гигие-

нистов и санитарных врачей, является членом и экспертом Общественной палаты Пермского края и президиума Ассоциации научных и инновационных учреждений и предприятий Пермского края, заместителем главного редактора журнала «Анализ риска здоровью», членом редколлегий ряда научных журналов: «Гигиена и санитария», «Вопросы питания», «Профилактическая и клиническая медицина», «Пермский медицинский журнал», «Экология человека» и «Здоровье населения и среда обитания».

Награждена нагрудным знаком Минвуза «За отличные успехи в работе» (1986), медалью «Ветеран труда» (1987), дипломом Биографического института США как руководитель, внесший значительный вклад в развитие общества (Outstanding Contribution to Contemporary Society), памятной медалью Международной академии наук о природе и обществе «За заслуги в деле возрождения науки и экономики России»; является лауреатом Строгановской премии (2015), премии Академии медико-технических наук им. В.А. Рязанова (2003) отмечена серебряной медалью Минздрава «За развитие медицины и здравоохранения им. И.П. Павлова» (2005), серебряной медалью РАЕН «За развитие медицины и здравоохранения» (2005), почетной грамотой Президиума РАМН (2006), почетной грамотой Департамента здравоохранения Пермской области (2006), почетным знаком «Герб Пермской области» (2006). Нина Владимировна имеет звание «Почетный гражданин Пермского края» (2009); награждена почетной грамотой Минздравсоцразвития России (2009), серебряным почетным знаком Республики Бурятия (2012), медалью «90 лет Госсанэпидслужбе России» (2012). В 2014 г. за цикл научных работ по оценке риска здоровью и безопасности производственных процессов удостоена почетной медали Федерации космонавтики России им. лауреата Ленинской премии, заслуженного машиностроителя РСФСР С.Ф. Сигаева.

*Редколлегия журнала «Вестник РАМН», Бюро Отделения медицинских наук Российской академии наук, друзья, коллеги и ученики сердечно поздравляют Нину Владимировну с юбилеем и желают ей здоровья, счастья, благополучия и новых творческих успехов на благо медицинской науки, здравоохранения и образования.*

## Виталий Ильич Литвинов



4 июня исполнилось 75 лет со дня рождения академика РАН, заслуженного деятеля науки РФ, профессора Виталия Ильича Литвинова.

Виталий Ильич родился в Харькове. В 1964 г. окончил лечебный факультет Саратовского медицинского института, затем в течение года работал патологоанатомом и судмедэкспертом в Саранске (Мордовская АССР). В Центральном научно-исследовательском институте туберкулеза РАМН прошел путь от младшего научного сотрудника до заведующего отделом иммунологии (1966–1997). В 1970 г. защитил кандидатскую, в 1975 — докторскую диссертацию. В этот период им были опубликованы две книги: «Иммунобиологические основы противотуберкулезной вакцинации» (в соавторстве с М.М. Авербахом) и «Повышенная чувствительность замедленного типа и инфекционный процесс» (в соавторстве с М.М. Авербахом и В.Я. Гергертом).

Вместе с учениками были проведены исследования в области иммунологии и иммуногенетики туберкулеза, определена роль генотипа, субпопуляций Т-лимфоцитов и различных медиаторов иммунитета в сопротивляемости к этой инфекции, разработан ряд методов иммунодиагностики туберкулеза и других болезней легких и инфекционных заболеваний, получены диагностические препараты — антигены и антитела (в т.ч. моноклональные) — для идентификации возбудителей туберкулеза и микобактерий других видов.

С 1997 г. Виталий Ильич работал директором Московского городского научно-практического центра борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения города Москвы (по 2012 г.). В этот период большое внимание в своей научной и практической деятельности он уделял разработке и внедрению новых методов диагностики туберкулеза и определения устойчивости микобактерий туберкулеза к противотуберкулезным препаратам. Усовершенствованные им и его учениками методы молекулярной диагностики, включая микрочиповые технологии, позволяют в короткие сроки (2–3 дня) идентифицировать микобактерии и определить их лекарственную чувствительность. Были также разработаны методы и алгоритм идентификации нетуберкулезных микобактерий, вызывающих заболевания, в первую очередь у лиц с нарушением иммунитета. Определена распространенность нетуберкулезных микобактерий в городе Москве. Благодаря его организаторским способностям новейшие достижения науки постоянно внедрялись в широкую практику. Результаты исследований этого периода отражены в монографиях «Лабораторные исследования при туберкулезе» (2006, 2013), «Нетуберкулезные микобактерии» (2004), «Нетуберкулезные микобактерии, микобактериозы» (2014).

