

# ВЕСТНИК РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ МЕДИЦИНСКИХ НАУК

ANNALS OF THE RUSSIAN ACADEMY  
OF MEDICAL SCIENCES



1

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,  
Russian Science Citation Index.

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**

---

# 2018/ТОМ 73/№ 1

---

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)

Отпечатано ООО «Полиграфист и издатель». 119501, Москва, ул. Веерная, 22-3-48. Тел. +7 (499) 737-78-04.

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 indexed in Elsevier BV Scopus, Pub Med, Embase, EBSCO,  
Russian Science Citation Index.

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

---

# 2018/ 73 (1)

---

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 by «PRINTER & PUBLISHER» Ltd, 22-3-48, Veernaya street, Moscow, 119501. Tel. +7 (499) 737-78-04.

### АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ АКУШЕРСТВА И ГИНЕКОЛОГИИ

*А.И. Ищенко, А.Л. Унанян, Е.А. Коган,  
Т.А. Демура, Ю.М. Коссович*

Клинико-anamnестические, иммунологические, эхографические и гистероскопические особенности хронического эндометрита, ассоциированного с нарушением репродуктивной функции

### АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ КАРДИОЛОГИИ И СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ ХИРУРГИИ

*В.А. Бывальцев, Е.Т. Махамбетов, И.А. Степанов,  
А.Б. Калиев, С.К. Акишулаков*

Анализ результатов использования потокоперенаправляющих стентов Pipeline в хирургическом лечении неразорвавшихся больших и гигантских параклиноидных аневризм внутренней сонной артерии

### АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ КЛЕТочНОЙ ТРАНСПЛАНТОЛОГИИ И ТКАНЕВОЙ ИНЖЕНЕРИИ

*Е.Л. Атькова, Н.Н. Краховецкий, В.Д. Ярцев,  
А.М. Суббот, А.Н. Габашвили, Д.А. Рейн,  
Т.В. Нестерова*

Изучение антифибротических свойств препарата пирфенидон на клеточной культуре фибробластов слизистой оболочки полости носа

### АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ОФТАЛЬМОЛОГИИ

*Т.А. Морозова, Т.З. Керимов*

Оценка клинической эффективности мультифокальных интраокулярных линз. Критерии отбора пациентов для мультифокальной интраокулярной коррекции

*А.П. Лыков, М.А. Суровцева,  
О.В. Повещенко, О.М. Станишевская, Д.В. Черных,  
Н.С. Арбеньева, В.И. Братко*

Лечение идиопатической возрастной макулярной дегенерации аутологичной плазмой, обогащенной лизатом тромбоцитов: проспективное исследование

### OBSTETRICS AND GYNAECOLOGY: CURRENT ISSUES

**5** *A.I. Ishenko, A.L. Unanyan, E.A. Kogan, T.A. Demura,  
J.M. Kossovich*

Clinical and Anamnestic, Immunological, Echographic, and Hysteroscopic Features of Chronic Endometritis Associated with Impaired Reproductive Function

### CARDIOLOGY AND CARDIOVASCULAR SURGERY: CURRENT ISSUES

**16** *V.A. Byvaltsev, Y.T. Makhambetov, I.A. Stepanov,  
A.B. Kaliyev, S.K. Akshulakov*

Outcome Analysis of the Flow Diversion with Pipeline Embolization Device for the Surgical Treatment of Unruptured Large and Giant Paraclinoid Carotid Aneurysms

### CELL TRANSPLANTOLOGY AND TISSUE ENGINEERING: CURRENT ISSUES

**23** *E.L. At'kova, N.N. Krahoveckij,  
V.D. Yartsev, A.M. Subbot, A.N. Gabashvili,  
D.A. Rein, T.V. Nesterova*

Evaluation of Antifibrotic Effect of Pirfenidone on Cultured Human Nasal Mucosa Fibroblasts

### OPHTHALMOLOGY: CURRENT ISSUES

**30** *T.A. Morozova, T.Z. Kerimov*

Multifocal Intraocular Lenses Clinical Assessment. Patient Selection for Multifocal Intraocular Correction

**40** *A.P. Lykov, O.V. Poveschenko, M.A. Surovtseva,  
O.M. Stanishevskaya, D.V. Chernykh, N.S. Arben'eva,  
V.I. Bratko*

Autologous Plasma Enriched with Platelet Lysate for the Treatment of Idiopathic Age-Related Macular Degeneration: A Prospective Study

**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ  
ПЕДИАТРИИ**

*С.Г. Макарова, Л.С. Намазова-Баранова,  
Н.Н. Мурашкин, Е.А. Вишнёва, Р.В. Епишев,  
Т.Р. Чумбадзе, О.В. Кожевникова, М.А. Сновская,  
О.А. Еreshko, Ф.Г. Балабекова, Д.С. Ясаков*

Пищевая аллергия у детей с врожденным  
буллезным эпидермолизом.  
Результаты собственного наблюдательного  
исследования

**PEDIATRICS:  
CURRENT ISSUES**

**49** *S.G. Makarova, L.S. Namazova-Baranova,  
N.N. Murashkin, R.V. Epishev, T.R. Chumbadze,  
O.V. Kogevnikova, M.A. Snovskaya, E.A. Vishneva,  
O.A. Ereshko, F.G. Balabekova, D.S. Yasakov*

Food Allergy in Children  
with Inherited Epidermolysis Bullosa.  
The Results of the Observational Study

**АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ  
ТРАВМАТОЛОГИИ**

*А.Г. Самохин, Ю.Н. Козлова, Д.В. Корнеев,  
О.С. Таранов, Е.А. Фёдоров, В.В. Павлов,  
В.В. Морозова, Н.В. Тикунова*

4 Экспериментальное исследование  
антибактериальной активности литического  
стафилококкового бактериофага *ph20* и  
литического бактериофага синегнойной палочки  
*ph57* при моделировании их импрегнации в  
ортопедические полимерные конструкции из  
полиметилметакрилата (костного цемента)

**TRAUMATOLOGY:  
CURRENT ISSUES**

**59** *A.G. Samokhin, Y.N. Kozlova,  
D.V. Korneev, O.S. Taranov, E.A. Fedorov,  
V.V. Pavlov, N.V. Tikunova*

Experimental Study  
of the Antibacterial Activity of the Lytic  
*Staphylococcus Aureus* Bacteriophage *Ph20* and  
Lytic *Pseudomonas Aeruginosa* Bacteriophage *Ph57*  
when Modelling Impregnation into Poly  
(Methylmetacrylate) Orthopedic Implants  
(Bone Cement)

**ЮБИЛЕИ**

*В.Н. Николенко, В.А. Кудряшова, М.В. Оганесян,  
Н.А. Ризаева, Ф.Х. Закиров*

Дмитрий Аркадьевич Жданов — основоположник  
функциональной анатомии лимфатической  
системы (к 110-летию со дня рождения)

**ANNIVERSARIES, CONGRATULATIONS**

**69** *V.N. Nikolenko, V.A. Kudryashova, M.V. Oganeyan,  
N.A. Rizaeva, F.H. Zakirov*

Dmitry A. Zhdanov — the Founder of the Functional  
Anatomy of the Lymphatic System  
(to the 110th Birth Anniversary)

DOI: 10.15690/vramn927

А.И. Ищенко, А.Л. Унанян, Е.А. Коган, Т.А. Демура, Ю.М. Коссович

Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет),  
Москва, Российская Федерация

# Клинико-anamnestические, иммунологические, эхографические и гистероскопические особенности хронического эндометрита, ассоциированного с нарушением репродуктивной функции

**Обоснование.** Широкая распространенность бесплодия на фоне низкой эффективности методов вспомогательных репродуктивных технологий и высокая частота выявления хронического эндометрита (ХЭ) у бесплодных женщин обуславливают актуальность изучаемой проблемы. **Цель исследования** — определить клинико-anamnestические и лабораторно-инструментальные особенности ХЭ, ассоциированного с развитием бесплодия и многократными неудачами в циклах ЭКО у женщин репродуктивного возраста. **Методы.** В исследовании вошли 150 женщин репродуктивного возраста, у 120 из них морфологически был установлен ХЭ (основная группа) и у оставшихся 30 женщин было подтверждено нормальное гистологическое строение эндометрия. У 64 пациенток основной группы выявлено ассоциированное с ХЭ бесплодие (подгруппа I), тогда как у 56 женщин с ХЭ фертильность была сохранена (подгруппа II). Помимо сбора анамнеза и выявления клинических особенностей ХЭ, всем пациенткам основной группы проведены инфекционный скрининг, иммунологическое и иммуногистохимическое исследования, ультразвуковое исследование органов малого таза с цветовым доплерокартированием (ЦДК) и офисная гистероскопия. Выполнен сравнительный анализ полученных данных между подгруппами I и II. **Результаты.** При гистологическом исследовании пайпель-биоптатов эндометрия на 7–10-й день цикла ХЭ в виде полного его симптомокомплекса с рядом отличительных особенностей при бесплодии верифицирован у всех пациенток основной группы. Установлено преобладание средней продолжительности ХЭ в I подгруппе относительно II подгруппы —  $5,5 \pm 0,06$  и  $2,4 \pm 0,07$  года соответственно ( $p < 0,001$ ). При инфекционном скрининге у 58 (90,6%) пациенток I подгруппы выявлены стерильные посевы эндометрия, что в 16,9 раз превысило аналогичный показатель во II подгруппе ( $p < 0,0001$ ). Иммунологический анализ определил наличие антиэндометриальных антител (АЭАТ) у всех пациенток I подгруппы, причем у 43 (67,2%) из них — в количестве выше 265 Ед/мл, тогда как у 51 (91,1%) женщины II подгруппы АЭАТ отсутствовали ( $p < 0,001$ ). Иммуногистохимический анализ эндометрия на 18–24-й день цикла установил высокую экспрессию  $CD_{16}$ ,  $CD_{20}$ ,  $CD_{56}$  и  $HLA-DR_{II}$  у 58 (90,6%) пациенток I подгруппы, тогда как у 54 (96,4%) женщин II подгруппы зарегистрирована высокая экспрессия  $CD_{16}$  и  $CD_{20}$  на фоне малого количества  $CD_{56}$ - и  $HLA-DR_{II}$ -позитивных клеток ( $p < 0,001$ ). Определены прогностически значимые клинико-anamnestические факторы риска, предрасполагающие к развитию бесплодия при ХЭ ( $p < 0,05$ ). Выявлены определенные эхографические, доплерометрические и гистероскопические критерии ХЭ, отражающие критичное нарушение рецептивности эндометрия при бесплодии. **Заключение.** У 90,6% пациенток с бесплодием на фоне ХЭ определен аутоиммунный компонент заболевания, характеризующийся длительным (более 5 лет) течением, высоким сывороточным уровнем АЭАТ, стерильными посевами эндометрия и высокой экспрессией в нем маркеров воспаления  $CD_{16}$ ,  $CD_{20}$ ,  $CD_{56}$  и  $HLA-DR_{II}$ .

**Ключевые слова:** хронический эндометрит, бесплодие, неэффективные попытки ЭКО, антиэндометриальные антитела, аутоиммунный эндометрит,  $CD_{16}$ ,  $CD_{20}$ ,  $CD_{56}$ ,  $HLA-DR_{II}$ .

(Для цитирования: Ищенко А.И., Унанян А.Л., Коган Е.А., Демура Т.А., Коссович Ю.М. Клинико-anamnestические, иммунологические, эхографические и гистероскопические особенности хронического эндометрита, ассоциированного с нарушением репродуктивной функции. Вестник РАМН. 2018;73(1):5–15. doi: 10.15690/vramn927)

## Обоснование

Актуальность проблемы репродуктивного здоровья во всем мире обусловлена высокой частотой развития бесплодия на фоне относительно низкой эффективности методов вспомогательных репродуктивных технологий (ВРТ) [1, 2].

Наряду с качеством эмбриона успех имплантации определяется морфофункциональным состоянием эндометрия [3, 4], к наиболее частым патологическим процессам которого при бесплодии относится хронический эндометрит (ХЭ) [5, 6]. Последний выявляется в 68% случаев при трубно-перитонеальном бесплодии, у 80% женщин с многократными неэффективными программами экстракорпорального оплодотворения (ЭКО) и в 21,9% случаев в качестве единственной причины ненаступления беременности [7, 8].

Несмотря на огромное количество накопленных в настоящее время знаний о патологических процессах эндометрия, до сих пор отсутствует единая концепция патогенеза ХЭ, раскрывающая основы нарушения репродуктивной функции на его фоне.

**Цель исследования** — определить клинико-anamnestические и лабораторно-инструментальные особенности ХЭ, ассоциированного с развитием бесплодия и многократными неудачами в циклах ЭКО.

## Методы

### Дизайн исследования

Проведено наблюдательное проспективное многоцентровое контролируемое нерандомизированное исследование с участием пациенток с верифицированным ХЭ.



### Критерии соответствия

**Критерии включения:** женщины репродуктивно-го возраста с морфологически подтвержденным ХЭ и отсутствием гинекологических заболеваний невоспалительного генеза, которые могли бы стать причиной бесплодия. Перед вступлением в исследование каждая женщина добровольно подписывала информированное согласие на участие.

**Критерии исключения:** морфологически подтвержденные злокачественные заболевания любой локализации; соматические заболевания, осложненные развитием органной недостаточности.

**Критерии включения в группу контроля:** женщины репродуктивного возраста с морфологически подтвержденным отсутствием ХЭ и других патологических процессов эндометрия, которые могли бы быть причиной бесплодия.

### Условия проведения

В исследовании приняли участие женщины репродуктивного возраста с морфологически верифицированным наличием (основная группа) и отсутствием (контрольная группа) ХЭ, обратившиеся для проведения прегравидарной подготовки при самостоятельном планировании беременности или перед программой ЭКО в медицинские учреждения, являющиеся клиническими базами кафедры акушерства и гинекологии № 1 лечебного факультета Первого МГМУ им. И.М. Сеченова: Клинику акушерства и гинекологии им. В.Ф. Снегирёва; гинекологическое и поликлиническое отделения Городской клинической больницы № 53 Департамента здравоохранения г. Москвы; отделение ЭКО родильного дома № 17 Департамента здравоохранения г. Москвы; филиал № 1 Город-

ской поликлиники № 68 Департамента здравоохранения г. Москвы.

### Продолжительность исследования

Набор участниц исследования осуществлялся в период с 2011 по 2013 г. Каждая из участниц основной группы находилась под наблюдением в течение 1 года после проведения терапии ХЭ; участницы из группы контроля под длительным наблюдением не находились.

### Описание медицинского вмешательства

Взятие образцов эндометрия у участниц исследования проводили путем аспирационной биопсии с помощью кюретки Pipelle de Cornier (Laboratoire C.S.D., Франция) на 7–10-й день цикла по стандартной методике. Шейку матки обнажали в зеркалах, фиксировали пулевыми щипцами и после обработки дезинфицирующим раствором выполняли парацервикальную анестезию 2% раствором лидокаина. Через 5 мин без дополнительного расширения цервикального канала кюретку вводили до дна полости матки и потягивали поршень вниз, в результате чего за счет создания отрицательного давления происходило засасывание эндометрия в цилиндр на конце трубки. При извлечении кюретки избегали касания стенок влагалища.

Всем участницам основной группы выполняли жидкостную гистероскопию на 18–24-й день цикла без расширения цервикального канала под местной анестезией по общепринятой методике. В течение суток после получения биологического материала образцы эндометрия, помещенные в стерильные контейнеры с 10% раствором формалина, доставляли в лабораторию кафедры патологической анатомии им. академика А.И. Струкова Первого

A.I. Ishenko, A.L. Unanyan, E.A. Kogan, T.A. Demura, J.M. Kossovich

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

## Clinical and Anamnestic, Immunological, Echographic, and Hysteroscopic Features of Chronic Endometritis Associated with Impaired Reproductive Function

**Background:** The widespread prevalence of infertility, the low effectiveness of assisted reproductive technologies (ART), and the high incidence of chronic endometritis (CE) in infertile women determine the relevance of the considered problem. **The aim of the study** was to determine the clinical and anamnestic, laboratory, and instrumental features of CE associated with infertility and unsuccessful IVF cycles in women of reproductive age. **Materials and methods:** The study enrolled 150 women of reproductive age with morphologically established CE (main group, n=120) and without CE (control group, n=30). A subgroup I of the main group included 64 patients with infertility and IVF failures, a subgroup II – 56 fertile women. In addition to anamnesis collection and identification of CE clinical features, all patients underwent infectious screening, immunological and immunohistochemical analysis, ultrasound examination of pelvic organs with dopplerometry, and office hysteroscopy. A comparative analysis of the data obtained from subgroups of the main group was conducted. **Results:** Histological study of endometrial pipelle-biopsy specimens on the 7–10th day of the cycle revealed CE in all patients of the main group. We found prevalence of mean duration of CE in the subgroup I relative to subgroup II — 5.5±0.06 years and 2.4±0.07 years, respectively (p<0.001). Infectious screening showed that 58 (90.6%) patients of the I subgroup had sterile endometrial seeding which was 16.9 times higher than in subgroup II (p<0.0001). Immunological analysis determined the presence of AEAT in all patients of the subgroup I, 43 of which (67.2%) were above 265 U/ml, while 51 (91.1%) of subgroup II had no AEAT (p<0.001). Immunohistochemical analysis of the endometrium on the 18th–24th day of the cycle established high expression of CD<sub>16</sub>, CD<sub>20</sub>, CD<sub>56</sub>, and HLA-DR<sub>11</sub> in 58 (90.6%) patients of the subgroup I, whereas in 54 patients (96.4%) of II subgroup high expression of CD<sub>16</sub> and CD<sub>20</sub> with low amount of CD<sub>56</sub>- and HLA-DR<sub>11</sub>-positive cells was registered (p<0.001). We determined prognostically significant clinical and anamnestic risk factors predisposing to the development of infertility in patients with CE (p<0,05). We revealed certain echographic, dopplerometric, and hysteroscopic criteria of CE demonstrating the critical disruption of endometrial receptivity in infertile women. **Conclusion:** Most patients (90.6%) with infertility had autoimmune component of CE characterized by prolonged (more than 5 years) course, high serum level of AEAT, sterile endometrial crops, and high expression of inflammation markers CD<sub>16</sub>, CD<sub>20</sub>, CD<sub>56</sub> and HLA-DR<sub>11</sub>.

**Key words:** chronic endometritis, infertility, IVF failure, antiendometrial antibodies, autoimmune endometritis, CD<sub>16</sub>, CD<sub>20</sub>, CD<sub>56</sub> and HLA-DR<sub>11</sub>. (For citation: Ishenko AI, Unanyan AL, Kogan EA, Demura TA, Kossovich JM. Clinical and Anamnestic, Immunological, Echographic and Hysteroscopic Features of Chronic Endometritis Associated with Impaired Reproductive Function. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2018;73(1):5–15. doi: 10.15690/vramn927)

МГМУ имени И.М. Сеченова для выполнения морфологического и иммуногистохимического исследований.

### Исходы исследования

#### Основные конечные точки

Основными исходами проведенного исследования были гистологическая верификация ХЭ; средняя продолжительность ХЭ; стерильные посевы эндометрия; сывороточный уровень антиэндометриальных антител (АЭАТ); экспрессия маркеров местного иммунитета CD<sub>16</sub>, CD<sub>20</sub>, CD<sub>56</sub> и HLA-DR<sub>II</sub> в эндометрии.

При верификации ХЭ оценивали такие гистологические его критерии, как характер (очаговый/диффузный) лимфоплазмочитарной инфильтрации, склероз стромы и фиброз стенок спиральных артерий.

Среднюю продолжительность заболевания оценивали с момента морфологической верификации ХЭ с учетом результатов имевшегося на руках у пациенток ранее выполненного гистологического исследования эндометрия, установившего его наличие.

Стерильные посевы эндометрия выявляли при инфекционном скрининге путем количественной и видовой оценки состава микрофлоры полости матки.

Для выявления аутоиммунного компонента ХЭ измеряли уровень циркулирующих в периферической крови женщин органоспецифических АЭАТ [9], а также производили подсчет в эндометрии количества лимфоцитов, экспрессирующих маркеры естественных клеток-киллеров CD<sub>16</sub> и CD<sub>56</sub>, зрелых В-лимфоцитов CD<sub>20</sub> и маркер активации HLA-DR<sub>II</sub>.

#### Дополнительные конечные точки

Дополнительные исходы исследования: факторы риска развития бесплодия при ХЭ; эхографические критерии ХЭ; неравномерность маточной перфузии и доплерометрические показатели кровотока при ХЭ; гистероскопические критерии ХЭ.

Для определения прогностически значимых факторов риска развития бесплодия при ХЭ оценивали данные анамнеза и клинической картины заболевания, обращая особое внимание на жалобы, количество перенесенных внутриматочных вмешательств, характер менструальной (возраст начала менархе, регулярность и продолжительность менструального цикла) и репродуктивной (количество самопроизвольных выкидышей, искусственных аборт и преждевременных родов, послеродовой и постабортный острый эндометрит) функций, особенности половой жизни (возраст начала половой жизни и количество половых партнеров), продолжительность использования внутриматочной контрацепции, наличие репродуктивно значимых инфекций и сопутствующей гинекологической патологии.

При ультразвуковом исследовании органов малого таза регистрировали эхографические критерии ХЭ: несоответствие эхоструктуры эндометрия фазе цикла, расширение полости матки воспалительным экссудатом и/или пузырьками газа, истончение эндометрия <8 мм, неоднородная структура эндометрия, волнистость центрального М-эхо, участки повышенной эхогенности в зоне срединного М-эхо, гиперэхогенные включения в базальном слое эндометрия, разрывы в линейной структуре эндометрия, варикозное расширение вен миометрия (>3 мм) и параметрия (>5 мм) [10].

При выполнении цветового доплеровского картирования (ЦДК) сосудов матки изучали равномерность маточной перфузии на основании сопоставления частот визуализации всех мелких ветвей маточных артерий друг

с другом. Допплерометрический анализ кровотока проводили с оценкой скоростных показателей и углозависимых индексов в основном стволе и мелких ветвях маточных артерий в I и II фазы цикла [11].

При выполнении гистероскопии фиксировали следующие критерии ХЭ: неравномерную толщину и окраску эндометрия, его бледность или гиперемию, истончение или очаговую гиперплазию, наличие точечных кровоизлияний, полиповидных разрастаний и внутриматочных синехий [8].

#### Анализ в подгруппах

С учетом возможности реализации репродуктивной функции 120 пациенток основной группы с морфологически верифицированным ХЭ условно были разделены на 2 подгруппы:

- I подгруппа — с нарушением репродуктивной функции в виде бесплодия и неудач в программах ВРТ;
- II подгруппа — с сохраненной фертильностью.

Подгруппы формировались ретроспективно с учетом факта самостоятельного наступления беременности в течение 1 года с момента окончания комплексной терапии ХЭ.

Для анализа структурных особенностей эндометрия у пациенток с ХЭ дополнительно была сформирована контрольная группа, в которую вошли 30 женщин репродуктивного возраста с морфологически подтвержденным отсутствием патологических процессов эндометрия. Пайпель-биопсия эндометрия у пациенток группы контроля проводилась на 18–24-й день цикла при подозрении, по данным проведенного ранее УЗИ, на гиперпластические процессы в полости матки.

#### Методы регистрации исходов

Все жалобы и данные анамнеза регистрировались в разработанной нами Индивидуальной карте обследования пациенток.

Инфекционный статус оценивали путем бактериоскопического и бактериологического исследований и диагностики методом полимеразной цепной реакции возбудителей инфекций, передающихся половым путем, в отделяемом влагалища, цервикального канала и эндометрия.

Определение сывороточного уровня АЭАТ производили методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием в качестве диагностикума микросомальной фракции стромальных клеток эндометрия. Количество АЭАТ оценивали относительно верхнего и нижнего пороговых значений, равных 265 и 210 Ед/мл соответственно [12].

Ультразвуковое исследование органов малого таза с ЦДК выполняли трансвагинальным датчиком с частотой 6,5–7 МГц на аппаратах Siemens (Германия), Acuson 128 XP 10 (США) и Dornier AI 5200 (Германия) в I (на 5–7-й день) и II (на 18–24-й день) фазы цикла.

Гистероскопию с биопсией эндометрия осуществляли на 18–24-й день цикла посредством офисного гистероскопа TROPHY score по CAMPO и биопсийных щипцов фирмы Karl Storz (Германия).

Из доставленных в лабораторию биоптатов эндометрия готовили серийные парафиновые срезы, которые фиксировали на полилизинных стеклах (Mainzel Glaser, Polylysine, Германия). Для морфологической оценки окрашенные гематоксилином и эозином препараты изучали посредством световой микроскопии при 200-кратном увеличении.



Для постановки иммуногистохимических реакций срезы депарафинировали и обрабатывали по стандартному методу иммуногистохимии с термической демаскировкой антигенов. В качестве первичных специфических антител использовали моноклональные антитела к CD<sub>16</sub> и CD<sub>56</sub> (клоны 2H7 и 1B6 фирмы Novocastra, Великобритания), CD<sub>20</sub> (клон L26 фирмы DAKO, Дания) и HLA-DR<sub>II</sub> (клон LN-3 фирмы Novocastra, Великобритания), выявляемые в виде коричневого окрашивания структур клеток и экстрацеллюлярного матрикса посредством световой микроскопии при 400-кратном увеличении. Оценка результатов проводилась полуколичественным методом путем подсчета положительно окрашенных клеток в 5 полях зрения: высокая экспрессия CD<sub>56</sub> в эндометрии (более 10 клеток в поле зрения) указывала на аутоиммунный процесс, причем в сочетании с низким количеством CD<sub>16</sub>- и HLA-DR<sub>II</sub>-позитивных клеток — в стадии ремиссии, а на фоне их высокой экспрессии — в стадии обострения [4, 13].

**Этическая экспертиза**

Протокол исследования одобрен Межвузовским комитетом по этике при Ассоциации медфармвузов России (выписка из протокола № 11-11 от 15.12.2011).

8

**Статистический анализ**

**Принципы расчета размера выборки**

Размер выборки предварительно не рассчитывался.

**Методы статистического анализа данных**

Обработка полученных данных выполнена с использованием пакета прикладных программ Statistica for Windows v. 7.0 компании StatSoft Inc. (США, 2006) с применением параметрических методов статистики путем расчета *t*-критерия достоверности Стьюдента для средних и относительных величин [14]. Наличие корреляционных взаимосвязей между признаками устанавливали методом квадратов и ранговым методом с расчетом коэффициента корреляции Пирсона *r* [15].

Выявление прогностически значимых показателей производили посредством ROC-анализа (Receiver Operating Characteristic), при котором по вычисленному значению площади под кривой AUC (Area Under Curve) оценивали качество проверяемой модели: отличное — AUC=0,9–1,0; очень хорошее — AUC=0,8–0,9; хорошее — AUC=0,7–0,8; среднее — AUC=0,6–0,7 и не-

удовлетворительное — AUC<0,6. Для проверки моделей рассчитывали их чувствительность (Sensitivity, *Se*), специфичность (Specificity, *Sp*) и точность.

**Результаты**

**Объекты (участники) исследования**

Объектом исследования стали 150 пациенток детородного возраста с морфологически верифицированным ХЭ (основная группа, *n*=120) и без него (контрольная группа, *n*=30). У 64 пациенток основной группы имелось нарушение репродуктивной функции в виде бесплодия и неудачных попыток ЭКО (I подгруппа), тогда как у остальных 56 женщин основной группы фертильность была сохранена (II подгруппа).

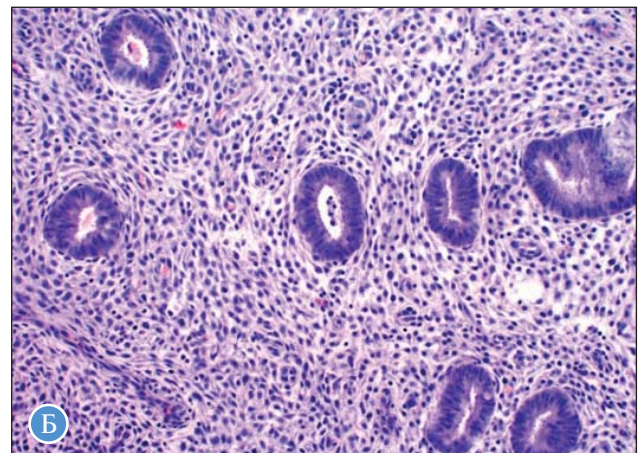
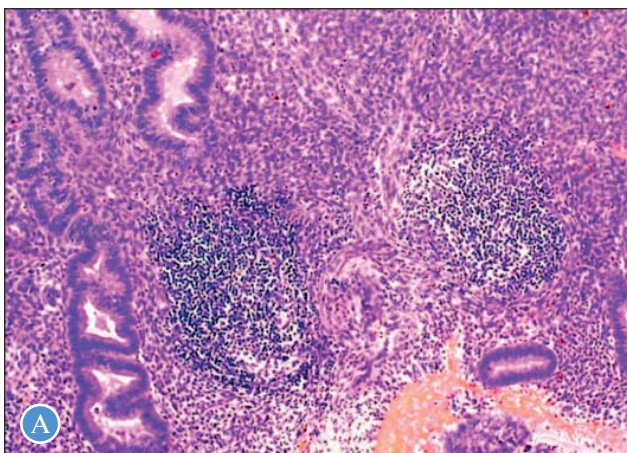
Все пациентки основной группы были обследованы по единой схеме, включавшей в себя инфекционный скрининг урогенитального тракта, иммунологический анализ крови, ультразвуковое исследование органов малого таза с ЦДК, офисную гистероскопию, а также иммуногистохимическое исследование пайпель-биоптатов эндометрия. Образцы эндометрия от пациенток группы контроля были подвергнуты морфологическому и иммуногистохимическому исследованиям.

Математические расчеты и сравнительный анализ были проведены только внутри основной группы между I и II ее подгруппами.

Пациентки обеих подгрупп были сопоставимы по возрасту и соматическому статусу. Средний возраст женщин соответствовал среднему репродуктивному периоду: 31,9±0,71 года — в I подгруппе, 30,2±0,88 года — во II (*p*>0,05).

**Основные результаты исследования**

Морфологическая верификация ХЭ была произведена путем гистологического исследования пайпель-биоптатов эндометрия, полученных на 7–10-й день цикла, или при повторном пересмотре имевшихся на руках у пациенток архивных стекол. Гистологическая картина соответствовала полному симптомокомплексу ХЭ: наличие в базальном и функциональном слоях эндометрия преимущественно вокруг желез и спиральных артерий мононуклеарных воспалительных инфильтратов, состоявших из лимфоцитов, макрофагов и плазмочитов и окруженных фибробластами. В отличие от II подгруппы у пациенток



**Рис. 1.** Отличительные морфологические признаки хронического эндометрита у пациенток I подгруппы: диффузная лимфогиистоплазмочитарная инфильтрация с формированием лимфоидных фолликулов вокруг желез и сосудов эндометрия (А); очаговый фиброз стромы эндометрия с уплотнением стенок спиральных артерий и развитием периваскулярного фиброза (Б); окраска гематоксилином и эозином

Примечание. А —×100; Б — ×200.

Таблица 1. Длительность течения заболевания у пациенток с хроническим эндометритом

Длительность заболевания	Подгруппа I (n=64)		Подгруппа II (n=56)	
	абс.	%	абс.	%
До 3 лет	4	6,3*	46	82,1
От 3 до 5 лет	7	10,9	8	14,3
Более 5 лет	53	82,8*	2	3,6*
Средняя продолжительность ХЭ, лет	5,5±0,06*		2,4±0,07*	

Примечание. \* — разница показателей между подгруппами I и II статистически достоверно значима. ХЭ — хронический эндометрит.

I подгруппы выявлялась не очаговая, а диффузная лимфоплазмоцитарная инфильтрация эндометрия в сочетании с очаговым склерозом его стромы и периваскулярным фиброзом спиральных артерий с утолщением их стенок (рис. 1).

Средняя продолжительность ХЭ достоверно преобладала у пациенток I подгруппы, составив 5,5±0,06 года, тогда как во II подгруппе — 2,4±0,07 года ( $p < 0,001$ ) (табл. 1).

Нами установлена прямая умеренная корреляционная зависимость между длительностью течения ХЭ и частотой развития бесплодия на его фоне ( $r=0,53$  при  $p < 0,001$ ) (рис. 2).

При проведении ROC-анализа относительно прогностической значимости длительности течения ХЭ для развития бесплодия рассчитана математическая модель «очень хорошего» качества ( $AUC=0,819 \pm 0,034$ ) с точкой «cut-off», равной 5 годам ( $Se$  84,4%,  $Sp$  91,1%, точность 87,5%) (рис. 3).

По результатам микроскопии окрашенных по Граму мазков не выявлено значимых различий в составе биоценоза влагалища ( $p > 0,05$ ). При изучении состава микрофлоры отделяемого из цервикального канала установлено достоверное преобладание условно-патогенных микроорганизмов в I подгруппе относительно II подгруппы — 36/64 (56,3%) и 21/56 (37,5%) случаев соответственно [ $p=0,0386$ ; относительный риск (ОР) = 1,50; 95% доверительный интервал (ДИ) 1,01–2,20], преимущественно в форме бактериально-вирусных ассоциаций с достоверной разницей между подгруппами ( $p=0,023$ ; ОР=1,31; 95% ДИ 1,03–1,68). Специфические возбудители встречались в цервикальном канале у 23/64 (35,9%) пациенток I подгруппы и 28/56 (50,0%) женщин II подгруппы, причем чаще других (14,3–25,0% случаев) диагностировали *Chlamydia trachomatis* и *Candida albicans* без статистических различий между подгруппами ( $p > 0,05$ ).

Изучение состава микрофлоры полости матки при ХЭ выявило достоверное 17-кратное преобладание частоты стерильных посевов эндометрия в подгруппе с бесплодием по сравнению с фертильными женщинами, отмеченное в 58/64 (90,6%) и 3/56 (5,4%) случаях соответственно ( $p < 0,0001$ ; ОР=16,92; 95% ДИ 5,61–51,01). В остальных образцах эндометрия регистрировались представители условно-патогенной флоры — *Enterococcus*, *Escherichia coli*, *Corynebacterium* и *Ureaplasma urealyticum* и специфические возбудители *Herpes simplex virus II*, *C. trachomatis*, *C. albicans* и *Cytomegalovirus*, преобладавшие во II подгруппе в 8 и 12 раз соответственно ( $p < 0,001$ ).

АЭАТ определялись при ХЭ у всех пациенток с бесплодием, тогда как у 51/56 (91,1%) фертильной женщины они полностью отсутствовали ( $p < 0,001$ ). У 43/64 (67,2%) пациенток I подгруппы уровень АЭАТ превышал 265 Ед/мл, что свидетельствовало о наличии у них аутоиммунного компонента ХЭ, тогда как у 17/64 (26,6%) женщин ко-

личество АЭАТ находилось в интервале от 210 до 265 Ед/мл и указывало на высокую вероятность аутоиммунного синдрома (табл. 2).

Установлена сильная прямая корреляционная зависимость между длительностью течения ХЭ и сывороточным уровнем АЭАТ при бесплодии ( $r=0,7304$  при  $p < 0,0001$ ) (рис. 4).

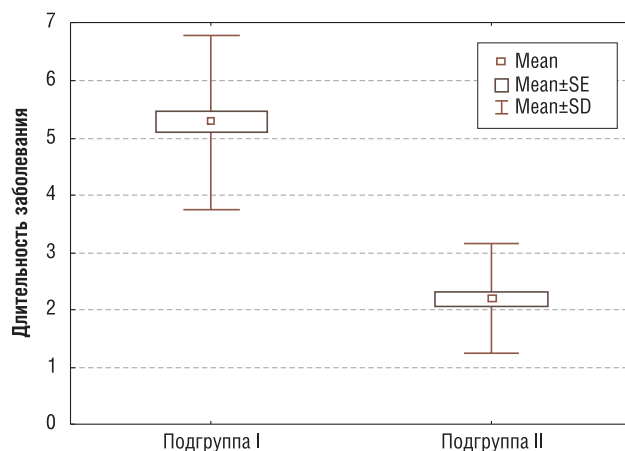


Рис. 2. Корреляционная зависимость между длительностью течения хронического эндометрита и частотой развития бесплодия у пациенток исследуемых подгрупп ( $r=0,53$ ;  $p < 0,001$ )

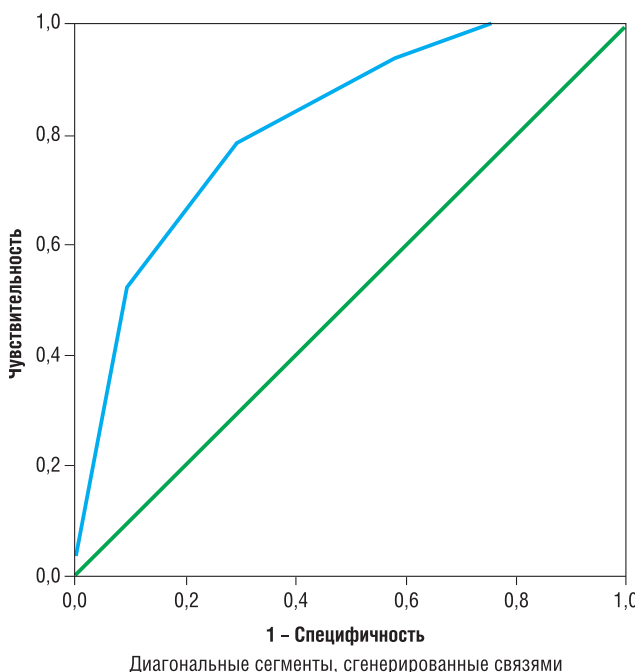


Рис. 3. ROC-кривая для математической модели «длительность течения хронического эндометрита — развитие бесплодия на фоне хронического эндометрита» ( $AUC=0,819 \pm 0,034$ )

Таблица 2. Количественное распределение антиэндометриальных антител в крови у пациенток с хроническим эндометритом

Уровень АЭАТ в сыворотке крови	Подгруппа I (n=64)		Подгруппа II (n=56)		p	ОР	95% ДИ
	абс.	%	абс.	%			
Отсутствие АЭАТ	0	0*	51	91,1*	0,0001	0,02	0,01–0,12
<210 Ед/мл	4	6,2	3	5,3	0,8346	1,17	0,27–4,99
210–265 Ед/мл	17	26,6*	2	3,6*	0,0002	7,44	1,80–30,79
>265 Ед/мл	43	67,2*	0	0*	0,0001	37,63	5,35–264,44

Примечание. \* — разница показателей между подгруппами I и II статистически достоверно значима. АЭАТ — антиэндометриальные антитела.

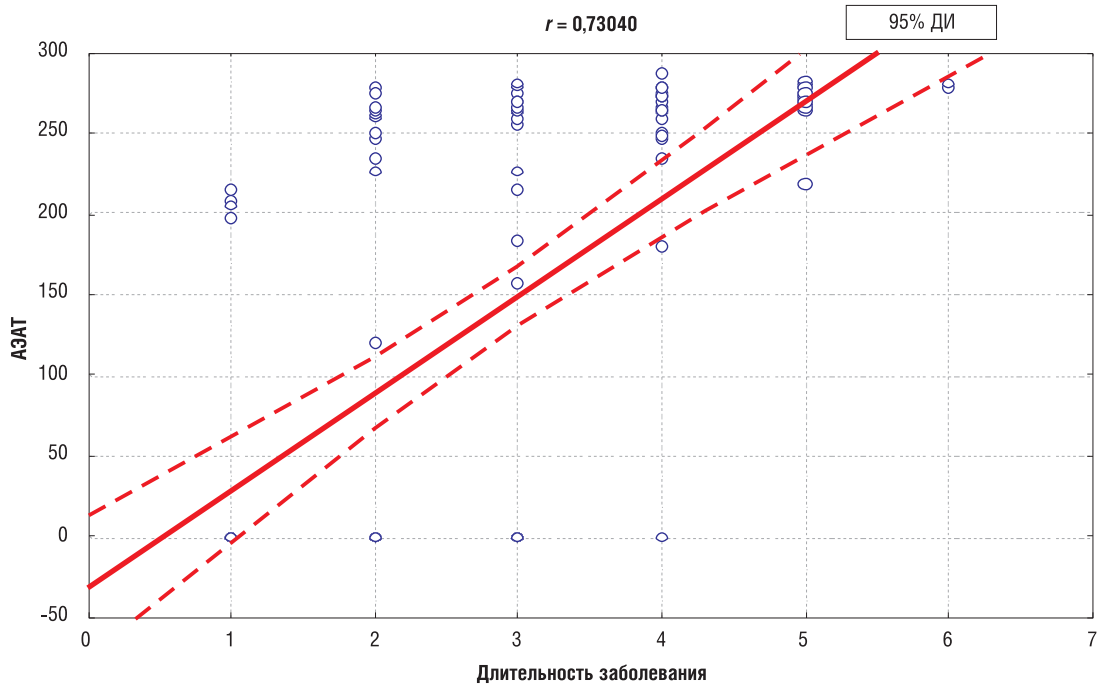


Рис. 4. Корреляционная взаимосвязь между сывороточным уровнем антиэндометриальных антител и длительностью течения хронического эндометрита у пациенток с бесплодием

Примечание. АЭАТ — антиэндометриальные антитела.

При проведении ROC-анализа относительно прогностической значимости сывороточного уровня АЭАТ для развития ассоциированного с ХЭ бесплодия получена математическая модель «отличного» качества (AUC=0,978±0,010) с точкой «cut-off» в 265 Ед/мл (Se 95,3%, Sp 96,4%, точность 95,8%) (рис. 5).

По результатам иммуногистохимического исследования эндометрия на 18–24-й день цикла выявлено достоверное превалирование высокой экспрессии CD<sub>16</sub>, CD<sub>20</sub>, CD<sub>56</sub> и HLA-DR<sub>II</sub> в I подгруппе относительно II подгруппы — в 58/64 (90,6%) и 2/56 (3,6%) случаях соответственно, что свидетельствовало о наличии у женщин I подгруппы активного ХЭ с аутоиммунным компонентом в стадии обострения (p<0,001; ОР=25,38; 95% ДИ 6,49–99,19) (табл. 3; рис. 6). При этом у 43/64 (67,2%) женщин I подгруппы с высокой экспрессией в эндометрии маркеров воспаления сывороточный уровень АЭАТ превышал 265 Ед/мл, тогда как у 15/64 (23,4%) пациенток I подгруппы и у обеих женщин II подгруппы титр АЭАТ находился в пределах 210–265 Ед/мл. С другой стороны, у 6/64 (9,4%) пациенток I подгруппы и 54/56 (96,4%) женщин II подгруппы была зарегистрирована высокая экспрессия в эндометрии CD<sub>16</sub> и CD<sub>20</sub> на фоне малого количества CD<sub>56</sub>- и HLA-DR<sub>II</sub>-позитивных клеток, что подтверждало ремиссию выявленного ранее ХЭ без аутоиммунного компонента (p<0,001; ОР=0,10; 95% ДИ

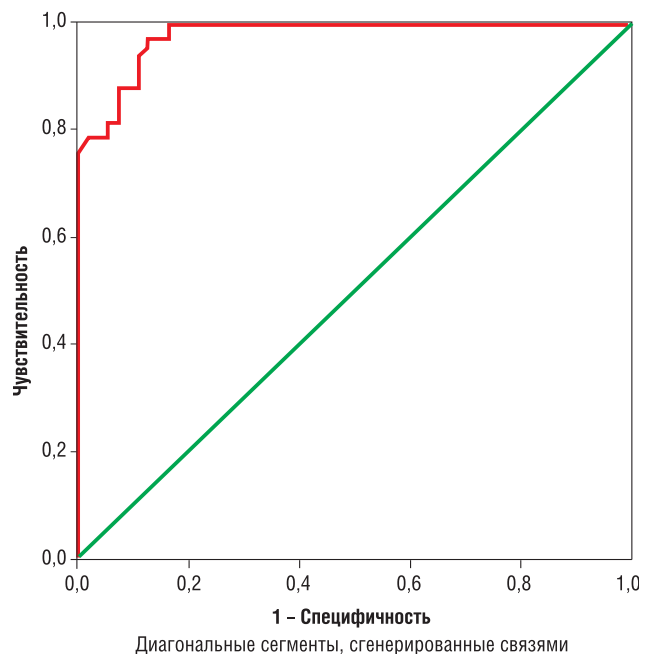


Рис. 5. ROC-кривая для математической модели «сывороточный уровень антиэндометриальных антител — развитие бесплодия на фоне хронического эндометрита» (AUC=0,978±0,010)



Таблица 3. Экспрессия CD<sub>16</sub>, CD<sub>20</sub>, CD<sub>56</sub> и HLA-DR<sub>II</sub> в эндометрии у пациенток групп исследования

Распределение CD <sub>16</sub> , CD <sub>20</sub> , CD <sub>56</sub> и HLA-DR <sub>II</sub> в эндометрии (количество клеток в п/зр.)	Подгруппа I (n=64)		Подгруппа II (n=56)		Контроль (n=30)		p	ОР	95% ДИ
	абс.	%	абс.	%	абс.	%			
CD <sub>16</sub> , CD <sub>20</sub> , CD <sub>56</sub> и HLA-DR <sub>II</sub> >10	58	90,6*	2	3,6*	0	0	0,0000	25,38	6,49–99,19
CD <sub>16</sub> , CD <sub>20</sub> >10, CD <sub>56</sub> и HLA-DR <sub>II</sub> <10	6	9,4*	54	96,4*	0	0	0,0000	0,10	0,05–0,21
CD <sub>16</sub> , CD <sub>20</sub> , CD <sub>56</sub> и HLA-DR <sub>II</sub> <10	0	0*	0	0*	30	100*	0,0000	0,02	0,00–0,11

Примечание. \* — разница показателей между группами статистически достоверно значима.

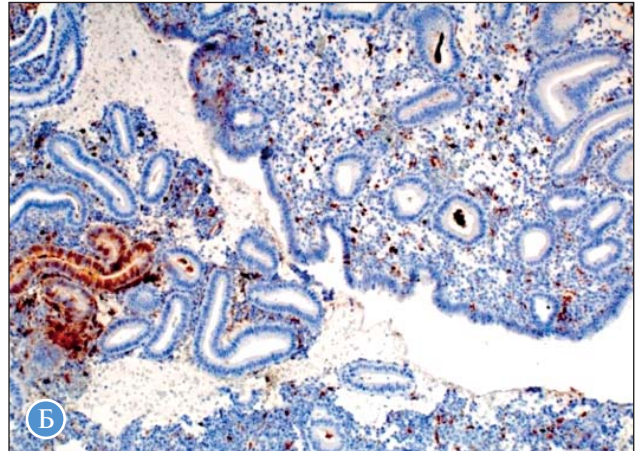
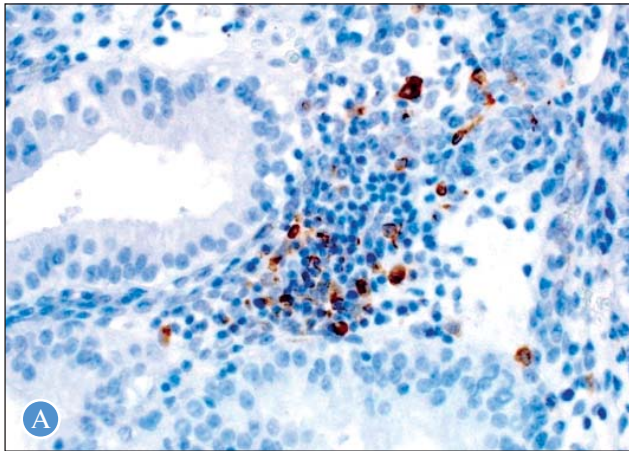


Рис. 6. Высокая экспрессия CD<sub>16</sub> (А) и HLA-DR<sub>II</sub> (Б) в эндометрии при хроническом эндометрите в I подгруппе; иммунопероксидазная реакция

Примечание. А — ×400; Б — ×100.

0,05–0,21). АЭАТ у 51/56 (91,1%) женщины II подгруппы отсутствовали, а у остальных пациенток обеих подгрупп выявлялись в количестве менее 210 Ед/мл. Отрицательная экспрессия маркеров воспаления в контрольных образцах эндометрия подтверждала отсутствие ХЭ (рис. 7).

**Дополнительные результаты исследования**

Анализ жалоб при ХЭ выявил превалирование симптомов менструальной дисфункции у 3/4 женщин основной группы без достоверной разницы между ее подгруппами, причем в 1/3 случаев — в форме перименструальных кровянистых выделений (табл. 4). Значимые различия между подгруппами касались только частоты выявления дисменореи и бессимптомного течения ХЭ, отмеченные у 42/64 (65,6%) и 20/64 (31,3%) пациенток I подгруппы и 17/56

(30,4%) и 9/56 (16,1%) женщин II подгруппы соответственно (p<0,001; ОР=2,16; 95% ДИ 1,40–3,34 и p=0,0479; ОР=1,94; 95% ДИ 1,02–3,92).

Анализ перенесенных оперативных вмешательств при ХЭ показал достоверное преобладание среднего количества операций на одну пациентку с бесплодием относительно фертильных женщин — 2,6±0,7 и 0,68±0,14 вмешательств соответственно (p<0,001; ОР=2,43; 95% ДИ 1,78–3,33). Внутриматочные манипуляции, выполненные при подозрении на гиперпластические процессы эндометрия, были зарегистрированы в 1/3 случаев без значимой разницы между подгруппами (p>0,05). Однако многократно произведенные выскабливания полости матки достоверно превалировали в I подгруппе, где они были отмечены двукратно в 14/73 (38,4%) и трехкратно —

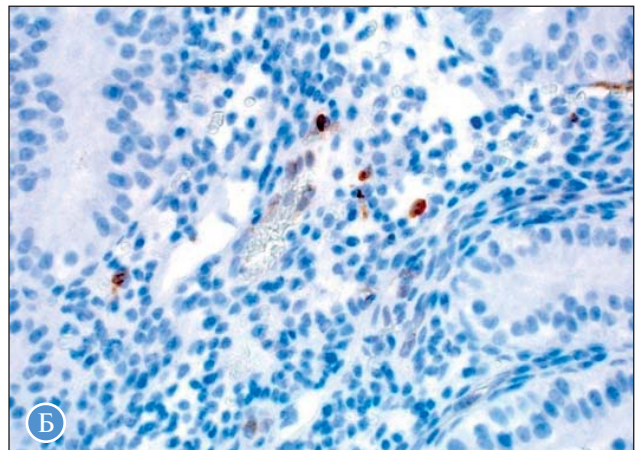
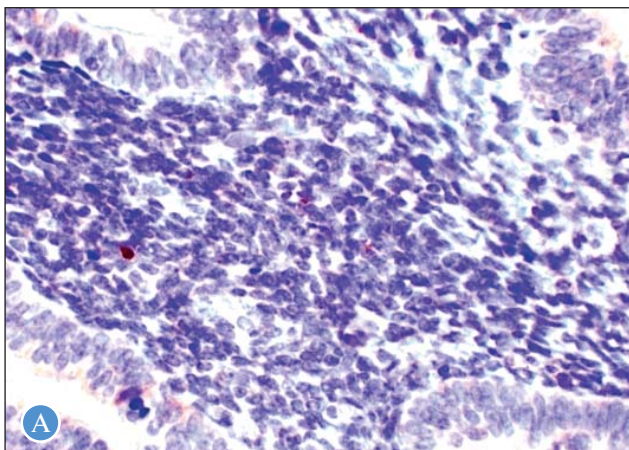


Рис. 7. Крайне низкая экспрессия CD<sub>16</sub> (А) и CD<sub>20</sub> (Б) в эндометрии в группе контроля; иммунопероксидазная реакция

Примечание. А, Б — ×400.

Таблица 4. Клиническая картина у пациенток с хроническим эндометритом

Жалобы пациенток	Подгруппа I (n=64)		Подгруппа II (n=56)		p	ОР	95% ДИ
	абс.	%	абс.	%			
Нарушения менструальной функции:	45	70,3	43	76,8	0,4217	0,92	0,74–1,13
• нерегулярный цикл	15	23,4	12	21,4	0,7926	1,09	0,56–2,14
• перименструальные кровянистые выделения	21	32,8	20	35,7	0,7389	0,92	0,56–1,51
• обильные менструации	9	14,1	11	19,4	0,4176	0,72	0,32–1,60
• болезненные менструации	42	65,6*	17	30,4*	0,0001	2,16	1,40–3,34
Боли внизу живота	17	26,6	10	17,9	0,2499	1,49	0,74–2,98
Патологические выделения из половых путей	16	25,0	18	32,1	0,3890	0,78	0,44–1,38
Болезненный половой акт	13	20,3	10	17,9	0,7328	1,14	0,54–2,39
Отсутствие жалоб	21	32,8*	9	16,1*	0,0479	1,94	1,02–3,92

Примечание. \* — разница показателей между подгруппами I и II статистически достоверно значима.

в 5/73 (20,5%) случаях, тогда как у 12/14 (85,7%) женщин II подгруппы зафиксировано их однократное выполнение ( $p < 0,001$ ).

Оценка менструальной функции при ХЭ показала достоверные различия между подгруппами только относительно частоты выявления дисменореи и скудных менструальных выделений, зафиксированных в 47/64 (73,4%) и 17/64 (26,6%) случаях в I подгруппе и 19/56 (33,9%) и 2/56 (3,6%) случаях во II подгруппе соответственно ( $p < 0,05$ ; ОР=1,93; 95% ДИ 1,29–2,90 и  $p < 0,001$ ; ОР=7,44; 95% ДИ 1,80–30,79).

Анализ репродуктивной функции при ХЭ установил значимое преобладание среднего количества беременностей на одну женщину во II подгруппе по сравнению с I —  $5,9 \pm 0,26$  и  $4,5 \pm 0,15$  беременностей соответственно ( $p < 0,001$ ). Достоверные различия коснулись и исходов наступивших в анамнезе беременностей: в I подгруппе родами завершилось 87/291 (29,9%) беременностей, самопроизвольно прервались 84/291 (28,9%), а искусственному прерыванию были подвергнуты 111/291 (38,1%) из них, тогда как во II подгруппе аналогичные показатели составили 263/331 (79,5%), 23/331 (6,9%) и 39/331 (11,8%) соответственно ( $p < 0,001$ ). Искусственные аборты и самопроизвольные выкидыши преобладали в I подгруппе — у 62/64 (96,9%) и 47/64 (73,4%) пациенток соответственно, преимущественно в форме двух- и трехкратных прерываний беременности, тогда как во II подгруппе они встречались в 1,9 раз реже (у 78,9% женщин) с преобладанием однократного их выполнения ( $p < 0,001$ ). Преждевременные роды встречались в 3 раза чаще в I подгруппе — 27/87 (31,0%) случаев относительно 29/263 (12,5%) во II подгруппе ( $p < 0,01$ ). Острый эндометрит после аборта, выкидыша или родов развивался достоверно чаще в I подгруппе — в 103/111 (92,8%), 52/84 (61,9%) и 29/87 (33,3%) случаях, тогда как во II подгруппе он встречался в среднем в 2,5 раза реже — в 15/39 (38,5%), 10/23 (37,0%) и 27/263 (10,3%) случаях соответственно ( $p < 0,01$ ). Неудачные попытки ЭКО регистрировались в I подгруппе в количестве  $1,6 \pm 0,09$  циклов на пациентку.

Оценка сексуальной функции установила достоверное преобладание раннего (до 18 лет) начала половой жизни и полигамных половых отношений со сменой более 5 партнеров в I подгруппе — в 39/64 (60,9%) и 45/64 (70,3%) случаях соответственно, тогда как у 33/56

(58,9%) женщин II подгруппы зарегистрировано своевременное начало половой жизни ( $p < 0,05$ ; ОР=1,48; 95% ДИ 1,02–2,15), а полигамные отношения имели место в 24/56 (42,9%) случаях ( $p < 0,01$ ; ОР=1,64; 95% ДИ 1,17–2,31).

Анализ средств контрацепции выявил использование внутриматочной спирали у 22/64 (34,4%) пациенток с бесплодием, причем у 19/22 (86,4%) из них — в течение более 5 лет, против 5/56 (8,9%) фертильных женщин, из которых у 4 — на протяжении менее 5 лет ( $p < 0,01$ ).

Репродуктивно значимые инфекции встречались в анамнезе у 1/2 пациенток с ХЭ с достоверным преобладанием их сочетанных форм при бесплодии — 25/34 (73,5%) относительно 10/23 (43,5%) женщин с сохраненной фертильностью ( $p < 0,05$ ). В структуре инфекций, передающихся половым путем, в 1/6–1/3 случаях преобладали хламидиоз, кандидоз, уреоплазмоз и генитальный герпес без достоверной разницы между подгруппами ( $p > 0,05$ ).

Отягощенный гинекологический анамнез выявлен у каждой второй пациентки с ХЭ с двукратным преобладанием сочетанных форм в I подгруппе — 26/64 (40,6%) относительно 11/56 (19,6%) случаев во II подгруппе ( $p < 0,05$ ). В структуре гинекологических заболеваний преобладали воспалительные заболевания органов малого таза (ВЗОМТ), отмеченные у 37/64 (57,8%) пациенток I подгруппы и 15/56 (26,8%) женщин II подгруппы ( $p < 0,05$ ). Среди ВЗОМТ в I подгруппе достоверно преобладали острый эндометрит и хронический сальпингоофорит, отмеченные в 20/64 (31,3%) и 17/64 (26,6%) случаях, тогда как во II подгруппе они регистрировались в 5/56 (8,9%) и 7/56 (12,5%) случаев соответственно ( $p < 0,01$ ).

Таким образом, наиболее прогностически значимыми клинико-анамнестическими факторами, предрасполагающими к развитию бесплодия при ХЭ, являются дисменорея; самопроизвольные выкидыши и многократные искусственные аборты; преждевременные роды; после родовые и постабортные воспалительные осложнения; раннее начало половой жизни, полигамный характер половых отношений; длительное (более 5 лет) использование внутриматочной спирали; многократные внутриматочные вмешательства; сочетание нескольких инфекций, передающихся половым путем; воспалительные заболевания органов малого таза в форме сальпингоофорита и острого эндометрита.



Корреляционный анализ Пирсона выявил умеренную прямую зависимость между сывороточным уровнем АЭАТ и всеми вышеперечисленными факторами риска развития бесплодия на фоне ХЭ ( $r=0,395-0,632$  при  $p<0,01$ ).

Эхографические признаки ХЭ визуализировались статистически чаще при бесплодии — в 58/64 (90,6%) случаях относительно 36/56 (64,3%) при сохраненной фертильности ( $p=0,005$ ; ОР=1,41; 95% ДИ 1,13–3,48). В I подгруппе в I фазе цикла достоверно преобладали волнистость центрального М-эхо, истончение эндометрия и его неоднородная структура, гиперэхогенные включения в базальном слое эндометрия, участки повышенной эхогенности в зоне срединного М-эхо и разрывы в линейной его структуре, тогда как во II фазе к этим признакам присоединялись еще несоответствие эхоструктуры эндометрия дню цикла с истончением М-эхо менее 8 мм. Описанные критерии ХЭ регистрировались у 3/5–4/5 пациенток I подгруппы, тогда как во II подгруппе — реже чем в 1/3 случаев, а разрывы в структуре эндометрия не выявлены ни в одном случае ( $p<0,05$ ).

Методом ЦДК сосудов матки установлено снижение кровотока в магистральных ветвях маточных артерий при ХЭ во II фазу цикла относительно нормативных значений [1, 16]. Нарушение равномерности маточной перфузии с выраженным снижением кровотока в базальных и спиральных артериях эндометрия зарегистрировано у 53/64 (82,8%) пациенток I подгруппы, что достоверно чаще, чем у женщин II подгруппы — у 8/56 (14,3%) ( $p<0,001$ ; ОР=5,80; 95% ДИ 3,02–11,12) (табл. 5). Скоростные показатели кровотока и уголнезависимые индексы в маточных сосудах достоверно отличались от нормативных значений лишь у пациенток I подгруппы во II фазе цикла, где установлено трехкратное снижение среднего значения  $V_{min}$  в правой (до  $0,04\pm 0,01$  м/с) и левой (до  $0,05\pm 0,03$  м/с) маточной артериях ( $p<0,05$ ) на фоне одновременного повышения индексов кривых скоростей кровотока PI (Pulsation index), RI (Resistance index), S/D (Systolic/Diastolic ratio) в 1,3 раза на уровне радиальных (до  $1,68\pm 0,06$ ,  $0,49\pm 0,02$  и  $2,65\pm 0,05$  соответственно), базальных ( $0,79\pm 0,04$ ,  $0,47\pm 0,03$  и  $2,05\pm 0,06$ ) и спиральных (до  $0,46\pm 0,05$ ,  $0,51\pm 0,03$  и  $1,67\pm 0,12$ ) артерий ( $p<0,01$ ).

Гистероскопические критерии ХЭ достоверно преобладали в 2,5 раза в I подгруппе относительно II подгруппы — у 49/64 (76,6%) и 17/56 (30,4%) пациенток соответственно ( $p=0,0000$ ; ОР=2,52; 95% ДИ 1,66–3,84). При бесплодии в 3,5 раза чаще — в 1/5–1/2 случаев — встречались неравномерная толщина и окраска эндометрия, его бледность, истончение, полиповидные разрастания

и точечные кровоизлияния в эндометрий ( $p<0,02$ ). Гистологическая структура полипа не подтверждена ни в одном случае микрополипоза эндометрия. Внутриматочные синехии как исход длительно текущего ХЭ визуализировались только у 10/64 (15,6%) пациенток I подгруппы ( $p=0,0557$ ; ОР=8,75; 95% ДИ 1,16–66,23).

**Нежелательные явления**

Во ходе проведения исследования нежелательные явления отсутствовали.

**Обсуждение**

**Резюме основного результата исследования**

Хронический эндометрит с длительностью течения более 5 лет ассоциирован с развитием бесплодия и неэффективными программами ЭКО у женщин детородного возраста. В основе репродуктивной дисфункции на фоне ХЭ лежит присоединение к первоначально воспалительному генезу заболевания аутоиммунного компонента, что в 90,6% случаев проявляется стерильными посевами эндометрия на фоне высокой экспрессии в нем маркеров воспаления  $CD_{16}$ ,  $CD_{20}$ ,  $CD_{56}$  и HLA-DR<sub>II</sub> и высокого сывороточного титра АЭАТ.

**Обсуждение основного результата исследования**

Длительность течения ХЭ является основным фактором, определяющим глубину и распространенность повреждения структур эндометрия. Сохранение имплантационной способности эндометрия на начальных этапах течения ХЭ обусловлено функционированием компенсаторного механизма, определяемого соотношением патогенных свойств персистирующего в полости матки инфекционного агента и состоянием иммунной системы женщины. Постепенное истощение описанного механизма и присоединение аутоиммунного процесса приводит к критичному нарушению рецептивности эндометрия с последующим развитием репродуктивной дисфункции. Нами установлена прогностическая значимость пятилетней продолжительности течения ХЭ относительно развития бесплодия с вероятностью 87,5%. В доступной нам современной литературе мы не встретили сообщений относительно временных критериев развития бесплодия на фоне ХЭ.

У 90,6% женщин с бесплодием, ассоциированным с аутоиммунным ХЭ, выявлялись стерильные посевы эндометрия, что достоверно в 16,9 раз превышало аналогичный показатель у женщин с сохраненной на фоне ХЭ фертильностью ( $p<0,001$ ).

**Таблица 5.** Данные о визуализации сосудов матки по результатам доплерометрического исследования во II фазу цикла у пациенток с хроническим эндометритом

Допплерометрические параметры	Подгруппа I (n=64)		Подгруппа II (n=56)		p	ОР	95% ДИ
	абс.	%	абс.	%			
Визуализация аркуатных артерий	59	92,2	54	96,4	0,3114	0,96	0,88–1,04
Визуализация радиальных артерий	58	90,6	53	94,6	0,3969	0,96	0,87–1,06
Визуализация базальных артерий	29	45,3*	46	82,1*	<0,001	0,18	0,08–0,42
Визуализация спиральных артерий	11	17,2*	23	41,1*	0,0038	0,30	0,13–0,69
Неравномерность перфузии матки	53	82,8*	8	14,3*	<0,001	5,80	3,02–11,12

Примечание. \* — разница показателей между подгруппами I и II статистически достоверно значима.

За аутоиммунный процесс при ХЭ свидетельствовало выявление в периферической крови всех пациенток с бесплодием АЭАТ, уровень которых превышал верхнее пороговое значение в 67,2% случаев. Нами подтверждена прогностическая значимость сывороточного титра АЭАТ более 265 Ед/мл относительно развития репродуктивной дисфункции на фоне ХЭ с вероятностью 95,8%.

Имеющаяся в современной литературе весьма немногочисленная информация относительно АЭАТ касается в основном их определения при эндометриозе и объясняет нарушение процесса имплантации при эндометриозассоциированном бесплодии под влиянием высокого сывороточного титра АЭАТ [14, 17–20].

Сообщения о выявлении АЭАТ при ХЭ встречаются в единичных отечественных работах [9, 21]. Однако установление высокой ассоциативной связи между развитием эндометриоза и ХЭ подтверждает наличие общих патогенетических механизмов формирования этих заболеваний и объясняет возможность обнаружения АЭАТ при аутоиммунном ХЭ [19].

Определение уровня АЭАТ в промежутке от 210 до 265 Ед/мл у 26,6% бесплодных женщин указывает на возможность наличия у них аутоиммунного компонента ХЭ. Выявленная нами в подобных случаях высокая экспрессия в эндометрии иммуногистохимических маркеров воспаления CD<sub>16</sub>, CD<sub>20</sub>, CD<sub>56</sub> и HLA-DR<sub>II</sub> подтверждала наличие активного аутоиммунного ХЭ. Схожие данные по фенотипическому составу лимфоцитов в эндометрии у пациенток с ХЭ представлены в работах Е. Михниной (2003, 2009) [9, 12, 13].

Таким образом, в основе развития бесплодия и неудачных попыток ЭКО у пациенток с длительно текущим ХЭ лежит аутоиммунный процесс, при котором под влиянием возросшего в эндометрии количества естественных НК-клеток, экспрессирующих CD<sub>16</sub> и CD<sub>56</sub>, и ввиду истощения каскада иммунных реакций при имплантации, а также за счет неполноценной инвазии ворсин хориона в измененный эндометрий и продолжающегося повреждающего воздействия высокого титра АЭАТ на клетки развивающегося трофобласта наблюдается гибель трофобласта и прерывание беременности [22].

### Ограничения исследования

Коллектив авторов допускает, что определенное влияние на полученные результаты оказал объем выборки, однако рассчитанные значения *p* достаточны для того, чтобы говорить о достоверности выявленных нами корреляционных связей между подгруппами.