При активном участии В.И. Литвинова был создан новый диагностический препарат — Аллерген туберкулезный рекомбинантный (Диаскинтест), с помощью которого можно выявить наличие активной туберкулезной инфекции и провести дифференциальную диагностику с

другими заболеваниями нетуберкулезной природы. Под руководством Виталия Ильича были выполнены клинические исследования, подтверждающие эффективность теста, что позволило широко внедрить его в Российской Федерации.

В области эпидемиологии и организации здравоохранения В.И. Литвинов также достиг больших успехов: это не только изданные статьи, обзоры, методические рекомендации и книги, но и эффективность работы противотуберкулезной службы города Москвы. Проведенные совместно с сотрудниками эпидемиологические исследования позволили разработать программу неотложных противотуберкулезных мер в Москве и последовательно осуществить организационные мероприятия, направленные на совершенствование деятельности фтизиатрической службы города. Все это имело большое значение для стабилизации эпидемической обстановки по туберкулезу в городе Москве: заболеваемость и смертность от этой патологии в столице в 2 раза ниже общероссийских показателей.

В 1987 г. В.И. Литвинову присвоено звание профессора, в 1995 — члена-корреспондента РАМН, в 2004 г. он стал действительным членом РАМН, с 2013 — академиком РАН.

В.И. Литвинов — член редколлегии журналов «Туберкулез и социально значимые заболевания», «Физиология и патология иммунной системы. Иммунофармакогенетика», специализированного Совета по проблемам фтизиатрии и пульмонологии (при ЦНИИТ РАМН).

Виталий Ильич в своей научной деятельности всегда активно взаимодействовал с коллегами, помогал в работе молодым ученым и сумел создать свою научную школу. Среди учеников В.И. Литвинова 26 докторов и 49 кандидатов наук, которые живут и постоянно трудятся в России и других странах — бывших республиках СССР; некоторые из его учеников являются сотрудниками ведущих лабораторий Европы и США.

Результаты исследований В.И. Литвинова защищены 20 патентами и авторскими свидетельствами. По этим материалам опубликовано более 400 научных работ, в том числе 3 руководства и 33 книги (две из которых изданы за рубежом).

В.И. Литвинов вместе с коллективом исследователей был удостоен Премии Правительства Москвы за 2003 г., Премии Правительства Российской Федерации в области науки и техники за 2012 г. и российской Премии имени Галена за 2014 г.

В настоящее время В.И. Литвинов — научный руководитель ГКУЗ «Московский городской научно-практический центр борьбы с туберкулезом Департамента здравоохранения города Москвы».

Трудно поверить, что Виталию Ильичу уже 75 лет: он по-прежнему молод, полон творческих замыслов, готов к их воплощению. Мы надеемся, что следующий юбилей — 80-летие — он встретит в такой же хорошей форме, а учеников и последователей станет еще больше.

*Редколлегия журнала «Вестник РАМН», Бюро Отделения медицинских наук Российской академии наук, друзья, коллеги, ученики сердечно поздравляют Виталия Ильича с юбилеем и желают ему здоровья, счастья, благополучия и новых творческих успехов на благо медицинской науки и здравоохранения.*

# Дмитрий Константинович Львов



26 июня 2016 г. исполнилось 85 лет со дня рождения и без малого 60 лет научной деятельности крупнейшего вирусолога, академика РАН, главного научного сотрудника, заведующего отделом экологии вирусов, руководителя научно-практического центра по экологии и эпидемиологии гриппа,

руководителя отдела экологии вирусов института вирусологии им. Д.И. Ивановского ФНИЦ эпидемиологии и микробиологии им. почетного академика Н.Ф. Гамалеи, доктора медицинских наук, профессора Дмитрия Константиновича Львова.