### Заключение

Хронический эндометрит определяет морфофункциональное состояние эндометрия, играющее одну из ключевых ролей в успешной имплантации и последующем полноценном развитии эмбриона. Неспецифичность клинической картины, стертое атипичное течение и сложности гистологической верификации очагового ХЭ приводят к длительному бессимптомному существованию заболевания зачастую с единственным его проявлением в виде репродуктивной дисфункции.

Нами впервые были определены временные рамки развития бесплодия у пациенток с ХЭ, продолжительность течения которого с момента его морфологической верификации превышала пятилетний период. Мы уточнили многие особенности аутоиммунного процесса в эндометрии, лежащего в основе формирования ХЭ и ассоциированного с ним бесплодием, на что указывает выявление стерильных посевов эндометрия на фоне высокой экспрессии в нем маркеров воспаления CD<sub>16</sub>, CD<sub>20</sub>, CD<sub>56</sub> и HLA-DR<sub>II</sub> и высокого сывороточного титра АЭАТ.

В исследовании выявлены прогностически значимые клиничко-anamnestические факторы риска, предрасполагающие к развитию бесплодия у пациенток с ХЭ, и определены особенности эхографической, доплерометрической и гистероскопической картин ХЭ у пациенток с бесплодием. Полученные результаты могут лечь в основу программ прегравидарной подготовки при бесплодии на фоне ХЭ с целью повышения частоты наступления клинической беременности и живорождения в программах ЭКО.

### Источник финансирования

Исследование и публикация статьи осуществлены на личные средства авторского коллектива.

### Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить. Публикуемые результаты являются частью диссертационного исследования Косович Юлии Михайловны на тему «Клиничко-морфологические и молекулярные особенности хронического эндометрита у женщин с бесплодием», выполненного в рамках прохождения очной аспирантуры на кафедре акушерства и гинекологии № 1 лечебного факультета Первого МГМУ имени И.М. Сеченова в период с 2011 по 2016 г.

### ЛИТЕРАТУРА

1. *Бесплодный брак. Современные подходы к диагностике и лечению. Руководство* / Под ред. Г.Т. Сухих, Т.А. Назаренко. — М.: ГЭОТАР-Медиа; 2010. — 784 с. [Besploдниi brak. Sovremennye podkhody k diagnostike i lecheniyu. Rukovodstvo. Ed by G.T. Sukhikh, T.A. Nazarenko. Moscow: GEOTAR-Media; 2010. 784 p. (In Russ).]
2. Краснополяская К.В., Назаренко Т.А. *Клинические аспекты лечения бесплодия в браке: диагностика и терапевтические программы. Руководство*. — М.: ГЭОТАР-Медиа; 2014. — 374 с. [Krasnopol'skaya KV, Nazarenko TA. Klinicheskie aspekty lecheniya besplodiya v brake: diagnostika i terapevticheskie programmy. Rukovodstvo. Moscow: GEOTAR-Media; 2014. 374 p. (In Russ).]
3. Бессмертная В.С. *Морфология и иммуногистохимическая характеристика эндометрия при бесплодии*: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — М.; 2009. — 28 с. [Bessmertnaya VS. Morfologicheskaya i immunogistokhimicheskaya kharakteristika endometriya pri besplodii. [dissertation abstract] Moscow; 2009. 28 p. (In Russ).]
4. Келлэт Е.П., Шуршалина А.В., Корнеева И.Е.. Роль эндометрия в неудачах реализации репродуктивной функции // *Проблемы репродукции*. — 2010. — №2 — С. 16–20. [Kellét EP, Shurshalina AV, Korneeva IE. The role of endometrium in reproductive failures. *Problemy reproduktivnoy funktsii*. 2010;(2):16–20. (In Russ).]
5. Сметник В.П., Тумилович Л.Г. *Неоперативная гинекология. Руководство для врачей*. — М.: МИА; 2006. — 632 с. [Smetnik VP, Tumilovich LG. Neoperativnaya ginekologiya. Rukovodstvo dlya vrachei. Moscow: MIA; 2006. 632 p. (In Russ).]
6. Шуршалина А.В., Демур Т.А. Морфофункциональные перестройки эндометрия в «окно имплантации» // *Акушерство и гинекология*. — 2011. — №7–2 — С. 9–13. [Shurshalina AV, Demura TA. Morphofunctional changes of the endometrium in the «implantation window» // *Obstetrics and Gynecology*. — 2011. — №7–2 — С. 9–13. (In Russ).]

- Demura TA. Morphofunctional rearrangements of the endometrium during the implantation window. *Akush Ginekol (Mosk)*. 2011;(7–2):9–13. (In Russ.)]
7. Рудакова Е.Б., Лобода О.А. Хронический эндометрит в аспекте результативности программ экстракорпорального оплодотворения // *Лечащий врач*. — 2012. — №11 — С. 22–24. [Rudakova EB, Loboda OA. Khronicheskii endometrit v aspekte rezul'tativnosti programm ekstrakorporal'nogo oplodotvoreniya. *Practitioner*. 2012;(11):22–24. (In Russ.)]
  8. Сухих Г.Т., Шуршалина А.В. *Хронический эндометрит. Руководство*. — М.: ГЭОТАР-Медиа; 2010. — 64 с. [Sukhikh GT, Shurshalina AV. *Khronicheskii endometrit. Rukovodstvo*. Moscow: GEOTAR-Media; 2010. 64 p. (In Russ.)]
  9. Михнина Е.А., Комаров Е.К., Хохлов П.П. Иммунологические аспекты хронического воспаления в эндометрии / *Материалы V Российского форума «Мать и дитя»*; Октябрь 6–10, 2003; Москва. — М.; 2003. — С. 399–400. [Mikhnina EA, Komarov EK, Khokhlov PP. Immunologicheskie aspekty khronicheskogo vospaleniya v endometrii. In: *Proceedings of the 5th Russian Forum «Mat' i ditya»*; 2003 oct 6–10; Moscow. Moscow; 2003. pp. 399–400. (In Russ.)]
  10. Демидов В.Н., Гус А.И. *Эхография органов малого таза у женщин. Патология полости матки и эндометрия*. — М.; 2001. — 138 с. [Demidov VN, Gus AI. *Ekhografiya organov malogo taza u zhenshchin. Patologiya polosti matki i endometriya*. Moscow; 2001. 138 p. (In Russ.)]
  11. Федорова Е.В., Липман А.Д. *Применение цветового доплеровского картирования и доплерометрии в гинекологии*. — М.: Видар; 2002. — 98 с. [Fedорова EV, Lipman AD. *Primenenie tsvetovogo dopplerovskogo kartirovaniya i dopplerometrii v ginekologii*. Moscow: Vidar; 2002. 98 p. (In Russ.)]
  12. Михнина Е.А. *Морфофункциональное состояние эндометрия у женщин с бесплодием и невынашиванием беременности*: Автореф. дис. ... докт. мед. наук. — СПб.; 2009. — 40 с. [Mikhnina EA. *Morfofunktsional'noe sostoyanie endometriya u zhenshchin s besplodiem i nevnashivaniem beremennosti*. [dissertation abstract] St. Petersburg; 2009. 40 p. (In Russ.)]
  13. Патент РФ на изобретение №2236013 / 10.02.2003. Михнина Е.А., Эллиниди В.Н., Калинина Н.М., Давыдова Н.И. Способ диагностики хронического эндометрита и характера воспаления. [Patent RUS №2236013 / 10.02.2003. Mikhnina EA, Ellinidi VN, Kalinina NM, Davydova NI. Sposob diagnostiki khronicheskogo endometrita i kharaktera vospaleniya. (In Russ.)]
- Доступно по: <http://www.freepatent.ru/patents/2236013>. Ссылка активна на 12.12.2017.
14. Sweet RL. Treatment strategies for pelvic inflammatory disease. *Expert Opin Pharmacother*. 2009;10(5):823–837. doi: 10.1517/14656560902823816.
  15. *Применение методов статистического анализа для изучения общественного здоровья и здравоохранения. Учебное пособие для вузов / Под ред. В.З. Кучеренко*. — М.: ГЭОТАР-Медиа; 2007. — 192 с. [Primenenie metodov statisticheskogo analiza dlya izucheniya obshchestvennogo zdorov'ya i zdavookhraneniya. *Uchebnoe posobie dlya vuzov*. Ed by V.Z. Kucherenko. Moscow: GEOTAR-Media; 2007. 192 p. (In Russ.)]
  16. Хачкурузов С.Г. *Ультразвуковое исследование в гинекологии. Симптоматика. Диагностические трудности и ошибки. Руководство для врачей*. — СПб.: Элби; 2001. — 456 с. [Khachkuruzov SG. *Ul'trazvukovoe issledovanie v ginekologii. Simptomatika. Diagnosticheskie trudnosti i oshibki. Rukovodstvo dlya vrachei*. St. Petersburg: Elbi; 2001. 456 p. (In Russ.)]
  17. Randall GW, Bush S 2nd, Gantt PA. Serum and peritoneal fluid antiendometrial antibodies in assisted reproduction. *J Reprod Med*. 2009;54(6):353–360.
  18. Subit M, Gantt P, Broce M, et al. Endometriosis-associated infertility: double intrauterine insemination improves fecundity in patients positive for antiendometrial antibodies. *Am J Reprod Immunol*. 2011;66(2):100–107. doi: 10.1111/j.1600-0897.2010.00973.x.
  19. Takebayashi A, Kimura F, Kishi Y, et al. The association between endometriosis and chronic endometritis. *PLoS One*. 2014;9(2):e88354. doi: 10.1371/journal.pone.0088354.
  20. Wiczorek J, Matuszewski W, Kokocinska D. [Usefulness of selected circulating biochemical markers in diagnosis and monitoring of endometriosis. (In Polish).] *Ginekol Pol*. 1999;70(3):161–165.
  21. Комаров Е.К., Михнина Е.А., Хохлов П.П. *Иммунологический метод количественного определения антител к эндометриальному антигену в сыворотке крови. Пособие для врачей / Под ред. Э.К. Айламазяна*. — СПб.; 2007. — 25 с. [Komarov EK, Mikhnina EA, Khokhlov PP. *Immunologicheskii metod kolichestvennogo opredeleniya antitel k endometrial'nomu antigenu v syvorotke krvi. Posobie dlya vrachei*. Ed by E.K. Ailamazyan. St. Petersburg; 2007. 25 p. (In Russ.)]
  22. Haller-Kikkatalo K, Altmae S, Tagoma A, et al. Autoimmune activation toward embryo implantation is rare in immune-privileged human endometrium. *Semin Reprod Med*. 2014;32(5):376–384. doi: 10.1055/s-0034-1376356.

### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Ищенко Анатолий Иванович**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой акушерства и гинекологии № 1 лечебного факультета ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет)

Адрес: 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2, тел.: +7 (499) 248-67-38, e-mail: 9603526@mail.ru, SPIN-код: 3294-3251, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3338-1113>

**Унянян Ара Леонидович**, доктор медицинских наук, профессор кафедры акушерства и гинекологии № 1 лечебного факультета ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет)

Адрес: 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2, e-mail: unan@yandex.ru, SPIN-код: 2996-5950, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2283-2356>

**Коган Евгения Атаровна**, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой патологической анатомии им. акад. А.И. Струкова ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет)

Адрес: 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2, e-mail: koganevg@gmail.com, SPIN-код: 2709-2449, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1775-3060>

**Демур Татьяна Александровна**, доктор медицинских наук, профессор кафедры патологической анатомии им. акад. А.И. Струкова ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет)

Адрес: 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2, e-mail: uursula90@gmail.com; demura-t@yandex.ru, SPIN-код: 2198-5765, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-6946-6146>

**Коссович Юлия Михайловна**, аспирант кафедры акушерства и гинекологии № 1 лечебного факультета ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет)

Адрес: 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2, e-mail: kjum1985@mail.ru, SPIN-код: 8644-3571, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8545-8974>



DOI: 10.15690/vramn918

В.А. Бывальцев<sup>1, 2, 3, 4</sup>, Е.Т. Махамбетов<sup>5</sup>, И.А. Степанов<sup>1</sup>,  
А.Б. Калиев<sup>5</sup>, С.К. Акшулаков<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Иркутский государственный медицинский университет, Иркутск, Российская Федерация

<sup>2</sup> Дорожная клиническая больница на ст. Иркутск–Пассажирский, Иркутск, Российская Федерация

<sup>3</sup> Иркутский научный центр хирургии и травматологии, Иркутск, Российская Федерация

<sup>4</sup> Иркутская государственная академия последипломного образования, Иркутск, Российская Федерация

<sup>5</sup> Национальный центр нейрохирургии, Астана, Казахстан

# Анализ результатов использования потокоперенаправляющих стентов Pipeline в хирургическом лечении неразорвавшихся больших и гигантских параклиноидных аневризм внутренней сонной артерии

**Обоснование.** Высокая частота рецидивов больших и гигантских параклиноидных аневризм (ПА) внутренней сонной артерии, а также наличие интра- и послеоперационных нежелательных явлений, приводящих к неудовлетворительным результатам хирургического лечения данной группы пациентов, обуславливают актуальность указанной проблемы. Потокоперенаправляющие стенты (ППНС) активно используются во многих крупных нейрохирургических центрах мира при лечении аневризм сосудов головного мозга различной морфологии, размеров и локализации. К настоящему времени существуют лишь единичные сообщения, посвященные оценке эффективности использования ППНС в хирургическом лечении больших и гигантских ПА внутренней сонной артерии, а результаты указанных исследований неоднозначны и во многом противоречивы. **Цель исследования** — анализ результатов использования ППНС Pipeline в хирургическом лечении больших и гигантских ПА внутренней сонной артерии. **Методы.** В исследование включены 37 пациентов (25 женщин, 12 мужчин; средний возраст  $51,7 \pm 10,7$  года), которым выполнена установка ППНС изолированно или в комбинации с отделяемыми спиралями по поводу больших и гигантских ПА внутренней сонной артерии. Средний период наблюдения за пациентами составил  $19,7 \pm 3,8$  мес. **Результаты.** В 56,7% случаев ПА являлись причиной развития незначительного неврологического дефицита (1–2 балла по модифицированной шкале Рэнкина). У 18,9% пациентов ПА вызывали грубый неврологический дефицит (3–5 баллов по модифицированной шкале Рэнкина). Не имели клинико-неврологических проявлений 24,3% пациентов с ПА. После выполнения оперативного вмешательства у 32,4% пациентов отмечено улучшение неврологического статуса, в 45,9% случаев неврологический статус остался на прежнем уровне и в 21,6% — степень неврологического дефицита увеличилась. Установка только ППНС выполнена у 70,2% пациентов. В 29,7% случаев выключение больших и гигантских ПА внутренней сонной артерии из системного кровотока выполнено с использованием комбинации ППНС и отделяемых спиралей. В указанный период наблюдения за пациентами полной окклюзии больших и гигантских ПА внутренней сонной артерии удалось достигнуть в 75,6% случаев, практически полной и частичной окклюзии — в 24,3%. Частота встречаемости тромбоэмболических и геморрагических осложнений составила 10,8 и 8,1% соответственно. Смертность среди пациентов составила 2,7%. **Заключение.** Использование ППНС Pipeline является эффективным способом окклюзии больших и гигантских ПА внутренней сонной артерии. Тем не менее указанный способ эндоваскулярного лечения ПА ассоциирован с высокой частотой нежелательных явлений.

**Ключевые слова:** большие и гигантские параклиноидные аневризмы, внутренняя сонная артерия, потокоперенаправляющие стенты, окклюзия, антитромбоцитарная терапия, осложнения.

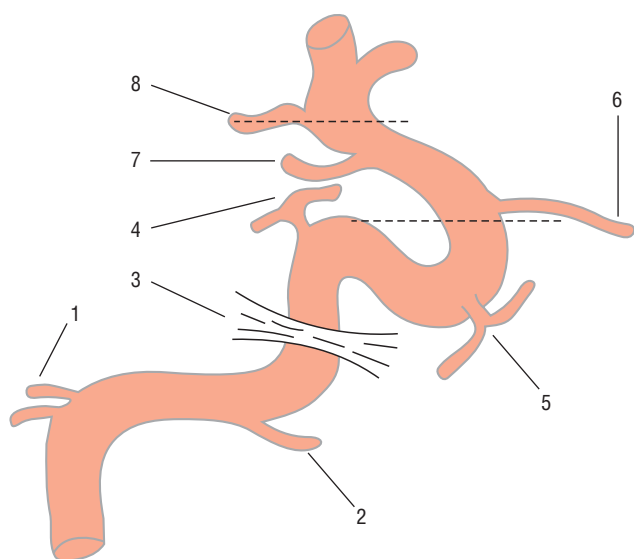
(Для цитирования): Бывальцев В.А., Махамбетов Е.Т., Степанов И.А., Калиев А.Б., Акшулаков С.К. Анализ результатов использования потокоперенаправляющих стентов Pipeline в хирургическом лечении неразорвавшихся больших и гигантских параклиноидных аневризм внутренней сонной артерии. *Вестник РАМН.* 2018;73(1):16–22. doi: 10.15690/vramn918)

## Введение

Большие ( $\geq 15$  мм) и гигантские ( $\geq 25$  мм) аневризмы составляют от 12 до 15% всех видов артериальных аневризм сосудов головного мозга [1]. Параклиноидные аневризмы (ПА), представляющие собой аневризмы внутренней сонной артерии, расположены между дистальным кольцом твердой мозговой оболочки и устьем задней соединительной артерии (рис. 1). Клинико-неврологические проявления больших и гигантских ПА разнообразны (зрительные, гормональные нарушения; развитие аневризматического субарахноидального кровоизлияния) и во многом зависят от наличия компрессии определен-

ных структур головного мозга [2]. При этом, по данным Международного регистра неразорвавшихся аневризм (International Study of Unruptured Intracranial Aneurysms, ISUIA), риск развития кровоизлияния больших и гигантских аневризм сосудов головного мозга составляет более 40% в год [3].

Первым методом оперативного лечения ПА стало лигирование несущей аневризму артерии, выполненное шотландским хирургом Джоном Хантером (John Hunter). Однако высокий процент летальности и стойкой инвалидизации среди пациентов после лигирования сосуда не позволили широко распространить данный метод хирургического вмешательства.



**Рис. 1.** Параклиноидный отдел внутренней сонной артерии (ограничен пунктирными линиями) (рисунок Н.А. Тетюшкина)

*Примечание.* 1 — сонно-барабанные артерии, 2 — крыловидная ветвь, 3 — наружное кольцо твердой мозговой оболочки, 4 — менинго-гипофизарный ствол (задний каротидно-кавернозный), 5 — латеральный каротидно-кавернозный ствол, 6 — глазная артерия, 7 — верхняя гипофизарная артерия, 8 — задняя соединительная артерия.

Активное развитие микронейрохирургии в 80-е годы прошлого столетия привело к тому, что клипирование больших и гигантских ПА стало основным методом хирургического лечения с низкой летальностью и числом осложнений. С развитием эндоваскулярных технологий стало возможным применение различных методов оперативных вмешательств при артериальных аневризмах сосудов головного мозга, в том числе при ПА. Вместе с тем расширились и показания к выполнению деконструктивных операций с/без формирования микрососудистых анастомозов [4].

Тем не менее хирургическое лечение больших и гигантских ПА внутренней сонной артерии по-прежнему представляет собой актуальную проблему современной сосудистой нейрохирургии. Указанная актуальность обусловлена высокой частотой рецидивов ПА, а также наличием интра- и послеоперационных нежелательных явлений, приводящих к неудовлетворительным результатам лечения данной группы пациентов [5, 6]. На сегодняшний день потокоперенаправляющие стенты (ППНС) активно используются во многих крупных нейрохирургических центрах мира при лечении аневризм сосудов головного мозга различной морфологии, размеров и локализации [7–9]. Поиск литературных источников в медицинских базах данных Pubmed, Medline и eLIBRARY привел лишь к единичным сообщениям, посвященным оценке эффективности использования ППНС в хирургическом лечении больших и гигантских ПА внутренней сонной артерии. При этом результаты

V.A. Byvaltsev<sup>1,2,3,4</sup>, Y.T. Makhambetov<sup>5</sup>, I.A. Stepanov<sup>1</sup>, A.B. Kaliyev<sup>5</sup>, S.K. Akshulakov<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Irkutsk State Medical University, Irkutsk, Russian Federation

<sup>2</sup> Railway Clinical Hospital on the Station Irkutsk-Passazhirskiy of Russian Railways Ltd., Irkutsk, Russian Federation

<sup>3</sup> Irkutsk Scientific Center of Surgery and Traumatology, Irkutsk, Russian Federation

<sup>4</sup> Irkutsk State Academy of Postgraduate Education, Irkutsk, Russian Federation

<sup>5</sup> National Center of Neurosurgery, Astana, Kazakhstan

## Outcome Analysis of the Flow Diversion with Pipeline Embolization Device for the Surgical Treatment of Unruptured Large and Giant Paraclinoid Carotid Aneurysms

**Background:** Both the high frequency of recurrence of large or giant paraclinoid aneurysms (PA) of the internal carotid artery and the occurrence of intra- and postoperative complications, leading to unsatisfactory results of surgical treatment of this group of patients, make the stated problem urgent. Flow-diverter embolization devices are actively used in many large international neurosurgical centers for the treatment of cerebral aneurysms of different morphology, size, and localization. Currently, there are very few reports on the effectiveness of the use of flow diverting stents in the surgical treatment of large and giant PA of the internal carotid artery. The results of these studies are controversial and largely contradictory.

**Aim:** Outcome analysis of the use of Pipeline embolization device (PED) for the surgical treatment of large and giant carotid PA. **Methods:** The study enrolled 37 patients (25 women, 12 men; mean age 51.7±10.7 years) who were divided into those treated with the PED alone versus those treated with the PED and concurrent coil embolization. The average follow-up period was 19.7±3.8 months. **Results:** In 56.7% of cases, PA caused the development of an insignificant neurological deficit (Modified Rankin Scale 1–2). In 18.9% of patients, PA provoked a gross neurologic deficit (MRS 3–5). 24.3% of patients with PA did not have any clinical-neurological manifestations. After the surgery, neurologic status improved in 32.4% of patients, remained the same — in 45.9% of cases, and the degree of neurologic deficit increased in 21.6%. PED procedure was performed in 70.2% of patients. In 29.7% of cases, the dislocation of large or giant PA of the internal carotid artery from the systemic blood stream was performed using PED and concurrent coil embolization. At the indicated period of patient observation, complete occlusion of large and giant carotid PA was achieved in 75.6% of cases, almost complete and partial occlusion — in 24.3%. The incidence of thromboembolic and hemorrhagic complications was 10.8% and 8.1%, respectively. Mortality rate among patients was 2.7%. **Conclusions:** The use of PED is an effective method for occluding large or giant PA of the internal carotid artery. Nevertheless, this method of endovascular treatment of PA is associated with a high complication incidence.

**Key words:** large and giant paraclinoid aneurysms, internal carotid artery, flow-diverter embolization device, occlusion, antiplatelet therapy, complications.

**(For citation:** Byvaltsev VA, Makhambetov YT, Stepanov IA, Kaliyev AB, Akshulakov SK. Outcome Analysis of the Flow Diversion with Pipeline Embolization Device for the Surgical Treatment of Unruptured Large and Giant Paraclinoid Carotid Aneurysms. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2018;73(1):16–22. doi: 10.15690/vramn918)



указанных исследований неоднозначны и во многом противоречивы.

**Цель исследования** — анализ результатов использования ППНС Pipeline (Medtronic, США) в хирургическом лечении больших и гигантских ПА внутренней сонной артерии.

## Методы

### Дизайн исследования

Выполнено нерандомизированное ретроспективное когортное моноцентровое исследование.

### Критерии соответствия

Предметом изучения в исследовании являлась медицинская документация пациентов, прооперированных по поводу больших и гигантских неразорвавшихся мешотчатых или фузиформных ПА внутренней сонной артерии в период с января 2008 по июнь 2017 г.

#### Критерии включения медицинских карт в исследование:

- возраст пациентов на момент выполнения оперативного вмешательства — от 25 до 70 лет;
- наличие неразорвавшихся больших и гигантских мешотчатых или фузиформных ПА внутренней сонной артерии;
- использование ППНС Pipeline (Medtronic, США);
- выполнение оперативного вмешательства в соответствии со стандартным протоколом.

#### Критерии исключения:

- разорвавшиеся большие и гигантские ПА внутренней сонной артерии;
- наличие выполненных оперативных вмешательств в анамнезе по поводу больших и гигантских ПА внутренней сонной артерии;
- тяжелые нарушения проводимости и ритма сердца;
- тяжелое течение артериальной гипертензии;
- декомпенсированный сахарный диабет;
- тяжелая сердечная и/или дыхательная недостаточность;
- тяжелая почечная и/или печеночная недостаточность.

### Условия проведения

Исследование выполнено на базах Центра нейрохирургии Дорожной клинической больницы на станции Иркутск-Пассажирский ОАО «РЖД-Медицина» (Иркутск, Российская Федерация) и отделения сосудистой и функциональной нейрохирургии АО «Национальный центр нейрохирургии» (Астана, Казахстан).

### Продолжительность исследования

Исследование, выполненное в 2017 г., включало в себя анализ данных хирургического лечения пациентов с большими и гигантскими ПА внутренней сонной артерии, получивших медицинскую помощь в период с января 2008 по июнь 2017 г.

### Описание медицинского вмешательства

В настоящее исследование включена медицинская документация той группы пациентов, тактика хирургиче-

ского лечения которой соответствовала нижеследующему стандартному протоколу.

За 7 дней до выполнения оперативного вмешательства у всех пациентов применялась двойная антитромбоцитарная терапия, включающая ацетилсалициловую кислоту в дозе 100 мг 1 раз/сут и клопидогрел в дозе 75 мг 1 раз/сут. Функциональная активность тромбоцитов оценивалась методом импедансной агрегометрии. В случае если у пациента по данным агрегометрии отсутствовал фармакологический ответ на терапию клопидогрелом, его переводили на терапию тикагрелором в дозе 90 мг 2 раза/сут.

Оперативное вмешательство выполнялось под внутривенной анестезией с использованием искусственной вентиляции легких. С целью профилактики развития артериальных тромбоэмболических осложнений на протяжении всей операции пациенту проводилась внутривенная антикоагулянтная терапия гепарином. После пункции бедренной артерии выполняли селективную катетеризацию внутренней сонной артерии, в бассейне которой локализовалась ПА. Контроль за проведением катетера осуществляли с помощью ангиографической установки Artis Zee Biplane (Siemens, Германия). После визуализации ПА определяли ее форму, размеры купола и шейки аневризматического мешка. На следующем этапе оценивали характер несущего ПА сосуда (диаметр, наличие резкой извитости, стенозов). Установку ППНС Pipeline (Medtronic, США) выполняли на уровне шейки ПА. При этом концы стента старались расположить не менее чем на 5 мм дистальнее и проксимальнее шейки аневризматического мешка. После установки ППНС оценивали корректность выполненной процедуры, проходимость стента, степень стагнации рентгеноконтрастного препарата в полости аневризматического мешка, а также по данным церебральных ангиограмм выполняли верификацию признаков отсутствия дистальной тромбоэмболии. После установки стента двойная антиагрегантная терапия проводилась на протяжении не менее 3 мес клопидогрелом и не менее 12 мес ацетилсалициловой кислотой (рис. 2).

### Исходы исследования

#### Основной исход исследования

Оценивалась клиническая эффективность использования ППНС: степень окклюзии аневризмы, частота тромбоэмболических и геморрагических осложнений в интраоперационном, раннем и позднем послеоперационных периодах, а также смертность среди пациентов.

#### Дополнительные исходы исследования

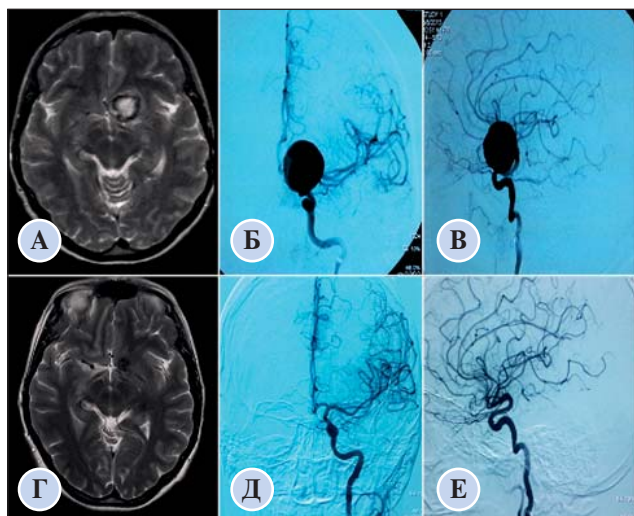
С учетом пола и возраста пациентов изучали максимальный диаметр и размер шейки аневризматического мешка для мешотчатых ПА, длину и ширину — для фузиформных ПА.

### Методы регистрации исходов

Оценка клинической эффективности использования ППНС проводилась по модифицированной шкале Рэнкина<sup>1</sup> (МШР) [10].

Интраоперационные тромбоэмболические осложнения верифицировались с помощью дигитальной суб-

<sup>1</sup> Шкалой Рэнкина неврологи пользуются с 1988 г. Модифицированная шкала предполагает использование данных, полученных в результате обследования неврологического состояния пациента с инсультом по шкале NIHSS, разработанной американским Национальным институтом здоровья, где установлена балльная система оценки (от 3–5 до 25). Тесты используют не только для определения тяжести инсульта, но и для планирования тромболитической терапии. Шкала позволяет оценить уровень сохранности речи, болевую чувствительность, степень нарушения двигательных функций, способность концентрировать внимание, уровень сознания, уровень согласованности движений.



**Рис. 2.** Пациент П., 63 года: гигантская частично тромбированная параклиноидная аневризма левой внутренней сонной артерии

*Примечание.* А — предоперационная магнитно-резонансная томограмма, Б — церебральная ангиограмма в прямой проекции, В — церебральная ангиограмма в боковой проекции, Г — послеоперационная магнитно-резонансная томограмма спустя 36 мес после установки потокоперенаправляющего стента (отмечается полная окклюзия аневризматического мешка), Д — церебральная ангиограмма в прямой проекции, Е — церебральная ангиограмма в боковой проекции.

тракционной ангиографии и включали в себя следующие признаки:

- 1) визуализацию тромба в просвете сосуда;
- 2) медленное заполнение просвета сосуда, первоначально имевшего хорошую степень наполнения;
- 3) отсутствие визуализации просвета сосуда.

Тромбоэмболические осложнения в раннем и позднем послеоперационном периодах оценивались по данным магнитно-резонансной томографии.

Интраоперационные геморрагические осложнения оценивались по результатам церебральных ангиограмм и компьютерной томографии.

Степень окклюзии ПА оценивалась также с помощью дигитальной субтракционной ангиографии или магнитно-резонансной томографии: при тромбозе 100% аневризматического мешка окклюзия считалась полной, от 90 до 100% — практически полной, менее 90% — частичной.

Размеры ПА оценивались по данным церебральных ангиограмм и магнитно-резонансной томографии с использованием программного обеспечения Radiant DICOM Viewer.

#### Этическая экспертиза

Протокол исследования одобрен этическим комитетом ФГБОУ ВО «Иркутский государственный медицинский университет» (протокол № 417/2 от 16.05.2015). Исследование проводилось в соответствии с принципами надлежащей клинической практики и Хельсинкской декларации [11].

#### Статистический анализ

Статистическая обработка данных проводилась с использованием программного обеспечения Microsoft Excel 2010. Описательные статистические данные представлены в виде  $M \pm SD$ , где  $M$  — среднее значение,

$SD$  — стандартное отклонение. При сравнении полученных значений использованы U-тест Манна–Уитни для непараметрических данных и критерий  $\chi^2$  для категориальных переменных. Достоверными считали значения  $p$  менее 0,05.

## Результаты

### Объекты (участники) исследования

В исследование включены 37 (25 женщин, 12 мужчин) пациентов в возрасте от 25 до 70 лет (средний возраст составил  $51,7 \pm 10,7$  года). Период наблюдения за пациентами варьировал от 13 до 48 мес (средний период наблюдения —  $33,2 \pm 7,6$  мес) (табл. 1).

### Основные результаты исследования

В большинстве случаев (56,7%) большие и гигантские ПА внутренней сонной артерии являлись причиной развития незначительного неврологического дефицита (1–2 балла по МШР). У 18,9% пациентов ПА вызывали грубый неврологический дефицит (3–4 балла по МШР), 24,3% пациентов с ПА внутренней сонной артерии не имели клинико-неврологических проявлений. После выполнения оперативного вмешательства у 32,4% пациентов отмечено улучшение неврологического статуса, в 45,9% случаев неврологический статус остался на преж-

19

**Таблица 1.** Характеристика исследуемой группы пациентов

Параметры	Значения
Количество выполненных оперативных вмешательств	37
Количество пациентов	37
Пол	
Мужской	12 (32,4%)
Женский	25 (67,5%)
Средний возраст, лет	$51,7 \pm 10,7$
Предоперационный неврологический статус по МШР, баллы	
0	9 (24,3%)
1–2	21 (56,7%)
3–4	7 (18,9%)
Форма аневризмы	
Мешотчатые	10 (27%)
Фузиформные	27 (72,9%)
Средние размеры аневризм, мм	
<i>Мешотчатые</i>	
• Максимальный диаметр	$29,4 \pm 7,4$
• Размер шейки	$10,1 \pm 2,8$
<i>Фузиформные</i>	
• Длина	$39,6 \pm 11,7$
• Ширина	$27,4 \pm 9,9$
Фармакологический ответ на клопидогрел	
Да	28 (75,6%)
Нет	9 (24,3%)
Переход на терапию тикагрелором	
Да	3 (33,3%)
Нет	7 (66,6%)

**Таблица 2.** Результаты применения потокоперенаправляющих стентов Pipeline (Medtronic, США) у пациентов с большими и гигантскими параклиноидными аневризмами внутренней сонной артерии

Параметры	Значения
Вид оперативного вмешательства	
Только установка ППНС	26 (70,2%)
Комбинация ППНС с отделяемыми спиралями	11 (29,7%)
Средний период наблюдения, мес	33,2±7,6
Степень окклюзии аневризмы	
Полная (90–100%)	28 (75,6%)
Практически полная и частичная	9 (24,3%)
Повторные оперативные вмешательства	7 (18,9%)
Послеоперационный неврологический статус по МШР, баллы	
0	8 (21,6%)
1–2	19 (51,3%)
3–5	9 (24,3%)
6 (смерть)	1 (2,7%)
Динамика неврологического статуса по МШР	
Улучшение	12 (32,4%)
Без динамики	17 (45,9%)
Ухудшение	8 (21,6%)
Нежелательные явления	
Кровоизлияния	3 (8,1%)
Тромбоэмболии	4 (10,8%)

*Примечание.* ППНС — потокоперенаправляющий стент, МШР — модифицированная шкала Рэнкина.