Д.К. Львов родился в Москве в семье профессора-психолога. В 1949 г. поступил в 1-й Московский медицинский институт, по окончании 2-го курса был переведен на 3-й в Военно-медицинскую академию им. С.М. Кирова (Ленинград), которую окончил с отличием (1955). Его учителями и научными руководителями были Е.Н. Павловский, Ш.Д. Мошковский, М.П. Чумаков. До 1957 г. Дмитрий Константинович работал младшим научным сотрудником в Институте санитарии МО СССР, а после демобилизации прошел по конкурсу на должность младшего научного сотрудника в Институт медицинской паразитологии и тропической медицины Минздрава СССР. В 1960 г. был переведен в Институт полиомиелита и вирусных энцефалитов АМН СССР, где последовательно прошел стадии научного роста от младшего научного сотрудника до руководителя лаборатории. С октября 1967 г. по настоящее время работает в Институте вирусологии им. Д.И. Ивановского АМН СССР: руководил лабораторией, затем занимал должность заместителя директора по науке. Являясь директором НИИ вирусологии (с 1987 по июнь 2014), руководил научно-исследовательской и научно-организационной деятельностью коллектива. В течение многих лет он возглавляет крупнейший в Институте отдел экологии вирусов с научно-практическим центром по экологии и эпидемиологии гриппа, одновременно являясь бессменным руководителем лаборатории экологии вирусов.

В 1960 г. Д.К. Львов защитил кандидатскую диссертацию, а в 1965 — докторскую; в 1969 г. был утвержден в звании профессора, в 1975 г. избран членом-корреспондентом АМН СССР, а в 1984 — академиком АМН СССР по специальности «Вирусология». В настоящее время Д.К. Львов является действительным членом Российской академии наук.

С именем Д.К. Львова связаны создание и развитие нового научного направления — экологии вирусов и популяционной генетики арбовирусов, молекулярной экологии вирусов. Используя эволюционный подход и математические методы многофакторного анализа в создании научно обоснованной концепции о закономер-

ностях циркуляции арбовирусов в различных климато-географических поясах мира, Дмитрий Константинович изучал роль рекомбинационных процессов в механизме формирования генофонда вирусных популяций. Им разработан уникальный метод экологического зондирования территории России и стран бывшего Советского Союза с целью изучения циркуляции возбудителей особо опасных и малоизученных вирусных инфекций на территории Северной Евразии. Под его руководством и непосредственном участии в результате ширококомасштабных полевых и экспериментальных исследований были изолированы из природы более 60 вирусов различных семейств, в том числе арбовирусы, многие из которых были зарегистрированы в Международном каталоге арбовирусов в качестве новых для науки.

Неоценим вклад Д.К. Львова в становлении и пополнении государственной коллекции вирусов, действующей на базе Института вирусологии, новыми возбудителями вирусных инфекций человека и животных, циркулирующих на территории Российской Федерации и сопредельных стран.

Д.К. Львов как признанный ведущий специалист в сфере биологической безопасности государства внес огромный вклад в изучение экологии и молекулярной эпидемиологии гриппа. Под его руководством проводятся исследования, направленные на прогнозирование и выявление эпидемических штаммов вируса гриппа; расшифровка вспышек эпизоотий, вызванных высокопатогенными вариантами вируса гриппа А (H5N1), пандемического гриппа (H1N1) на территории Российской Федерации. Дмитрий Константинович внедрил методы молекулярной эпидемиологии для изучения арбовирусов, гриппа и гепатита С, организовал и провел в кратчайшие сроки важные в фундаментальном и практическом плане исследования по распространению вируса гепатита С и его генотипов на территории Северной Евразии. Он проводит актуальные для науки и здравоохранения исследования в стране, целеустремленно и плодотворно изучая проблемы новых и вновь возникающих инфекций (emerging и reemerging), способных вызывать чрезвычайные эпидемические ситуации, а также инфекций, вызываемых вирусами с высокой степенью изменчивости генома. Проведенные под его руководством в последние годы исследования с использованием метагеномного анализа многих новых для науки арбовирусов, изолированных на территории Северной Евразии, позволили определить генетическое разнообразие зоонозных вирусов, их филогению и внести существенные дополнения в таксономию возбудителей новых и возвращающихся инфекций.