нем уровне, у 21,6% пациентов степень неврологического дефицита увеличилась (табл. 2).

Установка только ППНС выполнена 70,2% пациентов. В 29,7% случаев выключение больших и гигантских ПА внутренней сонной артерии из системного кровотока выполнено с использованием комбинации ППНС и отделяемых спиралей. Стоит отметить, что размеры ПА, при хирургическом лечении которых использована комбинация двух эндоваскулярных методов, достоверно превосходили размеры ПА, которые выключались из системного кровотока только с помощью ППНС ( $p=0,02$ ). При указанном периоде наблюдения за пациентами полной окклюзии больших и гигантских ПА внутренней сонной артерии удалось достигнуть в 75,6% случаев, практически полной и частичной окклюзии — в 24,3%. Полная окклюзия аневризматического мешка отмечена у 79,1% пациентов с мешотчатыми большими и гигантскими ПА и 69,2% пациентов с фузиформными ПА. Повторные оперативные вмешательства (микрохирургическое клипирование и треппинг аневризм) потребовались в 18,9% случаев, при этом большая часть (57,1%) из указанных больших и гигантских ПА внутренней сонной артерии имела фузиформную форму.

Частота встречаемости тромбоэмболических и геморагических осложнений составила 10,8 и 8,1% соответственно. Несмотря на то, что тромбоэмболические осложнения в группе с комбинированным использованием ППНС и отделяемых спиралей встречались чаще, достоверной разницы между данными группами не выявлено ( $p=0,137$ ). Нами также не обнаружено статистически зна-

чимых различий в распространенности тромбоэмболических осложнений между группами пациентов с хорошим и неудовлетворительным фармакологическим ответом на терапию клопидогрелом ( $p=0,264$ ). Смертность среди пациентов составила 2,7% (1 пациент): причиной смерти стал тромбоз стента с развитием острого нарушения мозгового кровообращения по ишемическому типу в бассейне левой внутренней сонной артерии.

### Дополнительные результаты исследования

Среднее значение максимального диаметра аневризматического мешка мешотчатых ПА составило 29,4±7,4 мм, средний размер шейки мешотчатых ПА — 10,1±2,8 мм. Средние значения длины и ширины больших и гигантских фузиформных ПА внутренней сонной артерии составили 39,6±11,7 и 27,4±9,9 мм соответственно.

### Обсуждение

Как известно, большие и гигантские ПА внутренней сонной артерии ассоциированы с высокой частотой развития неврологического дефицита и смертности пациентов, что связано как с прямым компрессионным действием аневризматического мешка на близлежащие анатомические структуры, так и с высоким риском их разрыва [12]. В исследовании D. Wiebers с соавт. [3] наглядно показано, что риск разрыва больших и гигантских церебральных аневризм передней мозговой циркуляции при среднем периоде наблюдения 5 лет составляет 40%, а задней мозговой циркуляции — 50%. Единственным способом снижения риска разрыва аневризм сосудов головного мозга является выполнение планового оперативного вмешательства. Эндоваскулярное лечение больших и гигантских ПА внутренней сонной артерии с использованием отделяемых спиралей сопряжено с техническими сложностями и высокой частотой рецидивов аневризм [13, 14]. Более того, при эндоваскулярном выключении больших и гигантских ПА с широкой шейкой необходимо использовать вспомогательные инструменты (баллон или стент) для предотвращения миграции спиралей. M. Sluzewski с соавт. [15] в своей клинической серии отметили, что у 31% пациентов удалось достигнуть полной или практической полной окклюзии больших и гигантских аневризм сосудов головного мозга с помощью отделяемых спиралей. При этом повторное оперативное вмешательство потребовалось в 41,4% случаев (средний период наблюдения составил 6 мес). В исследовании A. Gruber с соавт. [16] сообщается о полной или практически полной окклюзии 71% гигантских аневризм при использовании отделяемых спиралей. Низкая эффективность использования отделяемых спиралей при гигантских аневризмах объясняется их неспособностью индуцировать полноценное тромбообразование в полости аневризматического мешка. Кроме того, наличие тромботических масс в полости большой или гигантской аневризмы к моменту выполнения оперативного вмешательства препятствует продвижению спиралей и не позволяет выполнить полноценную окклюзию последней [6]. В исследованиях A. Molyneux с соавт. [17] и I. Szikoga с соавт. [18] показано, что при эндоваскулярном выключении гигантских аневризм с помощью отделяемых спиралей отсутствуют полноценная организация тромба в полости аневризмы и покрытие шейки аневризмы эндотелием.

Работы, посвященные анализу результатов применения ППНС при хирургическом лечении больших и гигантских аневризм сосудов головного мозга, немного-



численны. Так, в обзоре X. Lv с соавт. [19] систематизированы данные 9 публикаций, посвященных применению ППНС в хирургическом лечении 40 гигантских аневризм сосудов головного мозга. Учеными отмечено, что полная окклюзия аневризм в сроки от 6 до 34 мес верифицирована у 23 (57%) пациентов, внутрисерепные кровоизлияния — у 7 (17,5%); в 5 (12,5%) случаях подтверждено острое нарушение мозгового кровообращения по ишемическому типу и у 13 (32,5%) пациентов отмечено нарастание масс-эффекта после использования ППНС. Сходные результаты получены в клинической серии N. Aadeb с соавт. [6]. Крупные рандомизированные клинические исследования, посвященные изучению эффективности ППНС в хирургическом лечении аневризм сосудов головного мозга (PITA, PUFIS), продемонстрировали высокую результативность эндоваскулярного лечения, в том числе в отношении больших и гигантских аневризм [20, 21]. В метаанализе W. Brinjikji с соавт. [22] показано, что у 76% пациентов удалось достигнуть полной или практически полной окклюзии гигантских аневризм при использовании ППНС. Тем не менее у данной группы пациентов достоверно чаще встречались случаи развития тромбоэмболических осложнений и разрывов аневризм. В мультицентровом исследовании B. Kim с соавт. [8] доказана высокая эффективность применения ППНС в хирургическом лечении больших и гигантских аневризм сосудов головного мозга различной локализации. Авторы пришли к заключению, что у 77,4% пациентов достигнута полная или практически полная окклюзия аневризм. Нежелательные явления в виде геморрагических и тромбоэмболических осложнений отмечены лишь в 4,4% случаев (средний период наблюдения составил 3 мес). В целом, полученные нами результаты применения ППНС в хирургическом лечении больших и гигантских ПА во многом согласуются с данными мировой литературы.

Существует ряд патофизиологических факторов, влияющих на скорость тромбообразования в полости аневризм при установке ППНС. Принято считать, что ППНС уменьшают объем поступающей крови в полость аневризм, а затем полностью изолируют аневризматический мешок от несущего его сосуда за счет покрытия стента эндотелием в области шейки аневризм. Перечисленные факторы способствуют полноценному тромбообразованию в полости аневризм и дальнейшей организации тромботических масс. В части случаев на внутренней поверхности стента в области шейки аневризм могут встречаться не только эндотелиоциты, но и фибробласты с гладкомышечными клетками. Предполагается, что за счет миграции данного пула клеток происходит организация тромба в полости аневризм [23, 24]. Отсутствие одной из указанных клеточных популяций может привести к неполноценной организации тромба. A. Rouchaud с соавт. [25] при гистологическом исследовании гигантских аневризм сосудов головного мозга, выключенных из системного кровотока с помощью ППНС, отметили, что в некоторых случаях на поверхности стентов отсутствовали популяции эндотелиоцитов, фибробластов и гладких миоцитов. Более того, авторы выявили достоверную прямую корреляционную зависимость между степенью

окклюзии аневризматического мешка и количеством клеточных популяций на поверхности стента в области шейки аневризм. Источником клеточных популяций, участвующих в организации тромба в полости аневризм, является стенка несущего аневризму сосуда [26].

### Ограничения исследования

К сожалению, настоящее исследование не лишено недостатков, поскольку носит ретроспективный характер и включает в себя небольшое количество респондентов ввиду малой распространенности больших и гигантских ПА внутренней сонной артерии. Кроме того, в работе объединены результаты хирургического лечения как мешотчатых, так и фузиформных ПА, имеющих различную гемодинамику.

### Заключение

Использование ППНС Pipeline является эффективным способом окклюзии больших и гигантских ПА внутренней сонной артерии. Тем не менее указанный способ эндоваскулярного лечения больших и гигантских ПА ассоциирован с высокой частотой нежелательных явлений. Так, распространенность тромбоэмболических и геморрагических осложнений составила 10,8 и 8,1% соответственно, а летальность при установке ППНС — 2,7%. Безусловно, для более объективной оценки эффективности данного способа эндоваскулярного лечения больших и гигантских ПА внутренней сонной артерии необходимо проведение крупных мультицентровых исследований на большем количестве респондентов с детальным анализом состояния сосудисто-тромбоцитарного гемостаза, конфигурации несущего аневризму сосуда, диаметра шейки аневризм, а также оценкой состояния коллатерального церебрального кровотока с целью снижения рисков развития нежелательных явлений в интра- и послеоперационных периодах и более длительным периодом наблюдения за пациентами (не менее 5 лет).

### Источник финансирования

Исследование проведено на личные средства авторов.

### Конфликт интересов

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

### Выражение признательности

Авторы выражают благодарность студенту лечебного факультета Иркутского государственного медицинского университета Николаю Андреевичу Тетюшкину за помощь в подготовке иллюстративного материала.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Бывальцев В.А., Белых Е.Г., Степанов И.А. Выбор способа лечения церебральных аневризм различных локализаций в условиях развития современных эндоваскулярных технологий: метаанализ // *Вестник Российской академии медицинских наук*. — 2016. — Т.71. — №1 — С. 31–40. [Byval'tsev VA,

Belykh EG, Stepanov IA. The choice of the treatment method for cerebral aneurysms of different locations in the era of advanced endovascular technologies: a meta-analysis. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2016;71(1):31–40. (In Russ.) doi: 10.15690/vramn615.

2. Крылов В.В. Хирургия аневризм головного мозга. — М.: Медицина; 2011. — Т. I. — 432 с. [Krylov VV. *Khirurgiya anevrizm golovnoy mozga*. Vol. I. Moscow: Meditsina; 2011. 432 p. (In Russ).]
3. Wiebers DO, Whisnant JP, Huston J, 3rd, et al. Unruptured intracranial aneurysms: natural history, clinical outcome, and risks of surgical and endovascular treatment. *Lancet*. 2003;362(9378):103–110. doi: 10.1016/S0140-6736(03)13860-3.
4. Шехтман О.Д., Элиава Ш.Ш., Пилипенко Ю.В. Треппинг параклиноидных аневризм внутренней сонной артерии с интраоперационной ультразвуковой флоуметрией // *Вопросы нейрохирургии имени Н.Н. Бурденко*. — 2014. — Т.78. — №5 — С. 16–22. [Shekhtman OD, Eliava ShSh, Pilipenko YuV. Trapping of large and giant paraclinoid aneurysms based on intraoperative flowmetry test. *Zh Vopr Neurokhir im N N Burdenko*. 2014;78(5):16–22. (In Russ).]
5. Barrow DL, Alleyne C. Natural history of giant intracranial aneurysms and indications for intervention. *Clin Neurosurg*. 1995;42:214–244.
6. Adeeb N, Griessenauer CJ, Shallwani H, et al. Pipeline embolization device in treatment of 50 unruptured large and giant aneurysms. *World Neurosurg*. 2017;105:232–237. doi: 10.1016/j.wneu.2017.05.128.
7. Jeon HJ, Kim DJ, Kim BM, Lee JW. Pipeline embolization device for giant internal carotid artery aneurysms: 9-month follow-up results of two cases. *J Cerebrovasc Endovasc Neurosurg*. 2014;16(2):112–118. doi: 10.7461/jcen.2014.16.2.112.
8. Kim BM, Shin YS, Baik MW, et al. Pipeline embolization device for large/giant or fusiform aneurysms: an initial multi-center experience in Korea. *Neurointervention*. 2016;11(1):10–17. doi: 10.5469/neuroint.2016.11.1.10.
9. Oh SY, Kim MJ, Kim BS, Shin YS. Treatment for giant fusiform aneurysm located in the cavernous segment of the internal carotid artery using the pipeline embolization device. *J Korean Neurosurg Soc*. 2014;55(1):32–35. doi: 10.3340/jkns.2014.55.1.32.
10. Chaisinanunkul N, Adeoye O, Lewis RJ, et al. Adopting a patient-centered approach to primary outcome analysis of acute stroke trials using a utility-weighted modified Rankin Scale. *Stroke*. 2015;46(8):2238–2243. doi: 10.1161/STROKEAHA.114.008547.
11. Williams JR. The Declaration of Helsinki and public health. *Bull World Health Organ*. 2008;86(8):650–652. doi: 10.2471/blt.08.050955.
12. Etminan N, Beseoglu K, Barrow DL, et al. Multidisciplinary consensus on assessment of unruptured intracranial aneurysms: proposal of an international research group. *Stroke*. 2014;45(5):1523–1530. doi: 10.1161/STROKEAHA.114.004519.
13. Griessenauer CJ, Adeeb N, Foreman PM, et al. Impact of coil packing density and coiling technique on occlusion rates for aneurysms treated with stent-assisted coil embolization. *World Neurosurg*. 2016;94:157–166. doi: 10.1016/j.wneu.2016.06.127.
14. Калиев А.Б. Эндоваскулярная хирургия сложных аневризм внутренней сонной артерии // *Нейрохирургия и неврология Казахстана*. — 2016. — №1 — С. 19–23. [Kaliyev AB. Endovascular treatment of complex aneurysms of the internal carotid artery. *Neirokhirurgiya i neurologiya Kazakhstana*. 2016;(1):19–23. (In Russ).]
15. Sluzewski M, Menovsky T, van Rooij WJ, Wijnalda D. Coiling of very large or giant cerebral aneurysms: Long-term clinical and serial angiographic results. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2003;24(2):257–262.
16. Gruber A, Killer M, Bavinski G, Richling B. Clinical and angiographic results of endosaccular coiling treatment of giant and very large intracranial aneurysms: a 7-year, single-center experience. *Neurosurgery*. 1999;45(4):793–803. doi: 10.1097/00006123-199910000-00013.
17. Molyneux AJ, Ellison DW, Morris J, Byrne JV. Histological findings in giant aneurysms treated with Guglielmi detachable coils. Report of two cases with autopsy correlation. *J Neurosurg*. 1995;83(1):129–132. doi: 10.3171/jns.1995.83.1.0129.
18. Szikora I, Turanyi E, Marosfoi M. Evolution of flow-diverter endothelialization and thrombus organization in giant fusiform aneurysms after flow diversion: a histopathologic study. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2015;36(9):1716–1720. doi: 10.3174/ajnr.A4336.
19. Lv X, Ge H, He H, et al. A systematic review of pipeline embolization device for giant intracranial aneurysms. *Neurol India*. 2017;65(1):35–38. doi: 10.4103/0028-3886.198200.
20. Nelson PK, Lylyk P, Szikora I, et al. The pipeline embolization device for the intracranial treatment of aneurysms trial. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2011;32(1):34–40. doi: 10.3174/ajnr.A2421.
21. Becske T, Kallmes DF, Saatici I, et al. Pipeline for uncoilable or failed aneurysms: results from a multicenter clinical trial. *Radiology*. 2013;267(3):858–868. doi: 10.1148/radiol.13120099.
22. Brinjikji W, Murad MH, Lanzino G, et al. Endovascular treatment of intracranial aneurysms with flow diverters: a meta-analysis. *Stroke*. 2013;44(2):442–447. doi: 10.1161/Strokeaha.112.678151.
23. Hoh BL, Hosaka K, Downes DP, et al. Stromal cell-derived factor-1 promoted angiogenesis and inflammatory cell infiltration in aneurysm walls. *J Neurosurg*. 2014;120(1):73–86. doi: 10.3171/2013.9.JNS122074.
24. Chalouhi N, Ali MS, Jabbour PM, et al. Biology of intracranial aneurysms: role of inflammation. *J Cereb Blood Flow Metab*. 2012;32(9):1659–1676. doi: 10.1038/jcbfm.2012.84.
25. Rouchaud A, Ramana C, Brinjikji W, et al. Wall apposition is a key factor for aneurysm occlusion after flow diversion: a histologic evaluation in 41 rabbits. *AJNR Am J Neuroradiol*. 2016;37(11):2087–2091. doi: 10.3174/ajnr.A4848.
26. Kadirvel R, Ding YH, Dai DY, et al. Cellular mechanisms of aneurysm occlusion after treatment with a flow diverter. *Radiology*. 2014;270(2):394–399. doi: 10.1148/radiol.13130796.

### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Бывальцев Вадим Анатольевич**, доктор медицинских наук, профессор, главный нейрохирург Дирекции здравоохранения ОАО «РЖД»; руководитель Центра нейрохирургии Дорожной клинической больницы на ст. Иркутск-Пассажирский ОАО «РЖД-Медицина»; заведующий курсом нейрохирургии Иркутского государственного медицинского университета; заведующий научно-клиническим отделом нейрохирургии и ортопедии Иркутского научного центра хирургии и травматологии; профессор кафедры травматологии, ортопедии и нейрохирургии Иркутской государственной медицинской академии последипломного образования  
**Адрес:** 664082, Иркутск, ул. Боткина, д. 10, **тел.:** +7 (3952) 63-85-28, **e-mail:** byval75vadim@yandex.ru,  
**SPIN-код:** 5996-6477, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0003-4349-7101>

**Махамбетов Ербол Таргынвич**, кандидат медицинских наук, заведующий отделением сосудистой и функциональной нейрохирургии Национального центра нейрохирургии г. Астаны  
**Адрес:** 010000, Казахстан, Астана, проспект Туран, д. 34, **тел.:** +7 (7172) 62-11-00, **e-mail:** yermakh@gmail.com, **ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-7451-8756>

**Степанов Иван Андреевич**, аспирант курса нейрохирургии Иркутского государственного медицинского университета  
**Адрес:** 664003, Иркутск, ул. Красного Восстания, д. 14, **тел.:** +7 (3952) 63-88-30, **e-mail:** edmoilers@mail.ru, **SPIN-код:** 5485-5316,  
**ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-9039-9147>

**Асылбек Калиев Бактбекович**, врач-нейрохирург отделения сосудистой и функциональной нейрохирургии Национального центра нейрохирургии г. Астаны  
**Адрес:** 010000, Казахстан, Астана, проспект Туран, д. 34, **тел.:** +7 (7172) 62-11-00, **e-mail:** Asylbek.Kaliyev@nmh.kz, **ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-9039-85673>

**Серик Куандыкович Акишулаков**, доктор медицинских наук, профессор, академик Национальной академии наук Казахстана, председатель правления Национального центра нейрохирургии г. Астаны, главный внештатный нейрохирург Казахстана  
**Адрес:** 010000, Казахстан, Астана, проспект Туран, д. 34, **тел.:** +7 (7172) 62-11-00, **e-mail:** neuroclinic@nmh.kz,  
**ORCID:** <http://orcid.org/0000-0001-9039-85673>



DOI: 10.15690/vramn942

Е.Л. Атькова, Н.Н. Краховецкий, В.Д. Ярцев, А.М. Суббот,  
А.Н. Габашвили, Д.А. Рейн, Т.В. Нестерова

Научно-исследовательский институт глазных болезней, Москва, Российская Федерация

# Изучение антифибротических свойств препарата пирфенидон на клеточной культуре фибробластов слизистой оболочки полости носа

**Обоснование.** Одной из основных причин неудачи в хирургическом лечении дакриоцистита является рубцовое заращение дакриостомы — соустья между слезным мешком и полостью носа. Несмотря на наличие большого количества предложенных средств и методик профилактики этого явления, литературные данные свидетельствуют об отсутствии надежных методов, позволяющих предотвратить рубцевание дакриостомы в послеоперационном периоде, что обуславливает необходимость продолжения исследований в данном направлении. **Цель исследования** — изучение антифибротических свойств препарата пирфенидон на клеточной культуре фибробластов слизистой оболочки полости носа. **Методы.** Клетки для культуры фибробластов слизистой оболочки полости носа были получены у 3 пациентов во время эндоназальной эндоскопической дакриоцисторинотомии. Токсичность препарата в концентрациях от 0,01 до 0,5 мг/мл была исследована при помощи теста с MTS-реагентом. Ингибирующий эффект пирфенидона на миграцию фибробластов оценивали на основе модели раны монослоя для концентраций 0,15 и 0,3 мг/мл. **Результаты.** В настоящем исследовании пирфенидон оказывал выраженный дозозависимый эффект на миграцию фибробластов без выраженной цитотоксичности. По данным MTS-теста, количество жизнеспособных клеток после 48 ч инкубации с различными концентрациями препарата не опускалась ниже 80%. В контрольной группе после 24 ч инкубации восстановление клеточного монослоя произошло практически полностью (на  $84,88 \pm 4,80\%$ ). В опытных лунках, в которые был добавлен препарат, монослой практически не восстановился. Рост монослоя в группах с добавлением 0,15 мг/мл препарата составил  $8,26 \pm 6,09\%$ . При концентрации препарата 0,3 мг/мл произошло увеличение ширины поврежденного участка на 2,10%. Различия между группами были статистически достоверными ( $p=0,001$ ). **Заключение.** Результаты настоящего исследования свидетельствуют о высокой антифибротической эффективности препарата пирфенидон, не связанной с цитотоксическим эффектом. Тем не менее, несмотря на невысокую токсичность препарата, по данным этого и других исследований *in vitro*, вывод о целесообразности и безопасности применения препарата в профилактике заращения соустья после дакриоцисторинотомии возможно сделать только на основании исследования *in vivo*.

**Ключевые слова:** пирфенидон, клеточная культура, дакриоцисторинотомия, дакриология, антифибротическая терапия.

**(Для цитирования:** Атькова Е.Л., Краховецкий Н.Н., Ярцев В.Д., Суббот А.М., Габашвили А.Н., Рейн Д.А., Нестерова Т.В. Изучение антифибротических свойств препарата пирфенидон на клеточной культуре фибробластов слизистой оболочки полости носа. Вестник РАМН. 2018;73(1):23–29. doi: 10.15690/vramn942)

23

E.L. At'kova, N.N. Krahoveckij, V.D. Yartsev, A.M. Subbot, A.N. Gabashvili, D.A. Rein, T.V. Nesterova

Research Institute of Eye Disease, Moscow, Russian Federation

## Evaluation of Antifibrotic Effect of Pirfenidone on Cultured Human Nasal Mucosa Fibroblasts

**Background:** One of the main reasons for failure of surgical treatment of primary acquired nasolacrimal duct obstruction is excessive postoperative scarring of the dacryostomy. Despite the variety of procedures designed to prevent this, conflicting evidence of their efficacy and safety provide incentive for further research of adjunctive therapy with antifibrotic agents in dacryocystorhinostomy. **Aims:** To evaluate the antifibrotic effect of pirfenidone on cultured human nasal mucosa fibroblasts. **Materials and methods:** Samples for cultured human nasal mucosa fibroblasts were obtained from 3 consecutive patients during the endonasal endoscopic dacryocystorhinostomy. Cell viability following treatment with pirfenidone was evaluated using MTS-assay. Induced inhibition of cell proliferation and migration was determined by scratch wound assay. **Results:** In this study pirfenidone exhibited a significant dose-dependent inhibiting effect on fibroblast proliferation with insignificant cell toxicity. Cell viability after 48 hours of incubation with various pirfenidone concentrations did not drop below 80%. The recovery of the fibroblast monolayer assessed after 24 hours of incubation was 84.88 and 8.26% in the control group, at a drug concentration of 0.15 mg/ml. Cell proliferation and migration was severely inhibited in cell culture specimens treated with pirfenidone compared to controls. The difference between groups was statistically significant ( $p=0.001$ ). **Conclusions:** In our study pirfenidone demonstrated a pronounced antifibrotic effect. It is unlikely that inhibition of proliferation and migration of human nasal mucosa fibroblasts is mediated by cell toxicity of this medication as it was evaluated as low. Nonetheless, an *in vitro* analysis is insufficient to assess the efficacy and safety of pirfenidone in preventing cicatrix formation following dacryocystorhinostomy.

**Key words:** Cell Differentiation/drug effects; Cell Migration Inhibition; Cell Movement/drug effects; Cells, Cultured; Dacryocystorhinostomy; Dose-Response Relationship, Drug; Fibroblasts/drug effects; Fibroblasts/physiology; Humans; Nasal Mucosa/cytology; Pyridones/administration and usage; Pyridones/therapeutic use; Pyridones/toxicity.

**(For citation:** At'kova EL, Krahoveckij NN, Yartsev VD, Subbot AM, Gabashvili AN, Rein DA, Nesterova TV. Evaluation of Antifibrotic Effect of Pirfenidone on Cultured Human Nasal Mucosa Fibroblasts. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2018;73(1):23–29. doi: 10.15690/vramn942)

## Обоснование

Дакриоцисториностомия — операция, широко используемая для лечения хронического дакриоцистита, вызванного облитерацией носослезного протока. Вмешательство предполагает создание соустья — дакриостомы — между полостью слезного мешка и областью среднего носового хода, обеспечивающего отток слезной жидкости в обход облитерированной части слезоотводящих путей. В настоящее время многие хирурги отдают предпочтение эндоскопической эндоназальной дакриоцисториностомии. По литературным данным, доля успешных исходов операции составляет более 88% [1, 2]. Одной из основных причин неудачи является избыточное образование рубцовой ткани в области дакриостомы, что приводит к закрытию ее просвета и рецидиву заболевания [3]. Предложены различные способы предотвращения данного исхода: модификации техники выполнения операции [4–6], интубация дакриостомы силиконовыми имплантатами [7–9], применение различных медикаментозных средств [10, 11].

Однако данные литературных источников свидетельствуют, что надежных методов профилактики зарастания дакриостомы в современной дакриологии не существует, что обуславливает необходимость поиска новых методов, направленных на предупреждение рубцевания вновь созданного соустья [6, 9, 11].

Пирфенидон — низкомолекулярный препарат, примененный впервые для терапии идиопатического легочного фиброза, показал хороший клинический эффект [12, 13]. По данным исследований, действие пирфенидона основано на угнетении синтеза ряда цитокинов и факторов роста, ответственных за индукцию процесса фиброза [14, 15]. В 2009 г. X. Lin с соавт. [16] испытали препарат на культуре клеток фибробластов теноновой капсулы и показали его выраженный антифибротический эффект. T. Stahnke с соавт. [17] изучили воздействие пирфенидона на два подтипа фибробластов орбиты — фибробласты теноновой капсулы и орбитальной клетчатки. Авторы отметили выраженный антипролиферативный эффект препарата на эти подтипы клеток. В экспериментальной модели антиглаукомной операции, выполненной на кроликах, препарат продемонстрировал аналогичный эффект, уменьшив явления послеоперационного рубцевания в области фильтрационной подушки [18]. Исследований, направленных на изучение эффективности применения пирфенидона для профилактики неблагоприятного исхода эндоскопической эндоназальной дакриоцисториностомии, опубликовано не было.

**Цель исследования** — изучение антифибротических свойств препарата пирфенидон на клеточной культуре фибробластов слизистой оболочки полости носа.

## Методы

### Дизайн исследования

Проведено доклиническое экспериментальное исследование на клеточной культуре по оценке свойств лекарственного препарата.

### Критерии соответствия

Объектом настоящего исследования явилась клеточная культура фибробластов слизистой оболочки полости носа, полученных методом эксплантного культивирования и положительных по специфическим маркерам, — CD90 и Vimentin.

Образцы слизистой оболочки полости носа были получены у трех случайных пациентов во время эндоскопической эндоназальной дакриоцисториностомии по поводу дакриоцистита. Критериями исключения пациентов из исследования являлись патология полости носа, требующая лечения; новообразования полости носа, околоносовых пазух, слезоотводящих путей.

### Условия проведения

Забор материала и работа с клеточной культурой были проведены на базе ФГБНУ «НИИ глазных болезней» (Москва, Российская Федерация).

### Продолжительность исследования

Исследование было проведено в течение 2017 г.

### Протокол исследования

Образцы слизистой оболочки полости носа получали у 3 пациентов во время эндоназальной эндоскопической дакриоцисториностомии, выполняемой по поводу дакриоцистита, подтвержденного данными анамнеза, промывания слезных путей и мультиспиральной компьютерной томографии. Образец ткани измельчали при помощи хирургического скальпеля до получения фрагментов размером 2×2 мм. Фрагменты помещали в чашки Петри (Corning Inc., США) с площадью ростовой поверхности 10 см<sup>2</sup> и культивировали в ростовой среде Gibco DMEM (Thermo Fisher Scientific, США) с добавлением антибиотиков (пенициллин 100 ед/мл; стрептомицин 100 мкг/мл, Thermo Fisher Scientific, США), 2 мМ GlutaMax (Thermo Fisher Scientific, США) и 10% фетальной сыворотки теленка (HyClone, США) во влажной атмосфере при температуре 37 °С и 5% содержания CO<sub>2</sub>. На 5-е сут культивирования клетки начинали мигрировать из фрагментов ткани на пластик. Спустя 14 сут культивирования эксплантаты удаляли, диссоциировали клетки при помощи 0,05% раствора Trypsin-EDTA (Thermo Fisher Scientific, США) и осуществляли пассаж с коэффициентом рассева 1:4.

Наблюдение за ростом клеток и оценку их морфологии осуществляли на инвертированном микроскопе Zeiss Axio Vert.A1 (Carl Zeiss AG, ФРГ).

Для характеристики полученной клеточной культуры проводили окрашивание на специфические маркеры фибробластов — виментин и CD90. Для окраски на виментин клетки рассеивали на чашки Петри для конфокальной микроскопии (5×10<sup>3</sup> клеток на чашку). При достижении клетками 50% монослоя их фиксировали 4% параформальдегидом (10 мин при температуре 4 °С). После трехкратной промывки натрий-фосфатным буферным раствором (Phosphate buffered saline, PBS) клетки инкубировали в течение 30 мин при комнатной температуре в PBS, содержащем 0,2% Tween 20, 0,2% Triton X-100, 2% сыворотки крови козы. После этого клетки инкубировали с раствором первичных антител к виментину (Abscam plc, США) в разведении 1:40 в PBS с 0,2% Tween 20, 0,2% Triton X-100 и 0,2% сывороткой крови козы (1 ч при 37 °С). Затем клетки три раза промывали PBS, вносили вторичные антитела к иммуноглобулинам мыши Goat anti-Mouse Alexa Fluor 555 в разведении 1:750 (Thermo Fisher Scientific, США) и инкубировали 1 ч при 37 °С. После трехкратной промывки PBS докрасивали ядра клеток с помощью 1:400 DAPI (Thermo Fisher Scientific, США). Для визуализации CD90 клетки выращивали и фиксировали по аналогичному протоколу. Клетки инкубировали (10 мин при температуре 4 °С) с 1:11 раствором первично меченых антител против CD90 (Miltenyi Biotec, ФРГ),

несущих флуоресцентную метку phycoerythrin (Ex-Max 496 nm/Em-Max 578 nm).

Сканирование проводили с помощью конфокального лазерного сканирующего микроскопа Nikon A1R MP+ (Nikon Corporation, Япония). В исследовании использовали лазеры с эмиссией 405, 488, 561 и 638 нм. Используемая оптика: Plan Apo 20X/0,75 Dic N, Apo IR 60X/1,27 WI и Apo TIRF 60X/1,49 oil Dic объективы. Обработку полученных изображений проводили с помощью программного обеспечения NIS-Elements (Nikon Corporation, Япония).

В эксперименте была использована порошковая форма препарата пирфенидон, предоставленная компанией-производителем (5-метил-1-фенил-2-(1H)-пиридон, P2116-10MG, Sigma-Aldrich Co. LLC). Для получения отдельных концентраций препарат разводили в ростовой среде Gibco DMEM.