Ученым создана школа вирусологов — специалистов в области арбовирусологии, экологии вирусов; подготовлено 50 кандидатов и докторов наук.

Д.К. Львов — автор и соавтор более 800 широко цитируемых в стране и в мире научных трудов (по данным РИНЦ, по состоянию на 2016 г. индекс Хирша публикаций составляет 28 и 22 — по данным Web of Science). В

числе его работ 12 монографий и руководств по общей и частной вирусологии; уникальный атлас, отражающий распространение возбудителей особо опасных и малоизученных вирусных инфекций на территории Российской Федерации. Недавно опубликованная международным издательством Elsevier Academic press написанная в соавторстве монография «Zoonotic viruses of Northern Eurasia: Taxonomy and Ecology» (2015) содержит новейшие уникальные данные по таксономии, распространению, экологии, эпидемиологии, эпизоотологии, клинике зоонозных вирусов в экосистемах Северной Евразии в пределах различных ландшафтных поясов от Арктики до субтропиков.

Многогранна и научно-общественная деятельность Д.К. Львова: он является председателем специализированного Совета по защите докторских диссертаций по вирусологии, эпидемиологии и инфекционным болезням; председателем межведомственного Научного совета по вирусологии; редактором журнала «Вопросы вирусологии», членом межведомственного научного совета Отделения медицинских наук РАН и Всероссийской службы «Медицина катастроф». Многие годы Дмитрий Константинович был руководителем кафедры вирусологии факультета последипломного профессионального образования Московской медицинской академии им. И.М. Сеченова, заместителем председателя координационного Совета по проблемам птиц при биологическом отделении РАН.

На протяжении многих лет Д.К. Львов ведет широкую научно-координационную работу по вирусологии. Являясь руководителем Центра экологии возбудителей особо опасных и малоизученных инфекционных заболеваний вирусной природы, он проводил ежегодные региональные совещания, научные конференции и семинары вирусологов, эпидемиологов, инфекционистов в учреждениях практического здравоохранения нашей страны и стран СНГ по проблемам арбовирусов и арбовирусных инфекций; был организатором и председателем Президиума

международных симпозиумов «Арбовирусы», «Вирусные гепатиты» и «100-летие вирусологии».

Д.К. Львов пользуется высоким научным авторитетом в мире, о чем свидетельствует его избрание международным советником Американского национального комитета по арбовирусам, членом международного комитета по изучению вирусов в высоких широтах, членом таксономических групп по бунни- и тогавирусам Международного комитета по таксономии вирусов. Дмитрий Константинович долгое время работал куратором с российской стороны исследований по экологии гриппа в рамках советско-американского сотрудничества по проблеме гриппа, был экспертом ВОЗ по гриппу, председателем Комитета по медицинским наукам и здравоохранению Тихоокеанской научной ассоциации, членом редколлегии двух международных журналов и научных тематических сборников.

Многолетняя научная, научно-организационная деятельность Д.К. Львова, его огромный вклад в становление и развитие вирусологической науки в стране были высоко оценены Правительством страны, Президентом Российской Федерации, Президиумом РАМН: он награжден орденом «Знак Почета» (1976) и орденом Ленина (1991). В 1999 г. Д.К. Львов стал лауреатом Государственной премии в области науки и техники. Он трижды лауреат премии имени Д.И. Ивановского, лауреат премии имени почетного академика Н.Ф. Гамалеи и других наград Академии медицинских наук и Министерства здравоохранения Российской Федерации.

*Отделение медицинских наук и Бюро секции профилактической медицины Отделения медицинских наук Российской академии наук, редколлегия журнала «Вестник РАМН», друзья, коллеги и ученики сердечно поздравляют Дмитрия Константиновича с юбилеем и желают ему крепкого здоровья, счастья, благополучия, долгих лет активной жизни и новых творческих успехов на благо медицинской науки и здравоохранения!*

## Могели Шалвович Хубутия



Исполнилось 70 лет со дня рождения директора НИИ СП им. Н.В. Склифосовского, заведующего кафедрой трансплантологии и искусственных органов МГМСУ им. А.И. Евдокимова и кафедрой физики живых систем МФТИ, члена-корреспондента РАМН, профессора Хубутии Могели

Шалвовича. Могели Шалвович — ученик научной школы академика В.И. Шумакова, проработавший под его началом более 20 лет. Научные исследования и его вклад в медицинскую науку и практическое здравоохранение связаны со становлением и развитием в нашей стране трансплантологии и решением проблемы искусственных органов. Им разрабатываются научные направления по трансплантации сердца, печени, почек, поджелудочной железы, легких, мультиорганной трансплантации, научные основы трупного донорства, вопросы создания и применения искусственных органов, изучения физиологических и патофизиологических процессов при трансплантации органов, хирургического лечения острой и хронической сердечной недостаточности, а также научные и организационные основы скорой и неотложной медицинской помощи.

М.Ш. Хубутия является одним из пионеров по трансплантации сердца в нашей стране: в его работах обобщен первый опыт таких операций, изучены фундаментальные механизмы отторжения аллотрансплантата, описаны особенности физиологии и патофизиологии трансплантированного сердца. Цикл его работ посвящен изучению проблем ксенотрансплантации и созданию искусственных органов, механических клапанов сердца, новых видов кардиостимуляторов, использованию вспомогательного кровообращения при острой и хронической сердечной недостаточности. Последние 5 лет исследований посвящены фундаментальным и прикладным направлениям трансплантации органов и тканей. Совместно с МФТИ создан и успешно прошел клинические испытания материал на основе кожи генно-модифицированных свиней, применяемый для лечения ожоговых ран. Совместно с МГТУ им. Н.Э. Баумана разработана технология производства гемосорбентов из промышленных активированных углей для селективного извлечения из крови свободного гемоглобина с целью приведения заготавливаемых компонентов крови требованиям регламента. Под руководством ученого создан электрохимический метод измерения редокс-потенциала в плазме крови для ранней диагностики осложнений у пациентов с трансплантированными органами.

М.Ш. Хубутия проведены исследования по патогенезу и профилактике послеоперационных осложнений при пересадке печени, почек, поджелудочной железы; по мультиорганной трансплантации, разработке прин-

ципов кровесберегающих технологий при трансплантации печени; по изучению возможностей пересадки печени при злокачественных поражениях и циррозе печени вирусной этиологии. Им разработаны и внедрены усовершенствованные схемы иммуносупрессивной терапии при пересадке печени, почки и поджелудочной железы. Предложенные методы иммуносупрессивной монотерапии при трансплантации органов дали хороший медицинский, социальный и экономический эффект от внедрения. Современные воззрения привели к расширению критериев по использованию доноров для трансплантации печени.

М.Ш. Хубутия подготовлены и созданы научно-организационные основы — как кадровые, так и материально-технические — для успешного старта и развития трансплантационных программ на базе НИИ СП им. Н.В. Склифосовского. Являясь высококлассным поливалентным трансплантологом, он первым провел в Институте операции по пересадке сердца, почек и поджелудочной железы. Под его руководством впервые в стране бригадой отечественных хирургов проведены успешные трансплантации легких, в т.ч. у больных муковисцидозом, начаты также пересадки кишечника. В течение последних 3 лет им лично выполнены около 300 операций по трансплантации различных органов, а также более 100 операций на открытом сердце с хорошими клиническими результатами. Средняя продолжительность жизни этих больных после пересадки органов соответствует мировым показателям в этой области. Достаточно большое количество трансплантаций выполнено больным, находящимся в угрожающих жизни состояниях.

Под его руководством ведутся научные исследования по хирургической коррекции приобретенных пороков сердца, расслаивающей аневризме аорты, другой сложнейшей экстренной патологии сердечно-сосудистой системы. При его активном участии совместно с сотрудниками кафедры МФТИ проведены научные исследования по созданию отечественного аппарата для временной поддержки кровообращения и длительной постоянной имплантации для лечения тяжелых форм сердечной недостаточности. Данный аппарат с хорошими клиническими результатами апробирован и внедрен как в НИИ СП (8 конструкций), так и в других городах РФ (18 конструкций). Это один из примеров импортозамещения дорогостоящих медицинских приборов отечественной продукцией.