Токсичность препарата определяли по результатам MTS-теста (способности живых метаболически активных клеток переводить соль тетразолина в формазан, растворимый в среде культивирования). В работе использовали набор CellTiter 96 Aqueous One Solution Reagent (Promega Corporation, США). Исследование выполняли согласно протоколу, предоставленному фирмой-производителем реагента (Promega Corporation, США, протокол TB245). Клетки высаживали в лунки 96-луночного культурального планшета (по 2 тыс. клеток на лунку в 100 мкл ростовой среды Gibco DMEM) с добавлением антибиотиков (пенициллин 100 ед/мл, стрептомицин 100 мкг/мл), 2 mM GlutaMax и 10% фетальной сыворотки теленка. Через 24 ч культивирования в лунки вносили исследуемый препарат в концентрациях 0,01; 0,1; 0,2; 0,3 и 0,5 мг/мл. После 24 и 48 ч инкубации с препаратом в каждую лунку к 100 мкл ростовой среды добавляли 20 мкл MTS-реагента [3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-5-(3-карбоксиметоксифенил)-2-(4-сульфофенил)-2H-тетразолиум]. Положительным контролем служили лунки с клетками без препарата; в качестве бланка использовали лунки с ростовой средой. Планшет инкубировали в течение 4 ч при 37 °C во влажной атмосфере с 5% CO<sub>2</sub>. В качестве положительного контроля были приняты лунки с клетками без добавления препарата. Бланком служили лунки, не содержащие клеток и заполненные ростовой средой. Время экспозиция с MTS-реагентом составляло 4 ч при стандартных условиях. Оптическую плотность измеряли на планшетном анализаторе при λ=490 нм. Тест был поставлен в 3 повторах. Количество жизнеспособных клеток рассчитывалась по формуле:

$$\text{Количество живых клеток} = (A_o - A_\phi) / (A_k - A_\phi) \times 100\%,$$

где A<sub>o</sub> — среднее значение оптической в плотности в образце, A<sub>φ</sub> — в бланке, A<sub>k</sub> — в контроле.

На основании полученных значений проводили построение графика зависимости количества живых клеток от концентрации препарата.

Для оценки эффекта препарата пирфенидон на миграционную способность фибробластов слизистой оболочки полости носа была использована модель раны монослоя. Для этого осуществляли пассаж клеток в 6-луночный культуральный планшет до образования ими монослоя. Монослой повреждали с помощью наконечника для дозатора (до 10 мкл). Нарушение монослоя фотофиксировали с помощью инвертированного микроскопа при 10-кратном увеличении. Затем ростовую среду заменяли на содержащую препарат в концентрациях 0,15 и 0,3 мг/мл. В контрольную лунку препарат не вносили. Степень восстановления монослоя фиксировали через 24 ч инкубации клеток с препаратом.

## Исходы исследования

### Основной исход исследования

Данные о замедлении миграции клеток в модели раны монослоя клеточной культуры фибробластов слизистой оболочки полости носа под воздействием различных концентраций препарата пирфенидон и о жизнеспособности фибробластов слизистой оболочки полости носа после добавления различных концентраций препарата для оценки его цитотоксичности.

### Дополнительные исходы исследования

Не зарегистрированы.

### Анализ в подгруппах

Образцы клеточной культуры были разделены на контрольную группу, куда не добавляли препарат, и основную группу, где в ростовую среду добавляли различные концентрации препарата. Деление на подгруппы в основной группе осуществляли на основании концентраций препарата.

### Методы регистрации исходов

Для регистрации данных о токсичности препарата измеряли оптическую плотность клеток на планшетном анализаторе. Контроль за ростом клеточной культуры, а также миграцией и пролиферацией фибробластов осуществляли при помощи конфокального лазерного сканирующего микроскопа Nikon A1R MP+ (Nikon Corporation, Япония).

### Этическая экспертиза

Исследование проведено в соответствии с международными требованиями и российскими этическими принципами и нормами. Информированное добровольное согласие было получено у всех пациентов, предоставивших материал для культивирования клеток. Разрешение на проведение исследования получено у Локального этического комитета ФГБНУ «НИИ глазных болезней» (выписка из протокола № 6-10 от 03.03.2017).

### Статистический анализ

#### Принципы расчета размера выборки

Размер выборки предварительно не рассчитывался. Количество использованных образцов клеточной культуры в контрольной группе, а также каждой подгруппе основной группы составило 3.

#### Методы статистического анализа данных

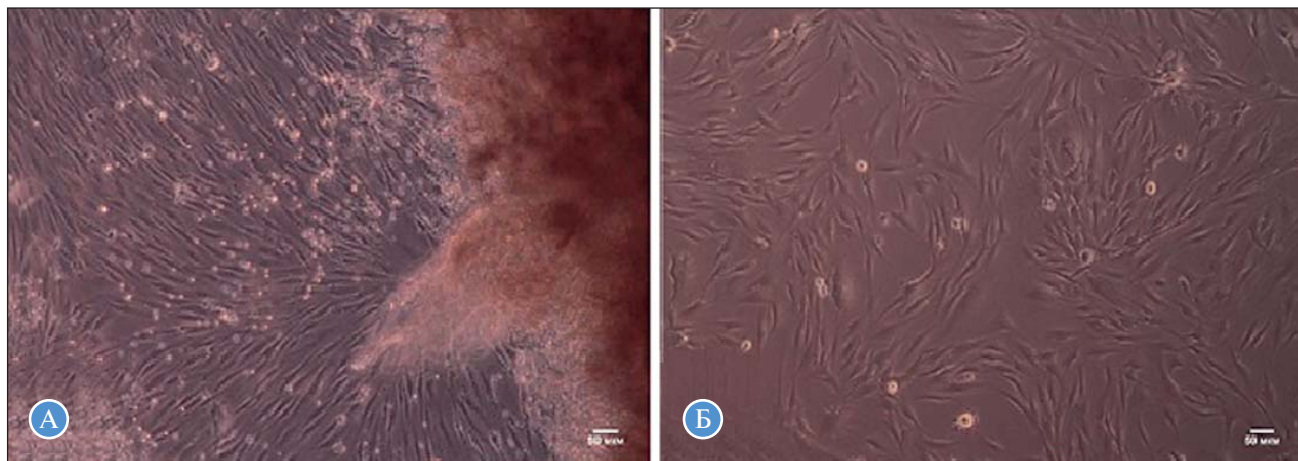
Статистический анализ полученных данных выполнен в пакете программ IBM SPSS Statistics v23 (IBM Corporation, США). Количественные данные представлены в виде средних значений (M) ± стандартное отклонение (SD). Для определения корреляционных зависимостей средних величин был использован коэффициент корреляции Пирсона. Статистические гипотезы принимали как значимые при p<0,05.

## Результаты

### Получение и характеристика культуры фибробластов

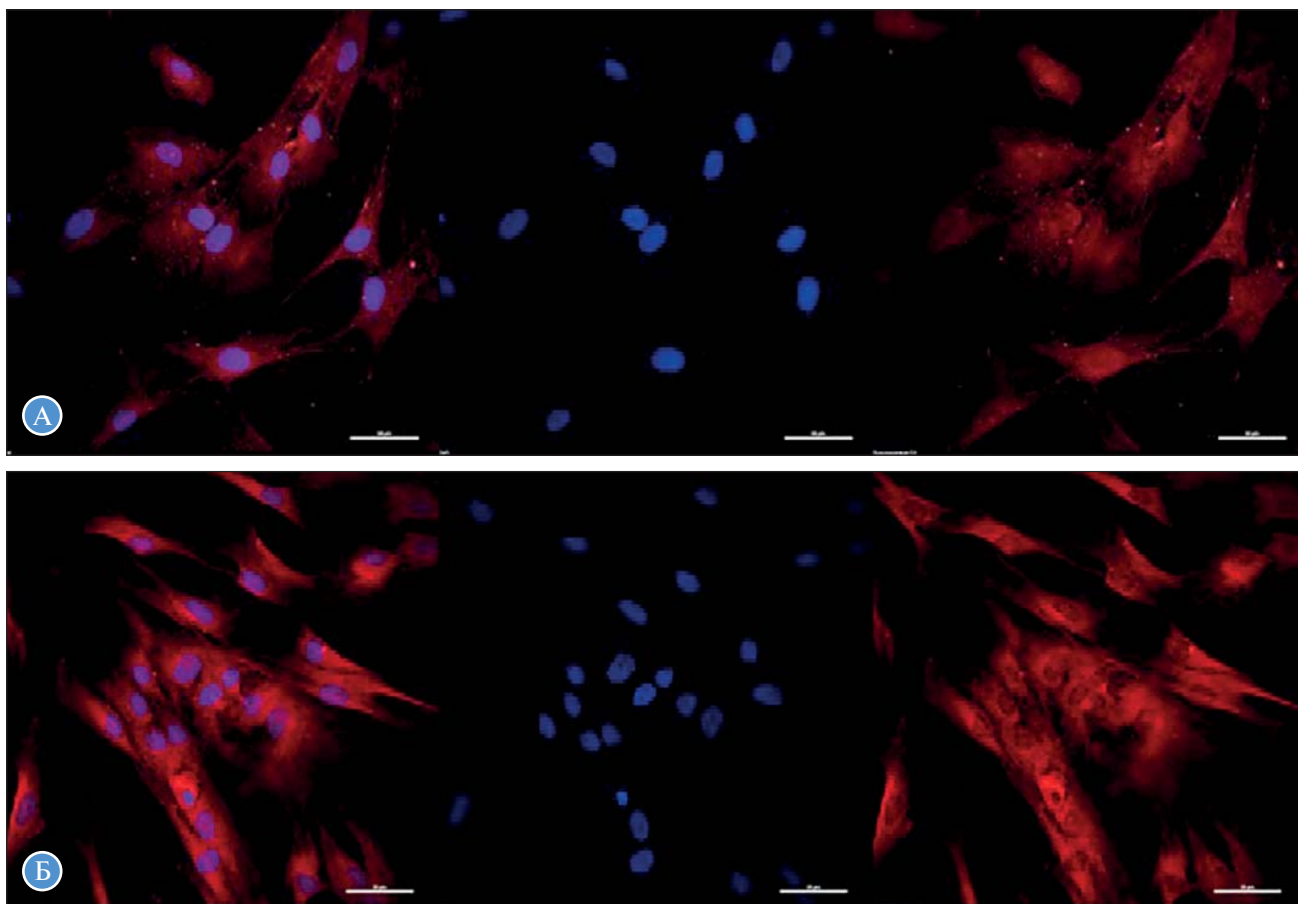
Фибробласты начинали мигрировать из эксплантатов и адгезироваться к пластику на 5-е сут культивирования; клетки имели характерную веретеновидную форму (рис. 1). Иммуноцитохимический анализ подтвердил, что полученные клетки экспрессируют специфические маркеры фибробластов — виментин и CD90 (рис. 2).





**Рис. 1.** Получение и характеристика культуры фибробластов

*Примечание.* Миграция фибробластов из эксплантатов (А), культура фибробластов на 1-м пассаже; эксплантаты удалены (Б). Фазово-контрастная микроскопия, Zeiss Axio Vert.A1. Отрезок: 50 мкм.



**Рис. 2.** Иммуноцитохимическое окрашивание CD90 и виментина в культуре фиксированных фибробластов

*Примечание.* А. Первично меченые антитела CD90-PE (Miltenyi Biotec, ФРГ) в разведении 1:11 для визуализации CD90 (красная флуоресценция). Б. Для визуализации виментина использовали 1:40 первичные моноклональные антитела против виментина (Abcam plc, США) и вторичные антитела против иммуноглобулинов мыши, конъюгированные с флуоресцентной меткой Alexa 555 в разведении 1:750 (Thermo Fisher Scientific, США) (красная флуоресценция). Ядра клеток окрашены 1:400 DAPI (Thermo Fisher Scientific, США) (синяя флуоресценция). Лазерная сканирующая конфокальная микроскопия (Nikon A1, Nikon Corporation, Япония). Отрезок: 50 мкм.

**Основные результаты исследования**

Было исследовано влияние двух концентраций препарата (0,15 и 0,3 мг/мл) на восстановление монослоя фибробластов после повреждения (рис. 3). В контрольной группе после 24 ч инкубации восстановление клеточного монослоя произошло практически полностью (на  $84,88 \pm 4,80\%$ ). В опытных лунках, в которые был добавлен препарат, монослой практически не восстановился. Рост

монослоя в группах с добавлением 0,15 мг/мл препарата составил  $8,26 \pm 6,09\%$ . При культивации с 0,3 мг/мл пирфенидона было отмечено незначительное увеличение ширины поврежденного участка монослоя, которое составило  $2,10 \pm 2,69\%$ . Изменение ширины поврежденного участка в каждой из групп статистически достоверно отличалось в сравнении с другими группами ( $p < 0,05$ ). Сравнительные данные о ширине поврежденного участка



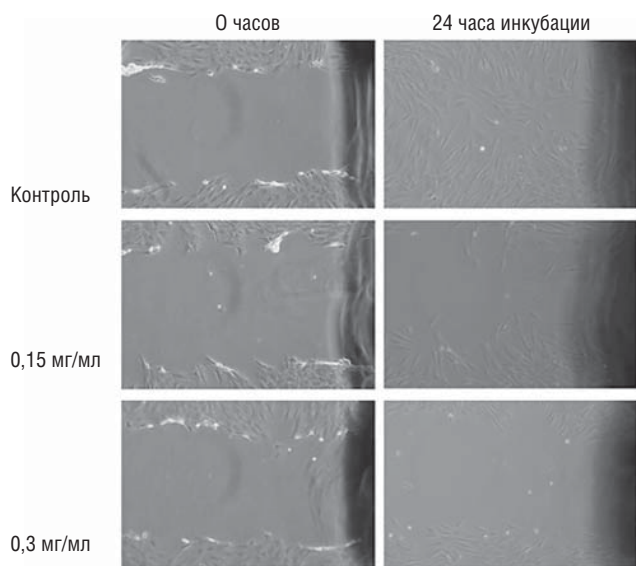


Рис. 3. Пирфенидон ингибирует восстановление монослоя фибробластов

через 24 ч культивирования с различными концентрациями препарата представлены на рис. 4.

Исследуемый препарат добавляли к клеткам в концентрациях 0,01; 0,1; 0,2; 0,3 и 0,5 мг/мл. Доля жизнеспособных клеток по истечении 24 ч инкубации при указанных концентрациях препарата составила 100; 97,1; 92,3; 85,7 и 76,4%, после 48 ч инкубации — 100; 86,1; 86,2; 88,4 и 81,1% соответственно. Зависимость процента погибших клеток от концентрации препарата представлена на рис. 5.

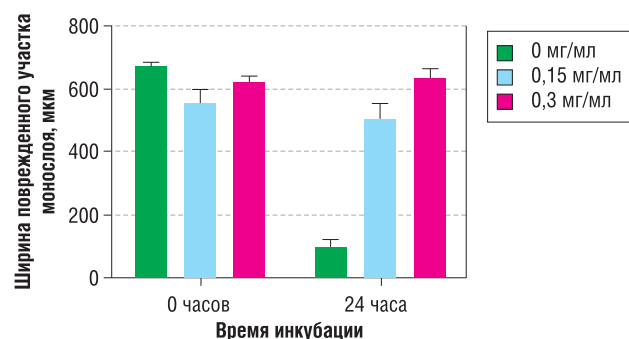


Рис. 4. Зависимость ширины поврежденного участка монослоя от концентрации препарата после 24 ч инкубации с клетками

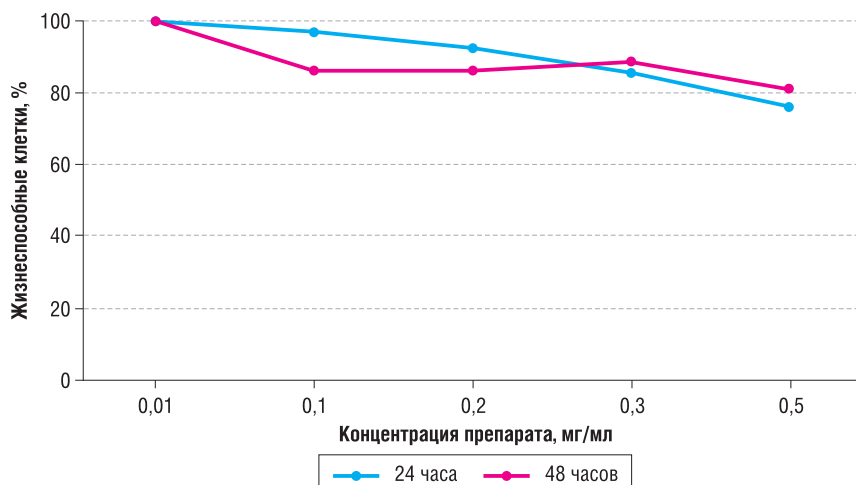


Рис. 5. Количество жизнеспособных клеток после инкубации с различными концентрациями препарата

Полученные результаты позволили сделать заключение, что исследуемый препарат обладает низкой степенью цитотоксичности.

#### Дополнительные результаты исследования

Не регистрировались.

#### Нежелательные явления

В процессе исследования нежелательных явлений не отмечено.

### Обсуждение

#### Резюме основного результата исследования

В настоящем исследовании нами был проведен анализ действия низкомолекулярного препарата пирфенидон на культуру фибробластов слизистой оболочки полости носа. Именно эти клетки, частично трансформируясь в миофибробласты, в значительной степени оказывают влияние на процесс заживления раны в этой области. Полученные данные свидетельствуют о дозозависимом влиянии пирфенидона на активность фибробластов слизистой оболочки полости носа в эксперименте.

#### Обсуждение основного результата исследования

Механизм действия пирфенидона на фибробласты остается невыясненным, однако, по данным литературы, предполагается, что препарат реализует свой антифибротический эффект посредством воздействия на сигнальные системы ряда цитокинов. Так, в эксперименте с индуцированным фиброзом легких у крыс, проведенном S. Yueg с соавт. [14], пирфенидон ингибировал гиперэкспрессию гена *TGF-β* (трансформирующий фактор роста β) — суперсемейства цитокинов, считающихся одними из основных медиаторов процесса фиброза. Аналогичные результаты получили X. Lin с соавт. [16] и T. Stahnke с соавт. [17], изучая эффект препарата на заживление экспериментальной раны в клеточной культуре фибробластов теноновой капсулы и фибробластов орбитальной клетчатки. В исследовании J. Wang с соавт. [19] препарат ингибировал миграцию клеток пигментного эпителия сетчатки, а также снижал уровень продукции фибронектина, фактора роста соединительной ткани, гладкомышечного актина α ( $\alpha$ -SMA) и TGF-β. Пирфенидон предотвращал развитие пролиферативной витреоретинопатии у кроликов после проникающего ранения глазного яблока, также снижая экспрессию

TGF- $\beta$  и  $\alpha$ -SMA [20]. Кроме того, J. Shin с соавт. [21] исследовали препарат на культуре фибробластов полости носа с аналогичными результатами.

В проведенном эксперименте препарат продемонстрировал ингибирующий эффект на миграцию фибробластов слизистой оболочки полости носа. На основании предварительного тестирования различных концентраций, а также данных других исследований эффективности пирфенидона на культуре клеток нами были выбраны для тестирования концентрации 0,15 и 0,3 мг/мл. По данным X. Lin с соавт. [16], меньшие концентрации препарата не оказывают значительного эффекта на пролиферацию фибробластов, в то время как дальнейшее увеличение концентрации сопряжено с увеличением цитотоксичности без дальнейшего увеличения ингибирующего эффекта. По нашему мнению, ингибирующий эффект препарата реализуется уже при концентрации 0,15 мг/мл, в то время как увеличение ширины поврежденного участка монослоя при концентрации препарата 0,3 мг/мл говорит о незначительном дополнительном токсическом эффекте такой концентрации.

По всей вероятности, ингибирующее действие пирфенидона на фибробласты не связано с цитотоксическим эффектом, так как в нашем эксперименте препарат показал низкую токсичность через 24 и 48 ч после добавления к клеточной культуре. Полученные данные позволяют говорить об относительной безопасности топического применения препарата. Кроме того, об этом может говорить низкая частота побочных эффектов, зафиксированная при клиническом испытании системного применения пирфенидона у больных идиопатическим легочным фиброзом [13].

#### Ограничения исследования

Несмотря на выраженный ингибирующий эффект пирфенидона на миграцию фибробластов в модели раны монослоя клеточной культуры, полученных данных недостаточно для заключения о безопасности и эффективности применения препарата с целью предотвращения

рубцевания дакриостомы. Хотя полученные данные свидетельствуют о низкой токсичности препарата, его возможные побочные действия на организм при таком способе применения также остаются невыясненными. Для формирования выводов о возможных побочных эффектах препарата, а также целесообразности его применения в дакриологии необходимо исследование на экспериментальной модели оперативного вмешательства *in vivo* на лабораторных животных.

#### Заключение

Имеющиеся способы предотвращения рубцового заращения дакриостомы, по данным литературы, не обладают достаточной эффективностью. В настоящем исследовании нами был испытан препарат пирфенидон, обладающий высокой эффективностью в лечении ряда заболеваний, в основе патогенеза которых лежит процесс фиброза. Полученные данные позволяют говорить о высокой эффективности антифибротического действия пирфенидона на фибробласты слизистой оболочки полости носа в лабораторном эксперименте *ex vivo*. Целесообразно продолжение исследования препарата *in vivo* на лабораторных животных.

#### Источник финансирования

Исследование выполнено в рамках темы НИР 0511-2014-0025 «Инновационные диагностические и лечебные технологии в дакриологии» за счет средств федерального бюджета.

#### Конфликт интересов

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

#### ЛИТЕРАТУРА

- Liang J, Hur K, Merbs SL, Lane AP. Surgical and anatomic considerations in endoscopic revision of failed external dacryocystorhinostomy. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2014;150(5):901–905. doi: 10.1177/0194599814524700.
- Balikoglu-Yilmaz M, Yilmaz T, Taskin U, et al. Prospective comparison of 3 dacryocystorhinostomy surgeries: external versus endoscopic versus transcanalicular multidiode laser. *Ophthal Plast Reconstr Surg.* 2015;31(1):13–18. doi: 10.1097/Iop.000000000000159.
- Dave TV, Mohammed FA, Ali MJ, Naik MN. Etiologic analysis of 100 anatomically failed dacryocystorhinostomies. *Clin Ophthalmol.* 2016;10:1419–1422. doi: 10.2147/Oph.S113733.
- Marcet MM, Kuk AK, Phelps PO. Evidence-based review of surgical practices in endoscopic endonasal dacryocystorhinostomy for primary acquired nasolacrimal duct obstruction and other new indications. *Curr Opin Ophthalmol.* 2014;25(5):443–448. doi: 10.1097/Icu.000000000000084.
- Dirim B, Sendul SY, Demir M, et al. Comparison of modifications in flap anastomosis patterns and skin incision types for external dacryocystorhinostomy: anterior-only flap anastomosis with w skin incision versus anterior and posterior flap anastomosis with linear skin incision. *ScientificWorldJournal.* 2015;2015:170841. doi: 10.1155/2015/170841.
- Kansu L, Aydin E, Avci S, et al. Comparison of surgical outcomes of endonasal dacryocystorhinostomy with or without mucosal flaps. *Auris Nasus Larynx.* 2009;36(5):555–559. doi: 10.1016/j.anl.2009.01.005.
- Gibbs DC. New probe for the intubation of lacrimal canaliculi with silicone rubber tubing. *Br J Ophthalmol.* 1967;51(3):198. doi: 10.1136/bjo.51.3.198.
- Chong KK, Lai FH, Ho M, et al. Randomized trial on silicone intubation in endoscopic mechanical dacryocystorhinostomy (SEND) for primary nasolacrimal duct obstruction. *Ophthalmology.* 2013;120(10):2139–2145. doi: 10.1016/j.ophtha.2013.02.036.
- Xie C, Zhang L, Liu Y, et al. Comparing the success rate of dacryocystorhinostomy with and without silicone intubation: a trial sequential analysis of randomized control trials. *Sci Rep.* 2017;7(1):1936. doi: 10.1038/s41598-017-02070-y.
- Zilelioglu G, Ugurbas SH, Anadolu Y, et al. Adjunctive use of mitomycin C on endoscopic lacrimal surgery. *Br J Ophthalmol.* 1998;82(1):63–66.
- Xue K, Mellington FE, Norris JH. Meta-analysis of the adjunctive use of mitomycin C in primary and revision, external and endonasal dacryocystorhinostomy. *Orbit.* 2014;33(4):239–244. doi: 10.3109/01676830.2013.871297.
- Meyer KC, Decker CA. Role of pirfenidone in the management of pulmonary fibrosis. *Ther Clin Risk Manag.* 2017;13:427–437. doi: 10.2147/TCRM.S81141.

13. King TE, Jr., Bradford WZ, Castro-Bernardini S, et al. A phase 3 trial of pirfenidone in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *N Engl J Med.* 2014;370(22):2083–2092. doi: 10.1056/NEJMoa1402582.
14. Iyer SN, Gurujeyalakshmi G, Giri SN. Effects of pirfenidone on transforming growth factor-beta gene expression at the transcriptional level in bleomycin hamster model of lung fibrosis. *J Pharmacol Exp Ther.* 1999;291(1):367–373.
15. Gurujeyalakshmi G, Hollinger MA, Giri SN. Pirfenidone inhibits PDGF isoforms in bleomycin hamster model of lung fibrosis at the translational level. *Am J Physiol.* 1999;276(2 Pt 1):L311–L318.
16. Lin X, Yu M, Wu K, et al. Effects of pirfenidone on proliferation, migration, and collagen contraction of human tenon's fibroblasts in vitro. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2009;50(8):3763–3770. doi: 10.1167/iops.08-2815.
17. Stahnke T, Kowtharapu BS, Stachs O, et al. Suppression of TGF-beta pathway by pirfenidone decreases extracellular matrix deposition in ocular fibroblasts in vitro. *PLoS One.* 2017;12(2):e0172592. doi: 10.1371/journal.pone.0172592.
18. Zhong H, Sun GY, Lin XC, et al. Evaluation of pirfenidone as a new postoperative anticarring agent in experimental glaucoma surgery. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011;52(6):3136–3142. doi: 10.1167/iops.10-6240.
19. Wang J, Yang YF, Xu JG, et al. Pirfenidone inhibits migration, differentiation, and proliferation of human retinal pigment epithelial cells in vitro. *Mol Vis.* 2013;19:2626–2635.
20. Khanum BN, Guha R, Sur VP, et al. Pirfenidone inhibits post-traumatic proliferative vitreoretinopathy. *Eye (Lond).* 2017;31(9):1317–1328. doi: 10.1038/eye.2017.21.
21. Shin JM, Park JH, Park IH, Lee HM. Pirfenidone inhibits transforming growth factor beta 1-induced extracellular matrix production in nasal polyp-derived fibroblasts. *Am J Rhinol Allergy.* 2015;29(6):408–413. doi: 10.2500/ajra.2015.29.4221.

### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Атькова Евгения Львовна**, кандидат медицинских наук, заведующая отделением патологии слезного аппарата ФГБНУ «НИИ глазных болезней»

Адрес: 119021, Москва, ул. Россолимо, д. 11, кор. А, Б; тел.: +7 (499) 245-33-05, e-mail: evg.atkova@mail.ru, SPIN-код: 1186-4060, ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-9875-6217>

**Краховецкий Николай Николаевич**, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отделения патологии слезного аппарата ФГБНУ «НИИ глазных болезней»

Адрес: 119021, Москва, ул. Россолимо, д. 11, кор. А, Б; тел.: +7 (499) 245-33-05, e-mail: krahovetskiynn@mail.ru, SPIN-код: 8112-2018, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-3247-8418>

**Ярцев Василий Дмитриевич**, кандидат медицинских наук, научный сотрудник отделения патологии слезного аппарата ФГБНУ «НИИ глазных болезней»

Адрес: 119021, Москва, ул. Россолимо, д. 11, кор. А, Б; тел.: +7 (499) 245-33-05, e-mail: yartsew@ya.ru, SPIN-код: 4151-4946, ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-2990-8111>

**Суббот Анастасия Михайловна**, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории фундаментальных исследований в офтальмологии ФГБНУ «НИИ глазных болезней»

Адрес: 119021, Москва, ул. Россолимо, д. 11, кор. А, Б; тел.: +7 (499) 246-87-84, e-mail: kletkagb@gmail.com, SPIN-код: 3898-2570, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-8258-6011>

**Габашвили Анна Николаевна**, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории фундаментальных исследований в офтальмологии ФГБНУ «НИИ глазных болезней»

Адрес: 119021, Москва, ул. Россолимо, д. 11, кор. А, Б; тел.: +7 (499) 246-87-84, e-mail: gabashvili.anna@gmail.com, SPIN-код: 3427-6573, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-4251-3002>

**Рейн Денис Алексеевич**, аспирант отделения патологии слезного аппарата ФГБНУ «НИИ глазных болезней»

Адрес: 119021, Москва, ул. Россолимо, д. 11, кор. А, Б; тел.: +7 (499) 245-33-05, e-mail: illefarn@mail.ru, SPIN-код: 1131-6128, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-0868-3876>

**Нестерова Татьяна Владимировна**, лаборант-исследователь лаборатории фундаментальных исследований в офтальмологии ФГБНУ «НИИ глазных болезней»

Адрес: 119021, Москва, ул. Россолимо, д. 11, кор. А, Б; тел.: +7 (499) 246-87-84, e-mail: tanesta12@gmail.com, SPIN-код: 1901-6235, ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1799-1897>

Т.А. Морозова<sup>1</sup>, Т.З. Керимов<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва, Российская Федерация

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

## Оценка клинической эффективности мультифокальных интраокулярных линз.

### Критерии отбора пациентов для мультифокальной интраокулярной коррекции

Мультифокальная интраокулярная коррекция имеет ряд особенностей в сравнении с традиционной монофокальной. Требуется серьезного подхода отбор пациентов для лечения по данной методике; для достижения рефракции цели необходимы тщательная предоперационная диагностика и расчет оптической силы интраокулярных линз. В послеоперационном периоде возможны снижение контрастной чувствительности и развитие световых явлений, в ряде случаев требуется адаптация центральной нервной системы. Кроме того, линзы данного типа обладают высокой стоимостью. В клинических исследованиях чаще всего оценивается целый ряд показателей, на основании которых делается вывод об эффективности методики: функциональные результаты остроты зрения на различных дистанциях, кривые дефокуса, очковая независимость, дисфотопсии (световые явления), субъективная удовлетворенность, результаты пространственно-контрастной чувствительности, также проводится анализ данных aberрометрии. Дополнительно анализируются осложнения на фоне мультифокальных интраокулярных линз и причины экплантации. В данный обзор включено 36 исследований (34 клинических исследования и 2 метаанализа). В работе сообщается о функциональных результатах пространственно-контрастной чувствительности, приведены данные aberрометрии, содержатся сведения о влиянии диаметра зрачка на функциональный результат мультифокальной интраокулярной коррекции, об осложнениях на фоне мультифокальной коррекции и причинах экплантации, показаниях и противопоказаниях к мультифокальной интраокулярной коррекции, методах предоперационного скрининга и критериях отбора пациентов для данной технологии.

**Ключевые слова:** мультифокальные интраокулярные линзы, пространственно-контрастная чувствительность, aberрометрия, экплантация интраокулярных линз, критерии отбора пациентов.

(Для цитирования: Морозова Т.А., Керимов Т.З. Оценка клинической эффективности мультифокальных интраокулярных линз. Критерии отбора пациентов для мультифокальной интраокулярной коррекции. *Вестник РАМН*. 2018;73(1):30–39. doi: 10.15690/vramn924)

30

#### Функциональные результаты пространственно-контрастной чувствительности

В течение длительного временного периода в литературе появляются публикации о том, что на фоне мультифокальной коррекции происходит снижение контрастной

чувствительности, особенно на высоких пространственных частотах и в мезопических условиях. В ранних исследованиях R. Montés-Micó с соавт. [1] пришли к такому выводу путем сравнения показателей контрастной чувствительности после имплантации мультифокальных рефракционных (Array SA-40N, Allergan Medical Optics;

T.A. Morozova<sup>1</sup>, T.Z. Kerimov<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

<sup>2</sup> A.I. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russian Federation

### Multifocal Intraocular Lenses Clinical Assessment. Patient Selection for Multifocal Intraocular Correction

*There are some multifocal intraocular corrections particular qualities compared to monofocal correction. Therefore, the patient's careful selection, detail preoperative diagnosis, accurate intraocular lens power calculation are necessary to get the optimal clinical results. There are some disadvantages in the postoperative period, such as the contrast sensitivities reduction, dysphotopsia, neuroadaptation. In addition multifocal IOLs are expensive. The clinical studies include evaluating of visual acuity for different distances, defocus curve, spectacle independence, contrast sensitivity, aberrometry data. Additionally, complications after multifocal IOLs implantation and the reasons of explantation are analyzed. This review includes 36 articles (34 clinical studies and 2 meta-analysis) of the following aspects of multifocal intraocular correction: contrast sensitivity, aberrometry analysis, pupil influence on the visual outcomes, postoperative complications, analysis of explantation reasons, preoperative patient's selection for multifocal correction.*

**Key words:** multifocal intraocular lenses, contrast sensitivity, aberrometry, IOL's explantation, patient selection.

(For citation: Morozova TA, Kerimov TZ. Multifocal Intraocular Lenses Clinical Assessment, Patient Selection for Multifocal Intraocular Correction. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2018;73(1):30–39. doi: 10.15690/vramn924)



32 пациента, 32 глаза) и монофокальных (SI-40NB, Allergan Medical Optics; 32 пациента, 32 глаза) интраокулярных линз (ИОЛ). Схожие результаты получены в исследовании Н. Alió с соавт. [2]: проведя сравнение контрастной чувствительности после имплантации монофокальной (Acri. Smart 48S — группа А) и двух мультифокальных ИОЛ (рефракционно-дифракционной AcrySof ReSTOR SN6AD3 и дифракционной Acri.LISA366D — группы Б и В соответственно), авторы пришли к выводу о возможности снижения контрастной чувствительности на фоне мультифокальной коррекции по сравнению с монофокальной в фотопических и мезопических условиях освещенности.

Многие исследователи обращают внимание на сравнительный анализ контрастной чувствительности после имплантации мультифокальных и монофокальных ИОЛ.

В работе М. Packer с соавт. [3] проводился анализ контрастной чувствительности у пациентов после имплантации мультифокальной дифракционной линзы Tecnis ZM900 (Abbott Medical Optics — 244 глаза) и монофокальной линзы SeeOn 911A (Abbott Medical Optics — 245 глаз). По результатам анализа контрастной чувствительности на всех исследованных пространственных частотах (1,5; 3,0; 6,0; 12,0; 18,0 цикл/град) в фотопических (85 кд/м<sup>2</sup>) и мезопических (3 кд/м<sup>2</sup>) условиях освещенности, с искусственно вызванным фотическим феноменом засвета (Glare) и без него пациенты с имплантированными мультифокальными ИОЛ обладали более низкой контрастной чувствительностью, чем пациенты с имплантированными монофокальными ИОЛ, однако данное отличие не являлось статистически значимым ни в одном из созданных условий. Аналогичное отсутствие статистически значимой разницы в пространственной контрастной чувствительности между мультифокальными (Aragau SA-40N, Allergan Medical Optics) и монофокальными ИОЛ сообщается в более раннем исследовании [4].

В работе W. Lubiński с соавт. [5], в которой 20 пациентам (40 глаз) имплантировали мультифокальную дифракционную ИОЛ Acri.Lisa 366D, была выполнена оценка послеоперационных значений контрастной чувствительности и проведено сравнение полученных данных с возрастными нормами в популяции. По результатам исследования авторы пришли к выводу, что полученные значения контрастной чувствительности после имплантации мультифокальных ИОЛ не выходили за рамки возрастных норм.

Позднее W. Lubiński с соавт. [6] в исследовании контрастной чувствительности после фактоэмульсификации катаракты с имплантацией мультифокальной дифракционной ИОЛ Tecnis ZMB00 (20 пациентов, 40 глаз) также пришли к выводу, что уровень контрастной чувствительности у пациентов спустя 6 мес после проведенной имплантации сохраняется в пределах возрастных норм в различных условиях освещенности (рис. 1, 2).

В случае имплантации ИОЛ с градиентной оптикой (Градиол) показатели контрастной чувствительности, исследованные на приборе Ортес 6500, имели максимальные значения в области средних частот и снижались в области высоких частот. В фотопических условиях отмечалось умеренное снижение контрастной чувствительности на низких и высоких пространственных частотах. В мезопических условиях отмечается более выраженное снижение контрастной чувствительности с положительной динамикой в течение года наблюдения [7] (рис. 3, 4).

В метаанализе Е. Rosen с соавт. [8] сообщается о 132 публикациях по изучению контрастной чувствительности, в 31 из которых сравнивали контрастную чувстви-

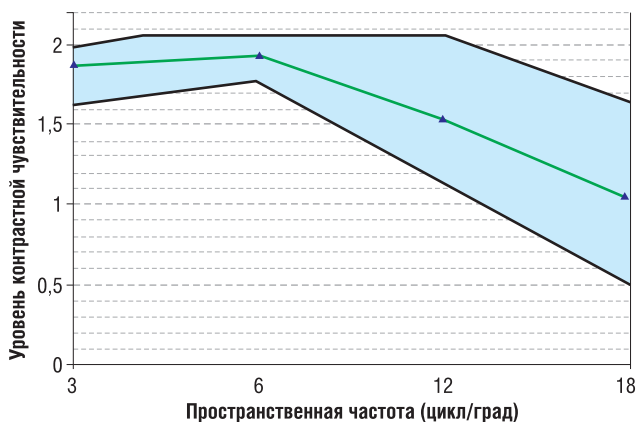


Рис. 1. Значения бинокулярной контрастной чувствительности на дальней дистанции в фотопических условиях освещенности (зеленая линия) с проекцией на возрастные нормы (зона графика, ограниченная черными линиями)

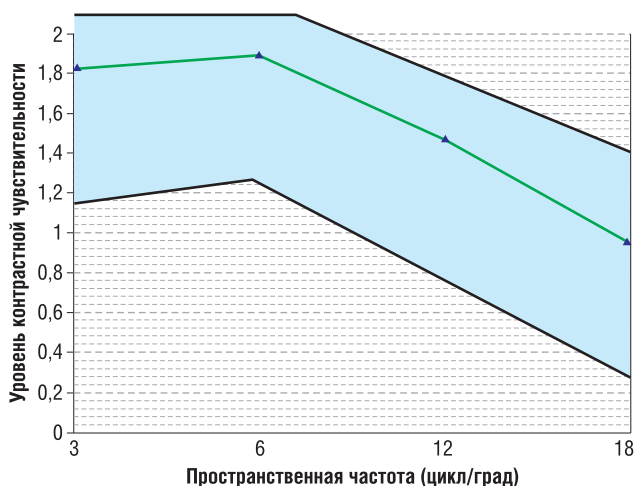


Рис. 2. Значения бинокулярной контрастной чувствительности на дальней дистанции в мезопических условиях освещенности (зеленая линия) с проекцией на возрастные нормы (зона графика, ограниченная черными линиями)

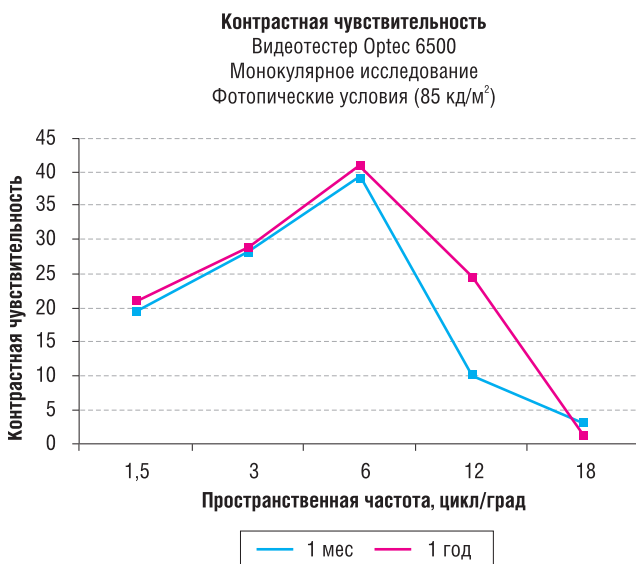
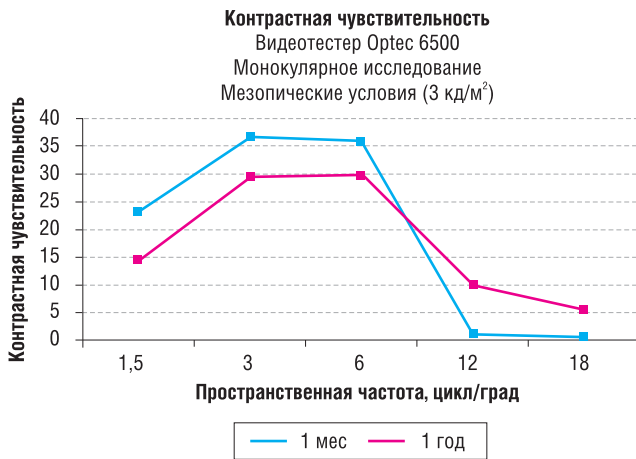


Рис. 3. Пространственно-контрастная чувствительность в фотопических условиях освещенности на фоне мультифокальных градиентных интраокулярных линз (Градиол)

Примечание. Монокулярное исследование на видеотестере Ортес 6500.



**Рис. 4.** Пространственно-контрастная чувствительность в мезопических условиях освещенности на фоне мультифокальных градиентных интраокулярных линз (Градиол)

*Примечание.* Монокулярное исследование на видеотестере Ортес 6500.

тельность после имплантации мультифокальных и монофокальных ИОЛ. По итогам проведенных исследований, авторы 11 из них не выявили существенных отличий в контрастной чувствительности на фоне мультифокальных и монофокальных ИОЛ, однако авторы остальных 20 публикаций отметили некоторое уменьшение контрастной чувствительности после имплантации мультифокальных интраокулярных линз на высоких пространственных частотах по сравнению с монофокальными ИОЛ. Тем не менее контрастная чувствительность всегда остается в пределах возрастных норм.

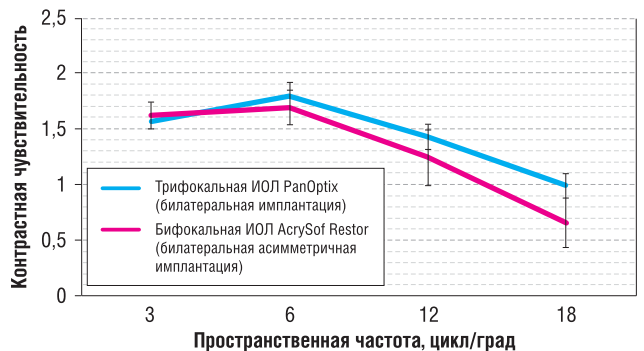
В исследовании J. Kim с соавт. [9] проведен анализ контрастной чувствительности в зависимости от использованной силы добавки мультифокальных дифракционных ИОЛ. Пациенты (43 пациента, 65 глаз) были разделены на 3 группы: первой группе (23 глаза) имплантировались мультифокальные ИОЛ с добавкой +2.75 дптр (ИОЛ Tecnis ZKB00), второй группе — +3.25 дптр (21 глаз, ИОЛ Tecnis ZLB00), третьей группе — +4.00 дптр (21 глаз, ИОЛ Tecnis ZMB00). Контрастная чувствительность была исследована на приборе Ортес 6500 в диапазоне пространственных частот от 1,5 до 18 цикл/град в фотопических (85 кандел/м<sup>2</sup>) и мезопических (3 кандел/м<sup>2</sup>) условиях освещенности с засветом и без него. Авторы исследования пришли к выводу, что контрастная чувствительность не имела статистически значимых отличий между группами.

На сегодняшний день крайне актуальными являются сравнительные исследования контрастной чувствительности бифокальных и трифокальных ИОЛ, поскольку длительный отрезок времени существовала объективная настороженность, что деление светового потока на три фокуса приведет к критическому снижению функции контрастной чувствительности и потере качества зрения. Современные исследования опровергают эту точку зрения.

В наиболее поздней работе С. Vilár с соавт. [10] сравнивались функциональные результаты 20 пациентов (40 глаз), полученные на фоне билатеральной имплантации трифокальной ИОЛ PanOptix TFNT00 (группа 1 — 20 глаз) и билатеральной асимметричной имплантации бифокальных ИОЛ Acrysof Restor SV25T0 (с аддидацией +2,5 дптр) в ведущий глаз и Acrysof Restor SN6AD1 (с аддидацией +3,0 дптр) в ведомый глаз (группа 2 — 20 глаз). По результатам исследования, в фотопических

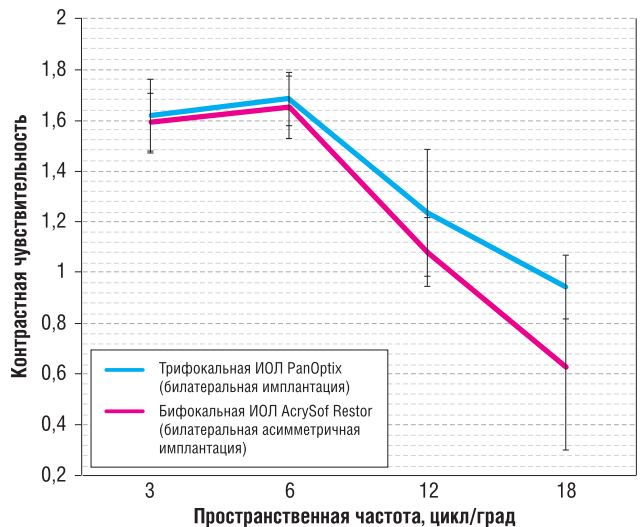
и мезопических условиях бинокулярная контрастная чувствительность на высоких пространственных частотах, как с засветом, так и без него, была лучше у пациентов с имплантированными трифокальными ИОЛ (рис. 5–8).

В исследовании 2016 г. А. Plaza-Puche и соавт. [11] ученые поставили перед собой задачу изучить контрастную чувствительность на фоне различных современных мультифокальных линз: трифокальной дифракционной ИОЛ AT LISA tri MP (группа А), трифокальной дифракционной ИОЛ FineVision (группа Б), бифокальной рефракционной ИОЛ Lentis Mplus-LS 313 (группа В), бифокальной дифракционной ИОЛ Acri.Lisa 366 D (группа Г), бифокальной рефракционно-дифракционной AcrySof ReSTOR SN6AD1 (группа Д), монофокальной сферической ИОЛ (группа Е, контрольная). Исследование контрастной чувствительности проводилось с помощью прибора ОРТЕС 6500 спустя 3 мес после операции с величиной освещения 85 и 3 кд/м<sup>2</sup>. Авторами не обнаружено отличий в контрастной чувствительности между группами на пространственных частотах 1,5; 3,0; 6,0; 12,0 цикл/град. Однако была обнаружена существенная разница между группами Д (AcrySof ReSTOR SN6AD1) и Е (монофокальная ИОЛ) при значении пространственной частоты 18 цикл/град с лучшими значениями в группе Е. Таким образом, ученые утверждают, что существенных отличий в контрастной чувствительности на фоне современных мультифокальных ИОЛ различных конструкций не выявлено, и что пациенты



**Рис. 5.** Показатели контрастной чувствительности в фотопических условиях без засвета

*Примечание.* ИОЛ — интраокулярная линза.



**Рис. 6.** Показатели контрастной чувствительности в фотопических условиях с засветом

*Примечание.* ИОЛ — интраокулярная линза.

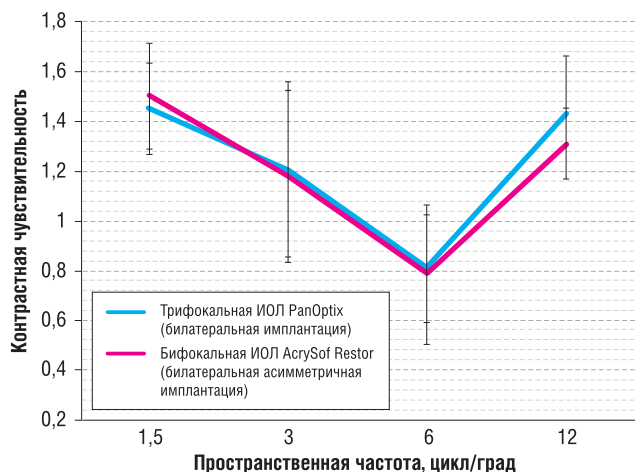


Рис. 7. Показатели контрастной чувствительности в мезопических условиях без засвета

Примечание. ИОЛ — интраокулярная линза.

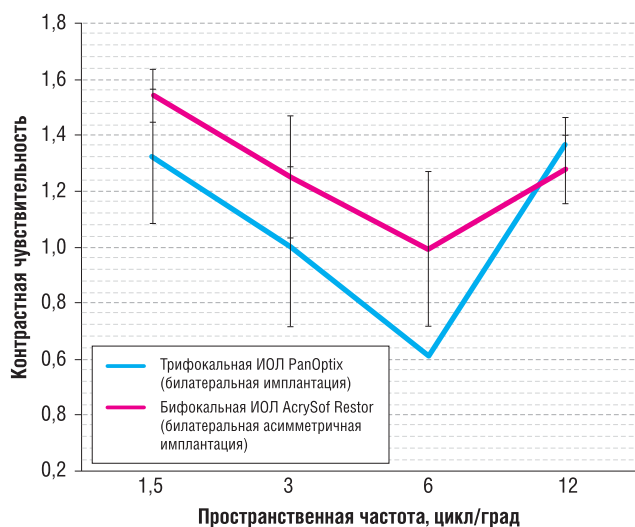


Рис. 8. Показатели контрастной чувствительности в мезопических условиях с засветом

Примечание. ИОЛ — интраокулярная линза.

после имплантации бифокальной дифракционной ИОЛ ReSTOR SN6AD1 показали очевидно худшие результаты значений контрастной чувствительности по сравнению с контрольной группой при высоких значениях пространственных частот. Аналогичные данные получены в исследовании В. Cochener [12], в котором путем анализа контрастной чувствительности на пространственных частотах 1,5; 3,0; 6,0; 12,0 цикл/град было доказано, что после имплантации трифокальной дифракционной ИОЛ FineVision и бифокальной дифракционной ИОЛ Tecnis ZMB00 пациенты обладают контрастной чувствительностью в пределах возрастных норм, при этом отсутствуют статистически значимые отличия в контрастной чувствительности на фоне засвета и без него в каждой из групп.

### Анализ данных aberromетрии

Исследований остроты зрения и контрастной чувствительности недостаточно для описания системы артификальных глаз, особенно на фоне мультифокальной коррекции. С целью более детального описания качества оптической системы применяется aberromетрия с до-

полнительным анализом функции передачи модуляции (MTF/ФПМ), представляющей собой частотно-контрастную характеристику, и функции рассеяния точки (PSF/ФРТ), описывающей зависимость распределения освещенности от координат в плоскости изображения [13]. Анализатор волнового фронта (aberromетр) широко используется с целью изолированного изучения воздействий aberраций низкого и высокого порядка и оценки вклада aberраций различного порядка в изменения оптической системы. С развитием систем, таких как *дабл-насс*, оптическое качество стало измеряться еще более точно. Система базируется на измерении записи изображений от точечного источника инфракрасного света после отражения на сетчатке и двойного прохождения через среды глаза. Клинически система *дабл-насс* предоставляет данные о качестве изображения на сетчатке (ФПМ, коэффициент Штреля, ФРТ, объективный показатель псевдоаккомодации), а также позволяет дать оценку качества и стабильности слезной пленки при наличии минимальных симптомов сухого глаза. В работе Н. Lee с соавт. [13] анализировалось влияние глазных aberраций на объективные параметры качества оптической системы артификального глаза после имплантации мультифокальной ИОЛ. С этой целью были использованы система *дабл-насс* и aberromетр с системой слежения. Результат показал существенную отрицательную корреляцию между параметром качества ретинального изображения (коэффициент Штреля) и суммарными aberрациями. Дополнительно была проведена оценка объема объективной псевдоаккомодации, которая до операции у пациентов в возрасте 46–55 лет составляла  $0,73 \pm 0,33$  дптр, а после имплантации этим пациентам мультифокальных ИОЛ (AcrySof IQ ReSTOR SN6AD1; 20 глаз, 20 пациентов) —  $1,55 \pm 0,64$  дптр.

В исследовании R. Montés-Micó с соавт. [14] изучались оптические свойства системы глаза после имплантации гибридной рефракционно-дифракционной ИОЛ AcrySof Restor SN6AD1 с добавкой +3,0 дптр и рефракционной ИОЛ с асимметричной оптикой Lentis Mplus LS-312 с добавкой +3,0 дптр, а также эффект, оказываемый наклоном и децентрацией ИОЛ. С этой целью была использована модель глаза. Произведено исследование функции передачи модуляции и функции рассеяния точки со зрачком 5 мм в пяти различных ситуациях положения ИОЛ: центрирована, децентрирована на 0,2 мм, децентрирована на 0,4 мм, наклонена на 2 градуса, наклонена на 4 градуса. По результатам исследования, наивысшие показатели функции передачи модуляции на всех пространственных частотах были получены на фоне рефракционно-дифракционной ИОЛ. Функция передачи модуляции ИОЛ AcrySof Restor SN6AD1 снижалась, когда линза была децентрирована или наклонена, показав лучшую устойчивость к наклону, чем к децентрации. В случае с ИОЛ Lentis Mplus LS-312 во время исследования ФПМ не было обнаружено отличий в данном параметре ни в одном из создаваемых условий. При анализе ФРТ на фоне гибридной ИОЛ было обнаружено, что данный параметр не имел существенных отличий в обоих создаваемых состояниях наклона по сравнению с центрированным положением. Однако параметр ФРТ был слегка снижен в случае децентрации как на 0,2 мм, так и на 0,4 мм. Параметр функции рассеяния точки на фоне ИОЛ Lentis Mplus LS-312 во всех случаях был одинаково снижен. Полученное распределение параметров демонстрировало немного лучшие показатели ФРТ в случае наклоненной ИОЛ (особенно при наклоне 4 градуса), чем в случае центрированного вертикального положения. В связи с этим была обнаружена выражен-



ная положительная связь между горизонтальной комой и углом наклона. Это означает, что высокие значения комы на фоне данной ИОЛ частично компенсировались индуцированным наклоном. На фоне обеих интраокулярных линз показатели имели различный разброс в каждой ситуации и, как следствие, разное качество оптики, которое связано с изменением ФПМ. Снижение в значениях показателя функции передачи модуляции и более плохие изображения со сниженным показателем ФРТ, вызванные наклоном и децентрацией, оказались выраженнее у рефракционной ИОЛ с асимметричной оптикой. Авторы пришли к выводу, что гибридные мультифокальные интраокулярные линзы предоставляют лучшее качество оптики, чем рефракционные ИОЛ с асимметричной оптикой. Наклон и децентрация оказывают существенное влияние на качество оптических характеристик на фоне исследованных типов мультифокальных интраокулярных линз, с большей степенью выраженности у рефракционных ИОЛ с асимметричной оптикой.

В исследовании Н. Tschah с соавт. [15] проанализированы aberrации высокого порядка на фоне имплантации мультифокальных рефракционных ИОЛ Lentis Mplus при диаметре зрачка 4 мм. Дополнительно анализировались угол каппа, диаметр зрачка, дистанция между центрами зрачка в фотопических и мезопических условиях и их влияние на развитие дисфотопсий. Выявлена корреляция между смещенным центром зрачка и развитием световых явлений, а также между предоперационным значением угла каппа и развитием световых явлений. Учеными была поставлена цель определить конкретные факторы, имеющие связь с фотическими феноменами у пациентов с имплантированными рефракционными мультифокальными ИОЛ. Для исследования были отобраны 34 пациента, которым выполнили монолатеральную факоэмульсификацию катаракты с имплантацией ИОЛ Lentis Mplus. По результатам исследования было подтверждено существенное влияние угла каппа и дистанции между центром зрачка в фотопических и мезопических условиях на развитие фотических феноменов в послеоперационном периоде. Дополнительная оценка aberrаций глаза на приборе OPD-scan позволила составить представление об aberrациях высокого порядка при диаметре зрачка 4 мм, показав наличие существенной суммарной aberrации, выраженных значений aberrации трефойла и комы (табл. 1).

В исследовании V. Akondi с соавт. [16] стандартная оценка aberrаций у пациентов с имплантированными асимметричными рефракционными ИОЛ (Lentis Mplus) приводит к выводу о наличии первичной вертикальной комы большой величины, которая объяснялась дизайном (внутренними свойствами) ИОЛ. Новый предлагаемый авторами метод анализа данных aberrометрии позволит дифференцировать влияние силы ИОЛ на перераспределение световых потоков от истинных aberrаций высокого

**Таблица 1.** Значения aberrаций высокого порядка после факоэмульсификации катаракты с имплантацией интраокулярных линз Lentis Mplus

Послеоперационные данные aberrаций высшего порядка	$X \pm S$ , среднее квадратичное отклонение, мкм
Суммарная	1,95±1,25
Кома	0,24±0,15
Трефойл	0,71±0,33
Сферическая	0,07±0,06
Коэффициент Штреля	0,013±0,02

порядка. Новый метод, который использует ретинальную точку, полученную от ближнего и дальнего фокуса, был протестирован с использованием симуляционной оптики в компьютерной модели глаза с виртуально имплантированной моделью ИОЛ Lentis Mplus. Полученные результаты свидетельствуют, что aberrации высокого порядка, измеренные с помощью симуляции на компьютере, и реальные диаграммы сетчатки совпадали с номинальными aberrациями (ориентировочно 98%) после предложенного метода. Ранее сообщаемая первичная вертикальная кома у пациентов с данным типом ИОЛ после применения предлагаемой методики потеряла свою актуальность. Ученым удалось сделать вывод, что имплантация ИОЛ данной конструкции не приводит к появлению вертикальной комы в послеоперационном периоде.

В метаанализе J. Liu с соавт. [17] сравниваются aberrации высокого порядка у мультифокальных ИОЛ сферического и асферического типа. Изучив международные компьютерные базы данных, авторы выбрали случаи имплантации различных моделей сферических (164 клинических случая) и асферических (178 клинических случаев) мультифокальных интраокулярных линз. Проведя данный анализ, группа ученых пришла к выводу, что глаза пациентов, которым имплантируются асферические модели мультифокальных ИОЛ, имеют меньшую сферическую aberrацию и значительно меньшие aberrации высокого порядка.

В работе J. Kim с соавт. [9] проведено исследование aberrаций 43 пациентам (65 глаз), разделенных на 3 группы в зависимости от использованной силы добавки мультифокальных дифракционных ИОЛ. Первой группе пациентов имплантировались мультифокальные ИОЛ с добавкой +2.75 дптр (23 глаза; ИОЛ Tecnis ZKB00), второй группе — +3.25 дптр (21 глаз; ИОЛ Tecnis ZLB00), третьей группе — +4.00 дптр (21 глаз; ИОЛ Tecnis ZMB00). Данные aberrометрии были получены на aberrометре с системой слежения без дополнительного фармакологического мидриаза в состоянии зрачка 4 мм, в мезопических условиях. Среднее квадратичное (RMS) суммарной aberrации было высчитано вместе с общим среднеквадратичным отклонением aberrаций высшего порядка, используя измерения комы, трефойла и сферических aberrаций. Не наблюдалось существенной разницы между группами ни в среднеквадратичном суммарной aberrации (группа 1 — 0,76±0,52 мкм; группа 2 — 0,99±0,35 мкм; группа 3 — 0,92±0,63 мкм), ни в среднеквадратичном aberrации высших порядков (0,49±0,46; 0,74±0,51 и 0,53±0,54 мкм соответственно). Данные линзы имеют отрицательную сферическую aberrацию -0,27 мкм, что приводит практически к нулевым значениям послеоперационной сферической aberrации при зрачке 3–6 мм и также позволяет повысить контрастную чувствительность. Авторы исследования приходят к выводу, что мультифокальная ИОЛ Tecnis ZMA00 предоставляет сопоставимые данные по сферической aberrации с монофокальными асферическими линзами этого же производителя и значительно превосходит по данному критерию сферические монофокальные интраокулярные линзы.

В исследовании R. Mastropasqua с соавт. [18] проводится сравнительный анализ данных aberrометрии у пациентов с имплантированными интраокулярным кольцом и без него. Пациенты (60 человек, 60 глаз), перенесшие факоэмульсификацию катаракты с имплантацией мультифокальной ИОЛ, были разделены на группы: в первую вошли 30 пациентов с имплантированными рефракционно-дифракционными ИОЛ AcrySof ReSTOR



SN60D3 и внутрикапсульным кольцом Corneal ACPI 11, во вторую группу — пациенты с такой же моделью ИОЛ, но без капсульного кольца. Среднее квадратичное отклонение глазных aberrаций с роговичным компонентом и без роговичного компонента существенно отличалось как в раннем послеоперационном периоде (20 дней), так и спустя год наблюдения. Среднее квадратичное отклонение общих и внутренних глазных aberrаций, а также внутренний трефойл и кома были существенно ниже в первой группе по сравнению со второй ( $p < 0,05$ ). Глазная, роговичная и суммарная без роговичного компонента функция передачи модуляции на низких и высоких пространственных частотах и глазной, роговичной, суммарной без роговичного компонента коэффициент Штреля существенно отличались между группами. Авторы исследования акцентируют внимание на высокие показатели качества зрения у пациентов обеих групп, что, по мнению ученых, вызвано существенным снижением сферической aberrации высокого порядка благодаря оптическим свойствам интраокулярной линзы. Имплантация внутрикапсульного кольца позволяет дополнительно снижать внутриглазной волновой фронт, что связано с уменьшением aberrаций третьего порядка за счет более централизованного положения ИОЛ в капсульном мешке.

Группу ученых во главе с М. Wang (2014 г.) [19] исследовал сравнительный анализ мультифокальных дифракционных ИОЛ с плоскостной гаптикой (AcRivaUD Reviol BB MFM 611, VSY Biotechnology, Амстердам; группа 1) и мультифокальных ИОЛ с C-loop-дизайном гаптических элементов (AcRivaUD Reviol BB MF 613, VSY Biotechnology, Амстердам; группа 2). В исследование были включены 107 пациентов (158 глаз). В роговичных aberrациях высокого порядка не обнаружено существенной статистически значимой разницы в зависимости от гаптики, однако глазные aberrации высокого порядка были существенно выше у пациентов 2-й группы по сравнению с 1-й. На этом основании авторы пришли к выводу о возможности получения лучших оптических результатов при использовании ИОЛ с плоскостной гаптикой. Данные остроты зрения и контрастной чувствительности также были лучше у пациентов группы 1. Авторы считают первой причиной такой ситуации стабильность положения ИОЛ в капсульном мешке, второй причиной — особенности свойства материала ИОЛ (в данном случае акрилата, в котором уровень содержания воды достигает 25%, что, по мнению авторов, ведет к повышенной эластичности гаптических элементов, наклону и децентрации ИОЛ, вследствие чего увеличиваются кома и суммарные aberrации, о чем сообщается также в работе U. Mester с соавт. [20], которую исследователи приводят в качестве подтверждения своих результатов).

### **Влияние диаметра зрачка на функциональный результат мультифокальной интраокулярной коррекции**

Большинство мультифокальных ИОЛ являются зрачковозависимыми: функциональный результат определяется диаметром зрачка [21].

В экспериментальном исследовании J. Esteve-Taboada и соавт. [22] оценивали влияние большой апертуры на оптическое качество у трех интраокулярных линз (дифракционной ИОЛ с расширенной глубиной фокуса Tecnis Symphony ZXR00; трифокальной дифракционной ИОЛ AT LISA tri 839 MP; трифокальной дифракционной ИОЛ FineVision PhysIOL) на лучшем для каждой из них фокус-

ном расстоянии от -1,50 до -3,00 дптр с шагом 0,5 дптр и апертурой 4,5 мм. Доказано, что линза AT LISA 839 MP предоставляет лучшее оптическое качество на близкой дистанции, линза FineVision PhysIOL — на дальней дистанции, линза Tecnis Symphony ZXR00 — на средней дистанции, к тому же из всех представленных линз последняя имеет самое равномерное распределение светового потока.

В работе М. Wang с соавт. (2016 г.) [23] после проведенной имплантации мультифокальной торической ИОЛ Lentis Mplus toric LU-313 30TY 16 пациентам (27 глаз) было подтверждено наличие существенной корреляции между послеоперационной остротой зрения и размером зрачка. Оказалось, что пациенты с большим диаметром зрачка всегда имели лучшую послеоперационную остроту зрения. Авторы подчеркивают значимость предоперационной оценки диаметра зрачка, поскольку доказано его влияние на послеоперационные зрительные результаты.

В работе ряда исследователей [24] оценивалось влияние диаметра зрачка на качество изображения у двух мультифокальных ИОЛ — рефракционной Lentis Mplus и дифракционной AcRi.LISA. Как оказалось, ИОЛ Lentis Mplus показывает лучшее качество изображения со зрачком 3, 4, 5 мм в дальнем фокусе по сравнению с ИОЛ AcRi.LISA, которая показала худшие результаты; в ближнем фокусе Lentis Mplus вновь была лучшей, но уже лишь с диаметром зрачка 4 и 5 мм, а со зрачком 3 мм лучшей была AcRi.LISA, при этом aberrации в дальнем фокусе были одинаковыми. Таким образом, авторы пришли к выводу, что секторальный дизайн линзы больше подходит пациентам с диаметром зрачка более 3 мм, а также что линза Lentis Mplus предоставляет лучшее качество изображения вдаль, чем AcRi.LISA, которая имеет превосходство вблизи.

### **Осложнения на фоне мультифокальных ИОЛ Анализ причин эксплантации**

Согласно данным литературы [8], осложнения, возникающие после имплантации мультифокальных ИОЛ, встречаются крайне редко. В анализе J. Venter с соавт. [25], включившем 9366 имплантаций, сообщается о 1,1% случаев центрального макулярного отека, 0,04% случаев отслойки сетчатки и 0,01% случаев эндофтальмита. При этом полученные значения отличаются от данных американского Управления по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов (Food and Drug Administration Grid, FDA), согласно которым макулярный отек наблюдается в 3,0% случаев, отслойка сетчатки в 0,3%, эндофтальмит в 0,1% случаев (табл. 2, 3).

На фоне проводимого анализа осложнений обращает на себя внимание невысокий процент повторного хирургического вмешательства, связанный с особенностями конструкции интраокулярных линз данного типа.