С 2009 г. НИИ СП осуществлял функцию головного учреждения в стране по проблемам скорой и неотложной медицинской помощи, проводя координацию научных исследований по данному направлению в стране среди профильных НИУ и кафедр вузов в рамках Научного совета РАМН и 6 проблемных комиссий. Все годы руководства Институтом М.Ш. Хубутия много времени и сил отдает организации и оказанию скорой высококвалифицированной медицинской помощи наиболее тяжелому контингенту больных при массовых поступлениях, пострадавших в результате чрезвычайных ситуаций не

только в Москве, но и в стране, с проведением консультативной и лечебной работы на месте катастроф.

В последние годы Могели Шалвовичем проведена оптимизация структуры Института скорой помощи за счет реорганизации и создания новых структурных подразделений, таких как региональный сосудистый центр, являющийся головным в Москве, отдел неотложной кардиологии и сердечно-сосудистой хирургии с отделениями неотложной кардиохирургии, вспомогательного кровообращения и трансплантации сердца, клеточных и тканевых технологий с двумя лабораториями; отделение неотложной кардиологии для больных инфарктом миокарда, отделение пересадки почки и поджелудочной железы, также реорганизованы принципы работы приемного отделения. Были значительно расширены научные исследования по этим направлениям. В практику учреждения постоянно внедряются новые высокоэффективные лечебные и диагностические технологии, ряд которых разработан и создан в стенах самого НИИ СП им. Н.В. Склифосовского. Это новые методики по использованию клеточных технологий, в частности в комбустиологии, неотложной хирургии и трансплантологии, метод экстракорпоральной оксигенации при тяжелых формах легочной патологии. Внедряются новые эндоваскулярные и гибридные технологии в неотложной кардиологии, нейро- и сердечно-сосудистой хирургии. Использование высокотехнологичных методов нейровизуализации, трактографии и нейронавигации позволило проводить радикальные операции по удалению труднодоступных злокачественных опухолей, а также патологически измененных участков головного мозга для устранения приступов тяжелой фармакорезистентной эпилепсии.

М.Ш. Хубутия ведет большую научно-общественную работу: является членом профильной комиссии по скорой помощи МЗ РФ, председателем Ученого и диссертационного советов НИИ СП им. Н.В. Склифосовского, главным специалистом-трансплантологом ДЗМ. Избран президентом двух научных обществ — Общества трансплантологов и Общества врачей неотложной медицины, под эгидой которых за последние 5 лет проведены 2 съез-

да врачей неотложной медицины с числом участников более 2 тысяч, а также 15 крупных научно-практических симпозиумов с международным участием с целью решения важнейших задач скорой и неотложной медицинской помощи и трансплантологии.

Под руководством Могели Шалвовича учреждены 2 научно-практических рецензируемых издания, входящих в Перечень ВАК РФ (Журнал «Трансплантология», Журнал им. Н.В. Склифосовского «Неотложная медицинская помощь»), главным редактором которых он является. Ученый состоит также членом редколлегий пяти других научных журналов.

М.Ш. Хубутия создал свою научную школу учеников и приверженцев: под его руководством и при консультации защищены 2 докторские и 21 кандидатская диссертация. Его лекции на кафедрах, посвященные использованию высоких медицинских технологий в неотложной медицине и трансплантологии, вызывают огромный интерес студентов МГМСУ им. А.И. Евдокимова и Московского физико-технического института.

Заслуги М.Ш. Хубутия как крупного ученого и организатора известны за рубежом. Он является членом международного общества трансплантологов, академиком Европейской академии информатики.

М.Ш. Хубутия — автор более 500 научных работ, 12 монографий, книг, руководств, 6 учебных пособий, 8 изобретений, 23 патентов.

В 1998 г. за внедрение в клиническую практику трансплантации сердца удостоен Премии правительства РФ в области науки и техники; является лауреатом премии мэрии г. Москвы (2008). Награжден орденом «За заслуги перед Отечеством» III и IV степени, орденом Почета; удостоен почетного звания «Заслуженный врач РФ».

*Бюро Отделения медицинских наук РАН, редакция журнала «Вестник РАМН», многочисленные ученики, друзья и коллеги сердечно поздравляют глубокоуважаемого Могели Шалвовича со славным юбилеем, желают ему отличного здоровья, счастья, неиссякаемой бодрости и творческой активности, новых идей, успехов в трудовой деятельности!*