По данным различных наблюдателей, отмечен очень низкий процент эксплантаций мультифокальных ИОЛ. Так, в работе Van der M. Moogen с соавт. [26] описаны два случая эксплантации мультифокальных ИОЛ (Acrysof Restor SN60AD3) у 2 пациентов в связи с возникновением глестенинга (помутнение ИОЛ вследствие накопления микровакуолей с жидкостью). В обоих случаях пациенты жаловались на размытое и затуманенное зрение, и в обоих случаях при осмотре выявлен существенно выраженный глестенинг в ИОЛ. Пациентам была проведена замена мультифокальных ИОЛ на монофокальные, в результате чего жалобы на оптические явления исчезли, а острота

**Таблица 2.** Осложнения после имплантации ReSTOR MA60D3 и ReSTOR SA60D3, согласно данным мультицентрового клинического исследования, проведенного в США и странах Европы, в сравнении с данными статистики американского института FDA

Осложнения	ReSTOR MA60D3 n=440		ReSTOR SA60D3 n=126		Встречаемость по данным FDA (США)
	n	%	n	%	
Эндофталмит	0	0	0	0	0,1
Макулярный отек	12	2,7	1	0,8	3
Отслойка сетчатки	0	0	1	0,8	0,3
Гифема	0	0	0	0	2,2
Зрачковый блок	1	0,2	0	0	0,1
Дислокация интраокулярной линзы	0	0	0	0	0,1
Повторное хирургическое вмешательство	10	2,3	2	1,6	0,8

**Таблица 3.** Осложнения после имплантации Tecnis ZKB00 и Tecnis ZLB00, согласно данным мультицентрового клинического исследования, проведенного в США и странах Европы, в сравнении с данными статистики международной организации по стандартизации ISO (International Organization for Standardization)

Осложнения	Данные ISO, %	ZKB00				ZLB00			
		Первый глаз n=147		Второй глаз n=145		Первый глаз n=150		Второй глаз n=150	
		n	%	n	%	n	%	n	%
Макулярный отек	3	2	1,4	1	0,7	0	0	0	0
Гипопион	0,3	0	0	0	0	0	0	1	0,7
Эндофталмит	0,1	0	0	0	0	0	0	1	0,7
Дислокация ИОЛ из задней капсулы	0,1	0	0	0	0	0	0	0	0
Зрачковый блок	0,1	0	0	0	0	0	0	0	0
Отслойка сетчатки	0,3	0	0	0	0	0	0	1	0,7
Глаза с необходимым повторным хирургическим вмешательством:	0,8	0	0	3	2,1	5	3,3	5	3,3
• связанные с ИОЛ	-	0	0	1	0,7	1	0,7	0	0
• не связанные с ИОЛ	-	0	0	2	1,4	4	2,7	5	3,3

Примечание. ИОЛ — интраокулярная линза.

зрения без коррекции вдаль была улучшена на 4 строчки. По мнению авторов, эти случаи наглядно демонстрируют, что светорассеяние, вызванное глистенингом, у мультифокальных ИОЛ является клинически значимым. В исследовании O. Kermani и G. Gerten [27] сообщается о 12 случаях необходимой эксплантации мультифокальных ИОЛ после 1438 имплантаций на протяжении нескольких лет. Во всех клинических случаях (78% пациентов с хирургией катаракты, 22% — после рефракционной замены хрусталика) были имплантированы гидрофобные асферические рефракционно-дифракционные мультифокальные ИОЛ — Acrysof ReSTOR и ReSTOR toric с добавкой +2,5; +3,0; +4,0 дптр. Сообщается о четырех линзах, которые были удалены вследствие существенного несоответствия расчетной рефракции (4 глаза). Причинами эксплантации были эпиретинальный глиоз в сочетании с хирургическим отслаиванием мембраны (2 глаза), оптический дискомфорт, жалобы на световые явления (4 глаза), 1 случай глистенинга спустя 5 лет после имплантации и 1 случай нестабильности торической мультифокальной ИОЛ, связанный с патологией цинновой связки. Общая частота эксплантации составила 0,83%, из них лишь 0,28% причин — вследствие выраженных фотических феноменов. Авторы акцентируют внимание на том, что пациенты хорошо адаптируются к мультифокальным ИОЛ, и в большинстве случаев причина эксплантации не связана со сложной оптикой мультифокальных линз.

### Показания и противопоказания к мультифокальной интраокулярной коррекции

Показанием к данному виду хирургического лечения являются односторонняя или двусторонняя неосложненная начальная или незрелая катаракта, а также пресбиопия [28]. В случае пресбиопии необходимо быть особенно осторожным, поскольку рефракционная ленсэктомия может повлечь за собой крайнюю степень неудовлетворенности пациентов в послеоперационном периоде.

Абсолютными противопоказаниями к имплантации мультифокальных ИОЛ являются сопутствующая патология со стороны органа зрения: дистрофии и дегенерации роговицы, псевдоэкзофалиативный синдром с нарушением диафрагмальной функции радужки, макулярная патология, диабетическая ретинопатия, глаукома и другие заболевания, при которых отсутствует прогноз на получение высоких зрительных функций в послеоперационном периоде или прогнозируется прогрессивное снижение зрительных функций на фоне сопутствующего заболевания. Также к абсолютным противопоказаниям относится выраженная патология связочного аппарата хрусталика и аметропия высоких степеней, которые не только могут сопровождаться сопутствующей патологией, но и приводить к грубым ошибкам в расчете оптической силы ИОЛ [29].

К относительным противопоказаниям следует отнести обратный роговичный астигматизм более 0,5 дптр, прямой роговичный астигматизм более 0,75 дптр, если не планируются рефракционное вмешательство вторым этапом (биооптика) или имплантация дополнительной ИОЛ.

Зрелая катаракта, при которой возможно нарушение диафрагмальной функции зрачка или высок риск интраоперационных осложнений, незначительная патология связочного аппарата хрусталика, псевдоэкзофолиативный синдром с незначительным нарушением диафрагмальной функции радужки также являются относительными противопоказаниями. К ним же следует отнести кераторефракционную операцию в анамнезе в связи с трудностью получения рефракции цели и монофокальную интраокулярную коррекцию парного глаза. В последнем случае при принятии решения о возможности имплантации мультифокальной ИОЛ обязательно определение ведущего глаза и формы сенсорного подавления [28].

### Методы предоперационного скрининга и критерии отбора пациентов для мультифокальной интраокулярной коррекции

Предоперационная диагностика пациента состоит из объективных и субъективных методик исследования, обязательных для анализа критериев отбора пациентов и расчета оптической силы ИОЛ. Предоперационная объективная оценка пациента включает проведение кератометрии (желательно на одном приборе) с целью определения показателей преломления роговицы и степени астигматизма. Также обязательно определение особенностей астигматизма передней и задней поверхности роговицы с помощью Шаймпфлюг-камеры.

Биомикроскопия позволяет оценить диафрагмальную функцию радужки. Предоперационное исследование должно включать оценку аберраций передней поверхности роговицы для исключения пациентов с аберрациями 3-го и 4-го порядка, особенно комы и кератоконуса.

В настоящее время актуальна оценка кератотопографии для анализа изменений поверхности роговицы, угла каппа и состояния слезной пленки. Угол каппа — это угол между зрачковой и зрительной осями; он положителен, когда зрачковая ось расположена медиальнее зрительной оси глаза и отрицателен при латеральном ее положении. Согласно данным литературы [29], высокие значения угла каппа могут способствовать функциональной децентрации мультифокальной ИОЛ, в случае если линза центрирована по одной из осей (зрачковой или зрительной) и децентрирована по другой. G. Prakash с соавт. [30] обнаружено, что высокие значения послеоперационного угла каппа после имплантации мультифокальных ИОЛ достоверно коррелировали с частотой возникновения симптомов глер ( $r^2=0,26$ ;  $p=0,033$ ). J. Berdahl и G. Waring [31] предположили, что мультифокальные ИОЛ нельзя использовать, если угол каппа больше половины диаметра центральной оптической зоны. В случае использования линз ReSTOR это значение не должно превышать 0,4 мм, в случае имплантации линз Tecnis — 0,5 мм.

В последнее время многие хирурги включают микропериметрию и оптическую когерентную томографию макулярной зоны в методы предоперационного скрининга состояния сетчатки. По данным исследования S. Kluse с соавт. [32], у двух пациентов (из 10 случайно отобранных), готовящихся к хирургии катаракты с имплантацией мультифокальной ИОЛ, после проведенной микропериметрии была найдена макулярная патология. После

хирургического вмешательства именно у этих пациентов по сравнению с другими имелись сниженные результаты послеоперационной остроты зрения. Авторы исследования утверждают, что данный метод может определить клинически значимую патологию сетчатки, полученные результаты могут помочь в выборе типа ИОЛ, а также документально закрепить послеоперационный прогноз.

В работе В. Klein с соавт. [33] перед предстоящей хирургией катаракты с последующей имплантацией мультифокальных ИОЛ проведено 264 ОКТ-скана (оптическая когерентная томография) макулярной области 149 пациентам, в результате чего макулярная патология была выявлена в 35 глазах. Наиболее часто встречалась возрастная макулярная дегенерация (15 глаз) и эпиретинальная мембрана (11 глаз). Таким образом, авторы наглядно продемонстрировали значимость проведения скрининга макулярной патологии у пациентов, ожидающих операции по поводу катаракты с последующей имплантацией мультифокальной ИОЛ.

Для правильного расчета оптической силы ИОЛ и достижения рефракции цели обязательным является получение точных данных длины глаза и преломляющей силы роговицы. В последнее время иммерсионная и оптическая когерентная биометрия стали стандартом, поскольку являются более точными методиками определения длины глаза. При расчете оптической силы ИОЛ руководствуются следующим правилом. Формула SRK/T хорошо подходит для работы с пациентами с эмметропией и миопией, в то время как формула Hoffer Q — для пациентов с гиперметропией. Такие формулы, как Holladay 2 и Haigis, подходят для всех ситуаций, даже для крайних значений длины глаза [34].

Повторные объективные исследования во избежание ошибки в расчете оптической силы ИОЛ проводятся в случаях средней рефракции роговицы менее 40 или более 47 дптр, длины глаза менее 22,0 и более 25,0 мм, при разнице между глазами в рефракции роговицы более 1,0 дптр, длине глаза более 0,3 мм, когда разница в силе ИОЛ, рассчитанной на эмметропию, составляет более 1,0 дптр между парными глазами [28].

Оценка субъективных особенностей также необходима, поскольку пациенты с идеальным результатом проведенной операции могут быть недовольны, если в предоперационном периоде не были учтены все нюансы. Пациентам следует в обязательном порядке знать о возможности развития световых явлений и возможной необходимости очковой коррекции [35]. При отборе пациента на мультифокальную интраокулярную коррекцию важно понять его образ жизни, зрительные потребности и ожидания от операции, провести подробный опрос об условиях работы и досуга, а также о количестве времени, проведенного в этих условиях. Необходимо познакомиться пациента с основными характеристиками различных моделей интраокулярных линз, описать их сильные и слабые стороны, попытаться сопоставить модель ИОЛ и ее характеристики с конкретными потребностями пациента и выбрать оптимальную линзу [21].

Следующей частью консультации должен быть рассказ о возможных улучшениях функционального результата с помощью двухэтапного лечения — дополнительного рефракционного вмешательства (биооптики) или имплантации дополнительной ИОЛ. Предупреждение пациента о возможных тратах на улучшение зрения после фактоэмульсификации катаракты с имплантацией мультифокальной ИОЛ позволит избежать беспокойства и ощущения, что что-то было проведено неправильно во время первого этапа лечения. Стоит проявлять крайнюю

осторожность в беседе с пациентами с нереальными ожиданиями.

В целом критерии отбора пациентов к мультифокальной коррекции можно разделить на 4 группы: возрастные, анатомо-физиологические, психологические, профессиональные.

Возрастные критерии предполагают отбор пациентов в возрасте до 75 лет на данную методику лечения с учетом возрастных норм остроты зрения.

Анатомо-физиологические критерии включают высокую прогнозируемую ретинальную остроту зрения (0,8 и выше), диаметр зрачка не менее 2,5 мм и не более 3,5 мм, значение угла каппа в пределах средних в популяции (у эметропов, миопов, гиперметропов  $5,72 \pm 1,10$ ;  $5,13 \pm 1,50$ ;  $5,52 \pm 1,19$  градуса соответственно [36]), сохранную диафрагмальную функцию зрачка, отсутствие фотофобии нейросенсорного характера.

Психологические критерии подразумевают отсутствие нарушений поведенческих реакций, сохраненный интеллект, отсутствие нереальных требований и ожиданий, а также настроенность пациента решить проблему артификаческой пресбиопии за счет интраокулярной коррекции.

Профессиональные критерии исключают из потенциальных кандидатов на мультифокальную коррекцию пациентов с прецизионными видами деятельности и пациентов, длительно находящихся за рулем, особенно в темное время суток [28].

### Заключение

Мультифокальная интраокулярная коррекция — отдельное направление современной хирургии катаракты. Особенность мультифокальных интраокулярных линз заключается в том, что за счет сложной конструкции оптической части они могут создавать два или более фокусов на сетчатке, обеспечивая тем самым возможность видеть на разных дистанциях. Теория одновременного зрения объясняет такую способность тем, что мозг выбирает из двух одновременно существующих изображений то, которое в данный момент является приоритетным.

Множество конструкций мультифокальных ИОЛ было предложено еще в 80-е годы прошлого века, однако бурное развитие данная методика получила только после широкого внедрения технологии факоэмульсификации катаракты, использующей малые разрезы в качестве хирургических доступов, сохраняющей архитектуру глаза и минимизирующей индуцированный астигматизм в послеоперационном периоде. Технология факоэмульсификации позволила

пациентам и офтальмохирургам получить все преимущества мультифокальных ИОЛ в полном объеме.

На сегодняшний день мультифокальные интраокулярные линзы входят в группу интраокулярных линз, корректирующих пресбиопию. Группа представлена аккомодирующими, мультифокальными, мультифокальными торическими хрусталиками, а также интраокулярными линзами с расширенной глубиной фокуса. Все ИОЛ данной группы обеспечивают дополнительные возможности пациентам в послеоперационном периоде — коррекцию артификаческой пресбиопии, при необходимости — коррекцию астигматизма.

Анализ функциональных результатов имплантации современных моделей мультифокальных ИОЛ позволяет сделать вывод о высокой эффективности и безопасности данной методики хирургического лечения у пациентов с катарактой.

Мультифокальные ИОЛ на сегодняшний день обеспечивают высокую остроту зрения на различных дистанциях, обладают значительной степенью очковой независимости, обеспечивают в большинстве случаев 100% удовлетворенность пациентов от проведенного лечения, значительно снижают риск развития световых явлений и обеспечивают контрастную чувствительность, сопоставимую с данными возрастными норм.

Для получения максимальных результатов от мультифокальной интраокулярной коррекции необходимы тщательная предоперационная диагностика и отбор пациентов по целому ряду критериев.

В случае правильного отбора пациента, а также грамотного подбора индивидуальной модели мультифокальной ИОЛ с учетом особенностей зрительной работы пациента можно достигнуть максимальной реабилитации в послеоперационном периоде и оценить все преимущества данной методики, которая заняла прочные позиции среди высокотехнологичных методов хирургического лечения в офтальмологии.

### Источник финансирования

Поисково-аналитическая работа и публикация статьи осуществлены на личные средства авторского коллектива.

### Конфликт интересов

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

### ЛИТЕРАТУРА

- Montes-Mico R, Espana E, Bueno I, et al. Visual performance with multifocal intraocular lenses - Mesopic contrast sensitivity under distance and near conditions. *Ophthalmology*. 2004;111(1):85–96. doi: 10.1016/S0161-6420(03)00862-5.
- Alio JL, Plaza-Puche AB, Pinero DP, et al. Quality of life evaluation after implantation of 2 multifocal intraocular lens models and a monofocal model. *J Cataract Refract Surg*. 2011;37(4):638–648. doi: 10.1016/j.jcrs.2010.10.056.
- Packer M, Chu YR, Waltz KL, et al. Evaluation of the aspheric tecnis multifocal intraocular lens: one-year results from the first cohort of the food and drug administration clinical trial. *Am J Ophthalmol*. 2010;149(4):577–584. doi: 10.1016/j.ajo.2009.10.022.
- Sen HN, Sarikkola AU, Uusitalo RJ, Laatikainen L. Quality of vision after AMO array multifocal intraocular lens implantation. *J Cataract Refract Surg*. 2004;30(12):2483–2493. doi: 10.1016/j.jcrs.2004.04.049.
- Lubinski W, Podboraczynska-Jodko K, Gronkowska-Serafin J, Karczewicz D. Visual outcome three and six months after implantation of Acri.LISA 366D lenses. *Klin Oczna*. 2012;114(4):249–254.
- Lubiński W, Gronkowska-Serafin J, Podboraczynska-Jodko K. Clinical outcomes after cataract surgery with implantation of the Tecnis ZMB00 multifocal intraocular lens. *Medical Science Monitor*. 2014;20:1220–1226. doi: 10.12659/MSM.890585.
- Малюгин Б.Э., Морозова Т.А., Фомина О.В. Исследование в динамике функции контрастной чувствительности пациентов на фоне интраокулярной коррекции афакии мультифокальной линзой с градиентной оптикой // *Современные технологии в офтальмологии*. — 2016. — №5 — С. 62–64. [Malyugin BE, Morozova TA, Fomina OV. Issledovanie v dinamike funktsii kontrastnoi chuvstvitel'nosti patsientov na fone intraokulyarnoi korrektsii afakii mul'tifokal'noi linnzoi s gradientnoi optikoi. *Sovremennye tekhnologii v oftal'mologii*. 2016;(5):62–64. (In Russ).]



8. Rosen E, Alio JL, Dick HB, et al. Efficacy and safety of multifocal intraocular lenses following cataract and refractive lens exchange: metaanalysis of peer-reviewed publications. *J Cataract Refract Surg.* 2016;42(2):310–328. doi: 10.1016/j.jcrs.2016.01.014.
9. Kim JS, Jung JW, Lee JM, et al. Clinical outcomes following implantation of diffractive multifocal intraocular lenses with varying add powers. *Am J Ophthalmol.* 2015;160(4):702–709. doi: 10.1016/j.ajo.2015.07.021.
10. Vilar C, Hida WT, de Medeiros AL, et al. Comparison between bilateral implantation of a trifocal intraocular lens and blended implantation of two bifocal intraocular lenses. *Clin Ophthalmol.* 2017;11:1393–1397. doi: 10.2147/OPTH.S139909.
11. Plaza-Puche AB, Alio JL. Analysis of defocus curves of different modern multifocal intraocular lenses. *Eur J Ophthalmol.* 2016;26(5):412–417. doi: 10.5301/ejo.5000780.
12. Cochener B. Prospective clinical comparison of patient outcomes following implantation of trifocal or bifocal intraocular lenses. *J Refract Surg.* 2016;32(3):146–151. doi: 10.3928/1081597x-20160114-01.
13. Lee H, Lee K, Ahn JM, et al. Evaluation of optical quality parameters and ocular aberrations in multifocal intraocular lens implanted eyes. *Yonsei Med J.* 2014;55(5):1413–1420. doi: 10.3349/Ymj.2014.55.5.1413.
14. Montes-Mico R, Lopez-Gil N, Perez-Vives C, et al. In vitro optical performance of nonrotational symmetric and refractive-diffractive aspheric multifocal intraocular lenses: impact of tilt and decentration. *J Cataract Refract Surg.* 2012;38(9):1657–1663. doi: 10.1016/j.jcrs.2012.03.040.
15. Tchah H, Nam K, Yoo A. Predictive factors for photic phenomena after refractive, rotationally asymmetric, multifocal intraocular lens implantation. *Int J Ophthalmol.* 2017;10(2):241–245. doi: 10.18240/ijo.2017.02.10.
16. Akondi V, Perez-Merino P, Martinez-Enriquez E, et al. Evaluation of the true wavefront aberrations in eyes implanted with a rotationally asymmetric multifocal intraocular lens. *J Refract Surg.* 2017;33(4):257–265. doi: 10.3928/1081597x-20161206-03.
17. Liu JP, Zhang F, Zhao JY, et al. Visual function and higher order aberration after implantation of aspheric and spherical multifocal intraocular lenses: a meta-analysis. *Int J Ophthalmol.* 2013;6(5):690–695. doi: 10.3980/j.issn.2222-3959.2013.05.27.
18. Mastropasqua R, Toto L, Vecchiarino L, et al. Multifocal IOL implant with or without capsular tension ring: study of wavefront error and visual performance. *Eur J Ophthalmol.* 2013;23(4):510–517. doi: 10.5301/ejo.5000258.
19. Wang M, Corpuz CC, Fujiwara M, Tomita M. Visual and optical performance of diffractive multifocal intraocular lenses with different haptic designs: 6 month follow-up. *Clin Ophthalmol.* 2014;8:919–926. doi: 10.2147/OPTH.S60493.
20. Mester U, Sauer T, Kaymak H. Decentration and tilt of a single-piece aspheric intraocular lens compared with the lens position in young phakic eyes. *J Cataract Refract Surg.* 2009;35(3):485–490. doi: 10.1016/j.jcrs.2008.09.028.
21. Морозова Т.А., Покровский Д.Ф., Медведев И.Б., Керимов Т.З. Современные аспекты мультифокальной интраокулярной коррекции (обзор) // *Вестник Российской академии медицинских наук.* — 2017. — Т.72. — №4 — С. 268–275. [Morozova TA, Pokrovskiy DF, Medvedev IB, Kerimov TZ. Modern aspects of multifocal intraocular correction: a review. *Annals of the Russian academy of medical sciences.* 2017;72(4):268–275. (In Russ).] doi: 10.15690/vramn835.
22. Esteve-Taboada JJ, Dominguez-Vicent A, Del Aguila-Carrasco AJ, et al. Effect of large apertures on the optical quality of three multifocal lenses. *J Refract Surg.* 2015;31(10):666–676. doi: 10.3928/1081597X-20150928-01.
23. Wang M, Corpuz CC, Huseynova T, Tomita M. Pupil influence on the visual outcomes of a new-generation multifocal toric intraocular lens with a surface-embedded near segment. *J Refract Surg.* 2016;32(2):90–95. doi: 10.3928/1081597X-20160105-01.
24. Garcia-Domene MC, Felipe A, Peris-Martinez C, et al. Image quality comparison of two multifocal IOLs: influence of the pupil. *J Refract Surg.* 2015;31(4):230–235. doi: 10.3928/1081597X-20150319-02.
25. Venter JA, Pelouskova M, Collins BM, et al. Visual outcomes and patient satisfaction in 9366 eyes using a refractive segmented multifocal intraocular lens. *J Cataract Refract Surg.* 2013;39(10):1477–1484. doi: 10.1016/j.jcrs.2013.03.035.
26. van der Mooren M, Steinert R, Tyson F, et al. Explanted multifocal intraocular lenses. *J Cataract Refract Surg.* 2015;41(4):873–877. doi: 10.1016/j.jcrs.2015.02.005.
27. Kermani O, Gerten G. [Explantation of multifocal intraocular lenses - frequency, causes and course. (In German).] *Klin Monatsbl Augenheilkd.* 2016;233(8):928–932. doi: 10.1055/s-0042-104065.
28. Морозова Т.А. *Интраокулярная коррекция афакии мультифокальной линзой с градиентной оптикой. Клинико-теоретическое исследование:* Автореф. дис. канд. мед. наук. — М.; 2006. — 26 с. [Morozova TA. *Intraokulyarnaya korrektsiya afakii mul'tifokal'noi linzoi s gradientnoi optikoi. Kliniko-teoreticheskoe issledovanie.* [dissertation abstract] Moscow; 2006. 26 p. (In Russ).]
29. Moshirfar M, Hoggan RN, Muthappan V. Angle kappa and its importance in refractive surgery. *Oman J Ophthalmol.* 2013;6(3):151–158. doi: 10.4103/0974-620X.122268.
30. Prakash G, Prakash DR, Agarwal A, et al. Predictive factor and kappa angle analysis for visual satisfactions in patients with multifocal IOL implantation. *Eye (Lond).* 2011;25(9):1187–1193. doi: 10.1038/eye.2011.150.
31. Berdahl JP, Waring GO. Match right lens to patient needs: 10 objective measurements can improve multifocal IOL implantation outcomes. *Ophthalmology Times* [Internet]. 2012 [cited 2017 Dec 12]:28–29. Available from: <http://digital.healthcaregroup.advantstar.com>.
32. Klyce SD, McDonald MB, Morales MU. Screening patients with cataract for premium iol candidacy using microperimetry. *J Refract Surg.* 2015;31(10):690–696. doi: 10.3928/1081597X-20150928-02.
33. Klein BR, Brown EN, Casden RS. Preoperative macular spectral-domain optical coherence tomography in patients considering advanced-technology intraocular lenses for cataract surgery. *J Cataract Refract Surg.* 2016;42(4):537–541. doi: 10.1016/j.jcrs.2016.01.036.
34. Braga-Mele R, Chang D, Dewey S, et al. Multifocal intraocular lenses: relative indications and contraindications for implantation. *J Cataract Refract Surg.* 2014;40(2):313–322. doi: 10.1016/j.jcrs.2013.12.011.
35. Морозова Т.А., Керимов Т.З. Современные подходы к анализу дисфотопсий, оценка субъективной удовлетворенности и очковой независимости на фоне мультифокальной интраокулярной коррекции. Обзор // *Вестник Российской академии медицинских наук.* — 2017. — Т.72. — №5 — С. 355–364. [Morozova TA, Kerimov TZ. Modern approaches to dysphotopsia analysis, assessment of patient satisfaction and spectacle independence after multifocal intraocular correction: review. *Annals of the Russian academy of medical sciences.* 2017;72(5):355–364. (In Russ).] doi: 10.15690/vramn883.
36. Hashemi H, Khabazkhoob M, Yazdani K, et al. Distribution of angle kappa measurements with Orbscan II in a population-based survey. *J Refract Surg.* 2010;26(12):966–971. doi: 10.3928/1081597X-20101114-06.

#### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Морозова Татьяна Анатольевна**, кандидат медицинских наук, доцент кафедры офтальмологии факультета ДПО ФГБОУ ВО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» Минздрава России  
**Адрес:** 117997, Москва, ул. Островитянова, д. 1, **e-mail:** TatianaMorozovaMD@gmail.com, **SPIN-код:** 3459-3956, **ORCID iD:** <http://orcid.org/0000-0002-3320-5366>

**Керимов Тимур Захирович**, аспирант кафедры глазных болезней ФГБОУ ВО «МГМСУ им. А.И. Евдокимова» Минздрава России  
**Адрес:** 127473, Москва, ул. Делегатская, д. 20, стр. 1, **e-mail:** timkerimov2014@yandex.ru, **SPIN-код:** 1297-9373, **ORCID iD:** <https://orcid.org/0000-0001-8967-6370>

DOI: 10.15690/vramn932

А.П. Лыков<sup>1, 2</sup>, М.А. Суровцева<sup>1, 2</sup>, О.В. Повещенко<sup>1, 2</sup>, О.М. Станишевская<sup>3</sup>,  
Д.В. Черных<sup>3</sup>, Н.С. Арбеньева<sup>3</sup>, В.И. Братко<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии — филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук», Новосибирск, Российская Федерация

<sup>2</sup> «Сибирский федеральный биомедицинский исследовательский центр имени академика Е.Н. Мешалкина», Новосибирск, Российская Федерация

<sup>3</sup> Межотраслевой научно-технический комплекс «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Федорова», Новосибирск, Российская Федерация

## Лечение идиопатической возрастной макулярной дегенерации аутологичной плазмой, обогащенной лизатом тромбоцитов: проспективное исследование

**Обоснование.** Плазма, обогащенная ростовыми факторами, широко используется в медицинской практике. Однако клиническая эффективность ее использования в лечении возрастных нарушений целостности сетчатки глаза исследована недостаточно. **Цель исследования** — оценка клинической эффективности лечения возрастной макулярной дегенерации аутологичной плазмой, обогащенной лизатом тромбоцитов. **Методы.** Использованы трехпортовая субтотальная трансконъюнктивальная витрэктомия, введение аутологичной плазмы, обогащенной лизатом тромбоцитов. Аутологичную плазму, обогащенную лизатом тромбоцитов, получали из венозной крови. Оценивали остроту зрения, внутриглазное давление, проводили оптическую когерентную томографию глаза на стороне патологического процесса. **Результаты.** Показано, что сочетание стандартной трехпортовой субтотальной трансконъюнктивальной витрэктомии с последующей тампонадой области разрыва аутологичной плазмой, обогащенной лизатом тромбоцитов, и ее инъекциями в область крылонобной ямки на стороне оперированного глаза статистически значимо способствует восстановлению остроты зрения как в раннем послеоперационном (15 сут), так и в отдаленном (90 сут) периоде по сравнению с группой больных, получивших только оперативное лечение ( $p \leq 0,05$ ). Введение аутологичной плазмы, обогащенной лизатом тромбоцитов, в схему лечения увеличивает частоту закрытия разрывов сетчатки глаза в макулярной области до 62,5%, тогда как только оперативное лечение приводит к закрытию дефекта сетчатки глаза в 37,5% случаев. Показано, что в аутологичной плазме, обогащенной лизатом тромбоцитов, содержатся цитокины, ростовые факторы и оксид азота, которые вовлечены в процесс регенерации/репарации сетчатки глаза. **Заключение.** Дополнительное введение аутологичной плазмы, обогащенной лизатом тромбоцитов, в схему лечения разрывов сетчатки глаза не только ускоряет закрытие дефектов, но и повышает остроту зрения.

**Ключевые слова:** аутологичная плазма, обогащенная лизатом тромбоцитов; возрастная макулярная дегенерация, острота зрения, оптическая когерентная томография.

**(Для цитирования):** Лыков А.П., Суровцева М.А., Повещенко О.В., Станишевская О.М., Черных Д.В., Арбеньева Н.С., Братко В.И. Лечение идиопатической возрастной макулярной дегенерации аутологичной плазмой, обогащенной лизатом тромбоцитов: проспективное исследование. *Вестник РАМН.* 2018;73(1):40–48. doi: 10.15690/vramn932

### Обоснование

Возрастная макулярная дегенерация характеризуется разрушением пигментного эпителия сетчатки, мембраны Бруха и хориокапиллярного слоя. Возрастная макулярная дегенерация является одной из ведущих причин необратимой потери зрения и слепоты среди населения развитых стран мира в возрасте от 50 лет [1, 2]. «Золотым стандартом» лечения идиопатических разрывов сетчатки глаза является эндовитреальная хирургия: удаление внутренней пограничной мембраны с последующей тампонадой витреальной полости воздухом или газовой смесью [3]. Однако не всегда удается добиться полного закрытия макулярного разрыва, что может привести к увеличению размера разрыва и катастрофическому падению остроты зрения. Поэтому интенсивно ведется поиск новых способов лечения макулодистрофий, в том числе с использованием аутологичной плазмы [4–6]. Перспективным направлением в лечении разрывов сетчатки глаза стало использование биологического клея на основе аутологич-

ной сыворотки или плазмы с целью блокировки дефекта. Так, в патенте RU 2193377 С1 предлагается после проведения субтотальной витрэктомии и заполнения витреальной полости воздухом на область макулярного отверстия вводить гемостатическую губку, пропитанную аутологичной сывороткой крови, что способствует формированию механической тампонады разрыва сетчатки и формированию прочных хориоретинальных спаек по его краю [7]. Кроме этого, применяется способ лечения макулярного разрыва комбинацией фибринового клея Tissucol и субретинальной инъекции аутологичной суспензии клеток пигментного эпителия через макулярный разрыв [8]. Возможна блокировка макулярного разрыва путем нанесения на поврежденный участок биологического клея на основе аутологичной тромбоцитарной массы [9]. Существенным недостатком использования такого биомедицинского продукта является наличие в нем клеток (тромбоцитов), которые могут инициировать активацию воспалительного процесса в месте их введения в органы и ткани.

**Цель исследования** — оценка эффективности использования аутологичной плазмы, обогащенной лизатом тромбоцитов, в лечении возрастной макулярной дегенерации.

## Методы

### Дизайн исследования

Проведено открытое рандомизированное одноцентровое контролируемое исследование.

### Критерии соответствия

#### Критерии включения

Критерием включения больных в исследование были наличие возрастной макулярной дегенерации, осложненной разрывом сетчатки по данным оптической когерентной томографии, с показанием для оперативного вмешательства, а также возраст старше 55 лет и лично подписанное добровольное информированное согласие.

#### Критерии исключения

Наличие в анамнезе заболеваний вирусным гепатитом\*.

### Условия проведения

Исследование проведено на базе лаборатории клеточных технологий Научно-исследовательского института клинической и экспериментальной лимфологии — фили-

ал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук» и на базе Новосибирского филиала Федерального государственного автономного учреждения Межотраслевой научно-технический комплекс «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Фёдорова» МЗ РФ. Взятие периферической венозной крови проводили на базе Новосибирского филиала ФГАУ МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Фёдорова Минздрава России (Новосибирск) в специализированные герметичные пробирки для плазмолифтинга (Plasmolifting, Китай), содержащие натрия гепарин со специализированным тиксотропным гелем, и в течение 2 ч транспортировали в лабораторию в герметичном стерильном термоконтейнере с фризером. Дальнейшие манипуляции с образцами проводились в условиях специализированной лаборатории клеточных технологий, в помещении класса А, с соблюдением всех правил асептики. После получения плазмы, обогащенной лизатом тромбоцитов, образцы разливали по стерильным стеклянным флаконам в объеме 1 мл, пробковали, вальцевали и далее в герметичном стерильном термоконтейнере с фризером доставляли в Новосибирский филиал ФГАУ МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Фёдорова МЗ РФ, где хранили при -20 °С до момента использования. Перед применением плазму, обогащенную

\* Вирусный гепатит, характерный для людей, перенесших данное заболевание, был единственным критерием невключения пациента в исследование с целью предотвращения риска инфицирования биологическим материалом лиц, работающих с компонентами крови.

A.P. Lykov<sup>1, 2</sup>, O.V. Poveshchenko<sup>1, 2</sup>, M.A. Surovtseva<sup>1, 2</sup>, O.M. Stanishevskaya<sup>3</sup>,  
D.V. Chernykh<sup>3</sup>, N.S. Arben'eva<sup>3</sup>, V.I. Bratko<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation

<sup>2</sup> Research Institute of Circulation Pathology, Ministry of Health Care of Russian Federation, Novosibirsk, Russian Federation

<sup>3</sup> S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution, Novosibirsk, Russian Federation

## Autologous Plasma Enriched with Platelet Lysate for the Treatment of Idiopathic Age-Related Macular Degeneration: A Prospective Study

**Background:** Plasma enriched in growth factors is widely used in medical practice. However, the clinical efficacy of its application in the treatment of age-related retinal integrity violations is investigated insufficiently. **Aims:** The aim of the study was to evaluate the clinical efficacy of autologous plasma enriched with platelet lysate for treating age-related macular degeneration. **Materials and methods:** A three-port subtotal transconjunctival vitrectomy was performed and administration of the autologous plasma enriched with platelet lysate was indicated. Autologous plasma enriched with platelet lysate was received from the peripheral blood. We assessed visual acuity, intraocular pressure; conducted optical coherent tomography examination of the eye on the side of the pathological process. **Results:** The study demonstrated that the combination of a standard 3-port transconjunctival subtotal vitrectomy followed by tamponade of the gap using the autologous plasma enriched with platelet lysate with the injections of the autologous plasma enriched with platelet lysate in the area of pterygopalatine fossa on the side of the operated eyes statistically significantly promoted recovery of the visual acuity in the early postoperative period (15 days) and late period (90 days) if compared with patients who received only surgical treatment ( $p \leq 0.05$ ). Use of the autologous plasma enriched with platelet lysate in the treatment increased the closing rate of the tearing of the retina in the macular region up to 62,5%, while only surgical treatment leads to the closure of the defect of the retina in 37.5% of cases. The study showed that autologous plasma enriched with platelet lysate contains cytokines, growth factors, and nitric oxide which are involved in the regeneration/repairment of the retina. **Conclusions:** Additional administration of the autologous plasma enriched with platelet lysate in the scheme of treatment patients with age-related macular degeneration is accelerating the closure of retinal tears of the eye and improves visual acuity.

**Key words:** autologous plasma enriched with platelet lysate, age-related macular degeneration, visual acuity, optical coherence tomography.

(**For citation:** Lykov AP, Poveshchenko OV, Surovtseva MA, Stanishevskaya OM, Chernykh DV, Arben'eva NS, Bratko VI. Autologous Plasma Enriched with Platelet Lysate for the Treatment of Idiopathic Age-Related Macular Degeneration: A Prospective Study. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2018;73(1):40–48. doi: 10.15690/vramn932)



лизатом тромбоцитов, размораживали в термостате при температуре 37 °С в течение 30 мин и далее использовали по назначению.

Образцы аутологичной плазмы, обогащенной лизатом тромбоцитов, разливали по аликвотам и хранили при -70 °С до одномоментного проведения твердофазного иммуноферментного анализа.

### **Продолжительность исследования**

Исследование проводилось в 2017 г. Исследование остроты зрения проводили до лечения, через 7, 15, 30 и 90 дней после лечения. Внутриглазное давление исследовали до и после лечения. Оптическую когерентную томографию проводили до и после лечения. Аутологичную плазму, обогащенную лизатом тромбоцитов, готовили в день забора венозной крови за 2–3 дня до оперативного вмешательства. Все исследования проводили в первой половине дня (с 8.00 до 13.00).

### **Описание медицинского вмешательства**

Оперативное лечение проводили под местной анестезией Chirocaine (Takeda Nycomed, AS, Норвегия). В контрольной группе больным проводили субтотальную трансконъюнктивальную бесшовную трехпортовую 25–27G витректомию. Для этого в 4 мм от лимба в проекции плоской части цилиарного тела производили установку 3 портов: 1 — для инфузионной подачи, 2 — для рабочих инструментов. Удаляли центральный и периферический отдел стекловидного тела, для контрастирования задней гиалоидной мембраны вводили Кеналог 40 (ООО «КРКА-РУС», Россия), далее отделяли ее от сетчатки и удаляли. Внутреннюю пограничную мембрану контрастировали Membrane Blue (Dorc, Нидерланды), удаляли остатки красителя из витреальной полости, проводили пилинг внутренней пограничной мембраны. Меняли жидкость в витреальной полости на воздух, выжидали 5–7 мин (подсушивали), стекшую жидкость в область проекции диска зрительного нерва отсасывали, канюлей с силиконовым наконечником проводили механическое сближение краев разрыва макулы, удаляли порты. В случаях недостаточной герметизации послеоперационных склеротомий накладывали единичные узловые швы из шовного материала Викрил 7.0 (Ethicon, США), в витреальной полости оставляли воздушную смесь. Субконъюнктивально вводили гентамицин сульфат (ВИФИТЕХ, Россия), предписывали постельный режим «лицом вниз». На 3–5-е сут после оперативного вмешательства на 2/3 витреальной полости проводили оптическую когерентную томографию для визуализации закрытия макулярного разрыва. В случае полного закрытия краев разрыва больного выписывали на амбулаторное лечение. В случае остаточного диастаза больному проводили повторное оперативное вмешательство. При этом витреальную полость заполняли перфторорганическим соединением (Перфтордикалин; Dorc, Нидерланды). Далее проводили замену перфтордикалина на силиконовое масло Охане вязкостью 1300 cSt (Baush&Lomb, США). Сближали края разрывов, накладывали швы, субконъюнктивально вводили антибиотик и предписывали положение «лицом вниз».

В основной группе больных также проводили субтотальную трансконъюнктивальную бесшовную трехпортовую 25–27G витректомию, включая удаление задней глиальной мембраны, удаление (пилинг) внутренней пограничной мембраны сетчатки и тампонаду стекловидной полости газом, для чего выполняли замену ранее введенного ирригационного раствора на воздушную смесь в ви-

треальной полости; после этого заполняли дефект макулы аутологичной плазмой, обогащенной лизатом тромбоцитов, в объеме 0,3–0,4 мл и далее заменяли воздух на газовую смесь. После 30-минутного положения больного на спине рекомендован постельный режим до утра следующего дня, лежа на неоперированной стороне или лицом вниз. Спустя 72 ч больным вводили аутологичную плазму, обогащенную лизатом тромбоцитов, путем выполнения крылонебных инъекций на стороне пораженного глаза в дозе 3–4 мл в область крылонебной ямки, расположенной под скуловой дугой, курсом 3–4 процедуры с интервалом 72–96 ч.

### **Лекарственное ведение после процедуры субтотальной трансконъюнктивальной витректомии**

В послеоперационном периоде больным назначали следующие препараты:

- глазные капли: 0,5% Сигницеф (Промед Экспортс Pvt. Лтд., Индия); 0,1% дексаметазон (Белмедпрепараты, Россия); 0,1% Дикло-Ф (Промед Экспортс Pvt. Лтд., Индия); Мидримакс (Промед Экспортс Pvt. Лтд., Индия) по 3 раза в день в течение 7 дней;
- Дексазон (GALENKA, a.d., Сербия и Черногория) 1 раз в день субконъюнктивально в течение 5 дней.

### **Приготовление аутологичной плазмы, обогащенной лизатом тромбоцитов**

Периферическую венозную кровь, забранную в пробирку для плазмолифтинга, центрифугировали при 3700–3800 об./мин в течение 6–7 мин на центрифуге ЕВА 200 (Hettich, Германия). Далее в ламинарном боксе собирали плазму в стерильную коническую пробирку объемом до 50 мл, центрифугировали при 3500–3600 об./мин в течение 12–15 мин, аккуратно удаляли плазму в другую стерильную коническую пробирку; осевшие тромбоциты ресуспендировали в 1 мл плазмы, подсчитывали количество выделенных тромбоцитов в камере Горяева. Доводили количество тромбоцитов до концентрации не менее 10<sup>6</sup> клеток/мл и подвергали их циклу заморозки/разморозки. Для этого помещали пробирки с плазмой, обогащенной тромбоцитами, сначала в жидкий азот (-196 °С) до полной заморозки и далее для быстрой разморозки — в водяную баню (+37 °С) до полного оттаивания плазмы. Процедуру повторяли дважды. В ходе циклов заморозки/разморозки происходит деструкция мембраны тромбоцитов и высвобождение содержимого цитоплазмы тромбоцитов в плазму. Для удаления обломков мембраны тромбоцитов образцы пропускали через фильтр с диаметром пор 0,22 мкм и смешивали с оставшейся частью плазмы. Далее часть плазмы, обогащенной лизатом тромбоцитов, отдавали для транспортировки в Новосибирский филиал ФГАУ МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Фёдорова МЗ РФ, где ее хранили при -20 °С до использования, а другую часть хранили в лаборатории при -70 °С до проведения иммуноферментного анализа.

### **Исходы исследования**

#### **Основной исход исследования:**

- восстановление остроты зрения в раннем послеоперационном периоде на 7-е и 15-е сут, через 1 и 3 мес;
- определить, насколько влияет оперативное вмешательство на внутриглазное дно;
- закрытие макулярного разрыва.

#### **Дополнительные исходы исследования**

В группе, получившей дополнительное введение аутологичной плазмы, обогащенной лизатом тромбоцитов,



исследовали уровни цитокинов, ростовых факторов и оксида азота в плазме.

**Анализ в подгруппах**

С учетом пола и возраста пациентов анализировали диастаз краев макулярного разрыва.

**Методы регистрации исходов**

Визометрию больным проводили с помощью таблицы Сивцева–Головина. По результатам исследования определяли остроту зрения.

Прямую офтальмоскопию больным проводили с использованием электрического бинокулярного офтальмоскопа Скепенса (Heine, Германия). По результатам исследования судили о состоянии глазного дна, сосудов сетчатки глаза и структуры глаза.

Бесконтактную тонометрию больным проводили на оборудовании NHT-7000 (Huvtz, Южная Корея). По результатам исследования судили о внутриглазном давлении до и после оперативного лечения.

Оптическую когерентную томографию больным проводили на аппаратуре RTVue-100 (Optovue, США). По результатам исследования определяли макулярную дегенерацию, диастаз краев разрыва, закрытие краев разрыва сетчатки в динамике на 7-е и 15-е сут, а также через 1 и 3 мес.

В плазме, обогащенной лизатом тромбоцитов, методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием коммерческих наборов для IL1β, TNFα, IL6, IL8, IL10, Еро (Вектор-Бест, Новосибирск), а также с использованием коммерческих наборов для PDGF-AB, IGFI, TGFβ1 (Sigma-Aldrich, США) на спектрофотометре Stat Fax 2100 исследовали уровни данных цитокинов. Уровни стойких метаболитов оксида азота (NO) в плазме, обогащенной лизатом тромбоцитов, исследовали спектрофотометрически с использованием реактива Грисса (Sigma-Aldrich, США).

**Этическая экспертиза**

Исследование проведено в соответствии со стандартами надлежащей клинической практики (Good Clinical Practice) и принципами Хельсинкской декларации. Протокол исследования одобрен Этическим комитетом Новосибирского филиала ФГАУ МНТК «Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Фёдорова МЗ РФ (№ 2 от 25.05.2017). До включения в исследование от всех участников было получено добровольное письменное информированное согласие о процедуре лечения и возможных осложнениях.

**Статистический анализ**

**Принципы расчета размера выборки**

Предварительный расчет размера выборки не проводили.

**Методы статистического анализа данных**

Статистическую обработку полученных данных проводили в пакете программы Statistica 10 (StatSoft, США). Нормальность распределения определяли по w-критерию Шапиро–Уилка, полученные данные представлены средней и стандартным отклонением; статистическую значимость различий (p) проверяли с использованием U-критерия Манна–Уитни и принимали при значении ≤0,05. Для сравнения данных двух групп с разными временными сроками применяли дисперсионный анализ (Analysis of Variance, ANOVA). Наличие взаимосвязей между исследуемыми параметрами оценивали с помощью ранговой корреляции по Спирмену (Rs).

**Результаты**

**Объекты (участники) исследования**

В исследование включены 16 пациентов с идиопатической возрастной макулярной дегенерацией — 10 женщин и 6 мужчин. Больные были разделены на 2 группы по типу выполненного лечения: в основную группу вошли пациенты, которым проведена субтотальная трансконъюнктивальная витрэктомия с дополнительным введением аутологичной плазмы, обогащенной лизатом тромбоцитов (n=8; 5 женщин и 3 мужчин), в группу сравнения — только субтотальная трансконъюнктивальная витрэктомия (n=8; 5 женщин и 3 мужчин). Средний возраст в основной группе больных составил 69,75±6,82 года, в группе сравнения — 64,1±4,01 года. Диастаз краев макулярного разрыва по данным оптической когерентной томографии в основной группе больных составил 547,5±118,77 мкм, в группе сравнения — 498,5±216,64 мкм. Острота зрения до лечения по данным визометрии в основной группе была 0,1±0,12, в группе сравнения — 0,05±0,06.

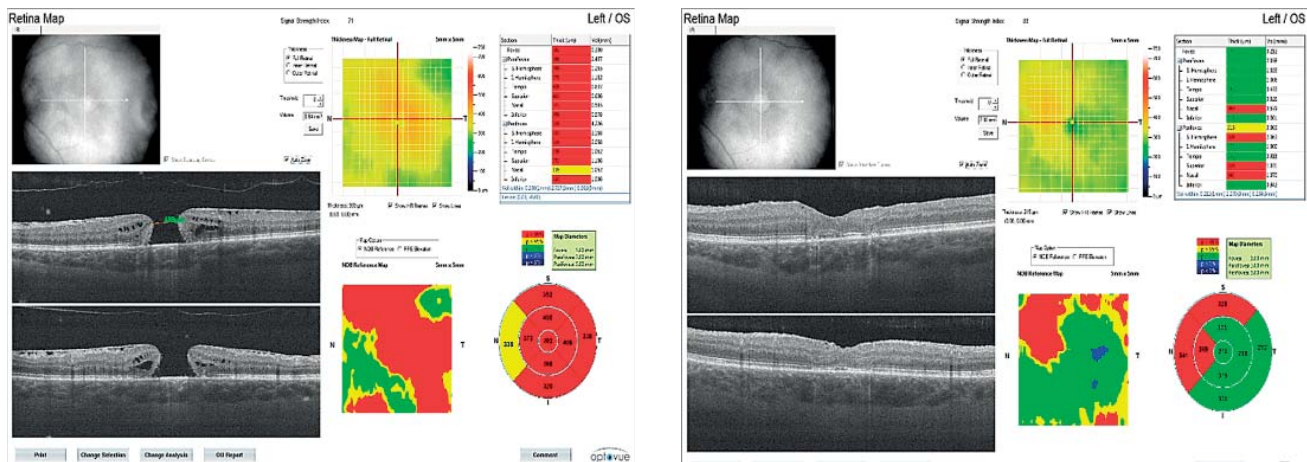
**Основные результаты исследования**

По результатам лечения (табл. 1) нами показано, что сочетание оперативного вмешательства больным по поводу возрастной макулярной дегенерации, осложненной разрывами сетчатки глаза в макулярной области, с последующей тампонадой области разрыва аутологичной плазмой, обогащенной лизатом тромбоцитов, и ее инъекциями в область крылонобной ямки на стороне оперированного глаза статистически значимо способствует восстановлению остроты зрения как в раннем послеоперационном (15 сут), так и в отдаленном (90 сут) периоде по сравнению с группой больных, получивших только оперативное лечение. Необходимо отметить тот факт, что уже через 7 сут в основной группе больных возрастной макулярной дегенерацией отмечена тенденция к улучшению

**Таблица 1.** Динамика изменения остроты зрения в сравниваемых группах больных возрастной макулярной дегенерацией через 7, 15, 30 и 90 дней после проведенного лечения (M±SD)

Параметры остроты зрения	Группы больных с учетом вида лечения	
	Только оперативное вмешательство (группа сравнения, n=8)	Сочетание оперативного вмешательства с лечением аутологичной плазмой, обогащенной лизатом тромбоцитов (основная группа, n=8)
Базисная	0,05±0,06	0,1±0,12
Через 7 сут	0,08±0,06	0,16±0,11
Через 15 сут	0,06±0,05	0,26±0,18*
Через 30 сут	0,08±0,08	0,29±0,2
Через 90 сут	0,09±0,12	0,36±0,26*

Примечание.\* — достоверность различий по ANOVA: p<0,05.



**Рис. 1.** Эффект лечения возрастной макулярной дегенерации аутологичной плазмой, обогащенной лизатом тромбоцитов, по данным оптической когерентной томографии

*Примечание.* На левом слайде: полный разрыв сетчатки глаза, диастаз между краями разрыва сетчатки глаза в макулярной области достигает 489 мкм. На правом слайде: разрыва сетчатки глаза не выявлено.

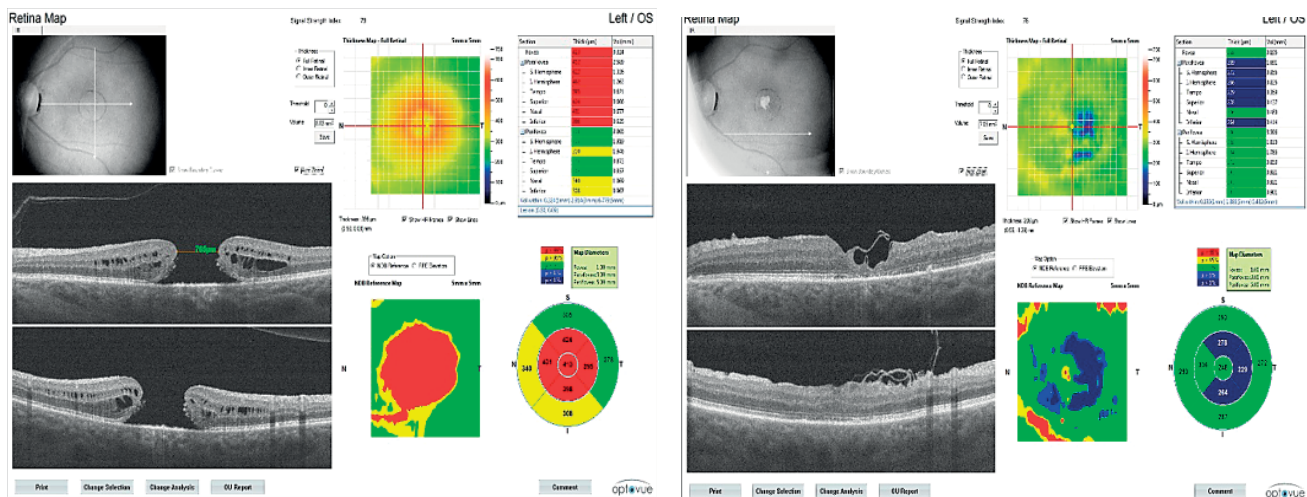
остроты зрения (статистически незначимое). Кроме этого, следует указать, что в обеих группах пациентов не отмечено существенного изменения внутриглазного давления, что указывает на сохранность целостности структур глаза ( $17,87 \pm 2,8$  и  $16,0 \pm 2,75$  до оперативного вмешательства и  $17,87 \pm 2,23$  и  $18,3 \pm 2,11$  после лечения в основной группе и группе сравнения соответственно;  $p \geq 0,05$ ).

Частота закрытия разрывов сетчатки глаза в основной группе больных возрастной макулярной дегенерацией после лечения составила 62,5% (в 5 случаях из 8) (рис. 1), а в группе сравнения — только 37,5% случаев (у 3 из 8) (рис. 2).

При корреляционном анализе показателей пациентов основной группы нами выявлена взаимозависимость между возрастом и остротой зрения до лечения ( $R_s=0,88$ ,  $p < 0,05$ ), а также через 15 ( $R_s=0,85$ ,  $p < 0,05$ ), 30 ( $R_s=0,74$ ,  $p < 0,05$ ) и 90 сут ( $R_s=0,80$ ,  $p < 0,05$ ): чем старше возраст больного, тем ниже острота зрения и хуже результат лечения в отдаленном периоде. Кроме этого, нами установлено, что у пациентов основной группы между исходной остротой зрения и остротой зрения после лечения также

имеется прямая и сильная взаимосвязь ( $R_s=0,86$ ,  $p < 0,05$ ;  $R_s=0,96$ ,  $p < 0,05$ ,  $R_s=0,90$ ,  $p < 0,05$  и  $R_s=0,85$ ,  $p < 0,05$  на 7, 15, 30 и 90-е сут после лечения соответственно). Более того, показано, что положительная динамика восстановления остроты зрения на ранних этапах послеоперационного периода обуславливает лучшие результаты в отдаленные сроки ( $p < 0,05$ ). Также в основной группе больных возрастной макулярной дегенерацией выявлена сопряженность исходного значения внутриглазного давления с показателем после лечения ( $R_s=0,78$ ,  $p < 0,05$ ), что косвенно указывает на безвредность внутриглазных манипуляций.

В то же время в группе сравнения выявлена обратная и сильная взаимосвязь диастаза краев разрыва макулы с параметрами остроты зрения на 7-е сут после оперативного вмешательства ( $R_s=-0,75$ ,  $p < 0,05$ ), что косвенно свидетельствует о менее выраженной динамике заживления разрыва сетчатки глаза. Кроме этого, в группе сравнения показана прямая и сильная сопряженность восстановления остроты зрения после лечения на 7-е сут с аналогичными параметрами на 15-е и 90-е сут ( $R_s=0,90$ ,



**Рис. 2.** Эффект лечения возрастной макулярной дегенерации путем стандартной субтотальной трансконъюнктивной витрэктомии, по данным оптической когерентной томографии

*Примечание.* На левом слайде: полный разрыв сетчатки глаза, диастаз между краями разрыва сетчатки глаза в макулярной области достигает 766 мкм. На правом слайде: на месте разрыва сетчатки глаза в макулярной области сформирован тонкий неровный слой сетчатки.

$p < 0,05$  и  $R_s = 0,72$ ,  $p < 0,05$  соответственно), а также между острой зрения на 15-е и 90-е сут ( $R_s = 0,80$ ,  $p < 0,05$ ), что может быть следствием выраженности дегенеративных процессов в сетчатке глаза.

**Дополнительные результаты исследования**

С учетом того факта, что на исход лечения в основной группе больных возрастной макулярной дегенерацией могут оказывать существенное влияние уровни цитокинов, ростовых факторов и оксида азота, нами проведено исследование биологически активных веществ в аутологичной плазме, обогащенной лизатом тромбоцитов (табл. 2). Так, в достаточно больших концентрациях были выявлены как провоспалительные (IL1 $\beta$ , TNF $\alpha$ , IL6, IL8), так и противовоспалительные (IL10) цитокины, ростовые факторы (Epo, PDGF-AB, IGFI, TGF $\beta$ 1) и оксид азота (NO).

Уровни IL6 и IL8 в плазме, обогащенной лизатом тромбоцитов, находились в прямой и сильной связи ( $R_s = 0,66$ ,  $p < 0,05$ ), что указывает на преобладание провоспалительного цитокинового профиля плазмы, и как следствие, стимуляцию процессов репарации/регенерации поврежденных тканей.

Между уровнями IL6 и IL8 (факторов, вовлеченных в реализацию воспалительной реакции в месте повреждения) выявлена прямая и сильная взаимосвязь ( $R_s = 0,66$ ,  $p < 0,05$ ), что может свидетельствовать о провоспалительном потенциале плазмы, то есть способности стимулировать репарацию/регенерацию поврежденных тканей. В то же время уровни эритропоэтина (Epo) и ростового фактора тромбоцитов (PDGF-AB) находились в обратной и сильной зависимости ( $R_s = -0,78$ ,  $p < 0,05$ ), что указывало на сопряженность их антиапоптотического эффекта.

Кроме этого, нами выявлена обратная и высокая корреляция количества тромбоцитов у пациентов в зависимости от возраста ( $R_s = -0,77$ ,  $p < 0,05$ ), что, скорее всего, обусловлено возрастными изменения гемопоеза. Так, уровни Epo находились в обратной и сильной ( $R_s = -0,71$ ,  $p < 0,05$ ), а уровни PDGF-AB — в прямой

**Таблица 2.** Уровни биологически активных веществ в плазме, обогащенной лизатом тромбоцитов, больных возрастной макулярной дегенерацией (M $\pm$ SD)

Параметры	Уровни
IL1 $\beta$ , пг/мл	0,47 $\pm$ 1,0
TNF $\alpha$ , пг/мл	0,59 $\pm$ 0,9
IL6, пг/мл	6,89 $\pm$ 9,06
IL8, пг/мл	136,38 $\pm$ 57,73
IL10, пг/мл	2,71 $\pm$ 0,1
Epo, мМЕ/мл	133,14 $\pm$ 60,91
PDGF-AB, пг/мл	708,3 $\pm$ 258,24
IGFI, пг/мл	0,57 $\pm$ 0,17
TGF $\beta$ 1, пг/мл	27,44 $\pm$ 33,42
NO, $\mu$ M/мл	25,11 $\pm$ 16,85

*Примечание.* IL — интерлейкин, TNF $\alpha$  — фактор некроза опухоли альфа, Epo — эритропоэтин, PDGF-AB — тромбоцитарный фактор роста AB, IGFI — инсулиноподобный фактор роста-1, TGF $\beta$ 1 — трансформирующий ростовой фактор бета-1, NO — оксид азота.

и сильной ( $R_s = 0,74$ ,  $p < 0,05$ ) взаимосвязи с диастазом. Необходимо отметить, что у пациентов основной группы на 7, 30 и 90-е сут ( $R_s = 0,81$ ,  $p < 0,05$ ;  $R_s = 0,78$ ,  $p < 0,05$  и  $R_s = 0,9$ ,  $p < 0,05$  соответственно) установлена прямая и сильная взаимосвязимость между количеством выделенных из плазмы тромбоцитов и остротой зрения, что косвенно указывает на вовлеченность данных клеток, а точнее, продуктов, содержащихся в цитоплазме клеток, в лечебный эффект плазмы, обогащенной лизатом тромбоцитов.

**Нежелательные явления**

В исследовании не выявлено нежелательных явлений ни в основной группе больных возрастной макулярной дегенерацией, ни в группе сравнения на протяжении пребывания в стационаре и при амбулаторном лечении.

**Обсуждение**

**Резюме основного результата исследования**

Сочетание стандартной трехпортовой субтотальной трансконъюнктивальной витректомии с дополнительным введением аутологичной плазмы, обогащенной лизатом тромбоцитов, позволило улучшить процессы заживления разрывов сетчатки глаза в макулярной области у больных возрастной макулярной дегенерацией и увеличить остроту зрения в 62,5% случаев по сравнению с группой пациентов, получивших только оперативное вмешательство и имевших улучшение клинической картины только в 37,5% случаев.

**Обсуждение основного результата исследования**

Производные продукты крови усиливают выздоровление и стимулируют регенерацию различных тканей опосредованно через ростовые факторы и биоактивные протеины [10–14]. Так, плазма, обогащенная тромбоцитами, нашла широкое применение в лечении больных с ортопедической патологией и при спортивных травмах [15]. Кроме этого, имеются данные об эффективности использования капель на основе аутологичных тромбоцитов для лечения патологии глаз при развитии реакции «трансплантат против хозяина» [16, 17]. Клинический эффект плазмы, обогащенной тромбоцитами, в лечении воспалительно-дегенеративных процессов в органах и тканях связывают с активацией процессов репарации/регенерации биоактивными веществами в ее составе [18]. В офтальмологии используют плазму, обогащенную тромбоцитами, для лечения ожогов глаз с целью ускорения процессов заживления дефектов конъюнктивы и роговицы, вводя ее субконъюнктивально [19]. В работе С. Ronci и соавт. [20] проведено сравнительное исследование эффективности лечения патологии роговицы различного генеза плазмой, обогащенной тромбоцитами (менее 10<sup>6</sup> кл./мкл), и лечения патологии роговицы, индуцированной реакцией «трансплантат против хозяина», плазмой, обогащенной тромбоцитами (10<sup>6</sup> и более кл./мкл). Показано, что в плазме после нескольких циклов заморозки/разморозки определяются высокие уровни тромбоцитарных факторов роста (PDGF-AA и PDGF-BB), фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) и фактора роста эпителиоцитов (EGF), что и способствует процессам заживления роговицы. О сравнимых уровнях TGF $\beta$ 1, TGF $\beta$ 2, EGF, витамина А и фибронектина в плазме, обогащенной тромбоцитами, и сыворотке крови, а также о вкладе данных биоактивных молекул в репарацию эпителия роговицы сообщается в работе К. Kim и соавт. [21].



Необходимо отметить тот факт, что полученные нами результаты лечения разрывов макулярной области при возрастной макулярной дегенерации согласуются с литературными данными. Так, в работах А. Konstantinidis и соавт. [22] и Н. Koh и соавт. [23] использование аутологичных тромбоцитов ускоряло процесс закрытия разрывов макулы. Более того, показано, что применение аутологичного концентрата тромбоцитов для лечения разрывов сетчатки глаза ускоряет ее заживление в 78%, а улучшение остроты зрения — в 59% случаев у больных с идиопатической возрастной макулярной дегенерацией по сравнению с 59 и 44% соответственно в группе больных без лечения тромбоцитами [24]. В работах М. Figueoa и соавт. [5] и В. Todorich и соавт. [6] наблюдалось улучшение остроты зрения, а также более тесное взаимодействие со стекловидным телом и интра-ретинальным/субретинальным пространством в области ямки зрительного диска.

Лечебный эффект компонентов крови, в том числе и плазмы, связан с наличием в них ростовых факторов и биоактивных протеинов, которые стимулируют репаративные/регенеративные процессы в органах и тканях [10]. Показано, что плазма, обогащенная ростовыми факторами, усиливает пролиферацию, миграцию эпителиальных клеток роговицы, кератиноцитов и фибробластов конъюнктивы [25].

В то же время уровни биологически активных веществ в плазме, обогащенной тромбоцитами, зависят от пола и возраста человека: так, уровни эпидермального фактора роста (EGF), фактора роста гепатоцитов (HGF), инсулиноподобного фактора роста-1 (IGF1), тромбоцитарного фактора роста АВ (PDGF-AB), тромбоцитарного фактора роста ВВ (PDGF-BB), трансформирующего ростового фактора бета-1 (TGFβ1) и фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) более высоки у женщин моложе 25 лет [26].

Использование в нашем исследовании аутологичной плазмы, обогащенной лизатом тромбоцитов, обусловлено тем фактом, что при фильтрации лизата тромбоцитов их обломки не проникают через миллиметровые фильтры, сохраняя тем самым все свойства плазмы. Так, при гибели тромбоцитов в месте их введения возникает риск активации воспалительной реакции, обусловленной привлечением моноцитов/макрофагов и поглощением обломков мембраны тромбоцитов, что в свою очередь ведет к стимуляции моноцитов/макрофагов и запуску иммунного ответа. Излишняя воспалительная реакция в месте повреждения сетчатки глаза нежелательна. В то же время аутологичная плазма, обогащенная лизатом тромбоцитов, не теряет стимулирующего влияния на процессы пролиферации и миграции клеток. В отдельных работах показано, что лизат тромбоцитов стимулирует миграцию мультипотентных мезенхимных стромальных клеток жировой ткани человека и обеспечивает

репарацию дефекта монослоя фибробластов человека и мультипотентных мезенхимных стромальных клеток *in vitro* в сходных с эмбриональной телячьей сывороткой концентрациях (5–10%) [27, 28]. Лизат тромбоцитов из богатой тромбоцитами плазмы крови крыс стимулирует заживление кожного дефекта у животных за счет ускорения эпителизации и формирования грануляционной ткани. Регенерирующие свойства лизата тромбоцитов *in vivo* усиливаются с увеличением его концентрации [27]. В работе G. Sandri и соавт. [28] показано, что лизат тромбоцитов содержит большое количество ростовых факторов и эффективно ускоряет регенерацию эпителия роговицы.

### Ограничения исследования

Поскольку в исследовании было включено малое число пациентов с идиопатической возрастной макулярной дегенерацией в возрасте старше 55 лет, полученные данные не могут быть экстраполированы на больных с другими патологиями глаз и пациентов с идиопатической возрастной макулярной дегенерацией младше 55 лет, так как требуется дополнительное исследование эффективности плазмы, обогащенной лизатом тромбоцитов, в этих группах пациентов.

### Заключение

Использование аутологичной плазмы, обогащенной лизатом тромбоцитов, в дополнение к стандартной трехпортовой субтотальной трансконъюнктивальной витректомии у больных идиопатической возрастной макулодистрофией способствовало заживлению дефектов сетчатки глаза и усилению остроты зрения за счет содержащихся в плазме биологически активных веществ, улучшая тем самым качество жизни пациентов. О перспективности такого способа лечения можно будет судить на большей выборке исследования и при более длительном периоде наблюдения за пациентами с анализом частоты повторных разрывов сетчатки в контрольной и опытной группе и отсутствия побочных эффектов введения плазмы в отдаленном периоде наблюдения.

### Источник финансирования

Исследование и публикация статьи осуществлены за счет личных средств авторского коллектива.

### Конфликт интересов

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

### ЛИТЕРАТУРА

- Егоров Е.А. Некоторые аспекты патогенеза и лечения возрастной макулярной дегенерации // *Русский медицинский журнал. Клиническая офтальмология*. — 2016. — №1 — С. 46–49. [Egorov EA. Nekotorye aspekty patogeneza i lecheniya vozrastnoi makulyarnoi degeneratsii. *RMJ. Klinicheskaya oftalmologiya*. 2016;(1):46–49. (In Russ).]
- who.int [Internet]. Global data on visual impairments 2010 [cited 2018 Jan 15]. Available from: <http://www.who.int/blindness/GLOBALDATAFINALforweb.pdf>.
- Фихман О.З., Трофимова С.В. Современная тактика лечения возрастной макулодистрофии // *Успехи геронтологии*. — 2004. — Т.15. — №15 — С. 115–118. [Fikhman OZ, Trofimova SV. Current tactics of age-related macular degeneration treatment. *Adv Gerontol*. 2004;15(15):115–118. (In Russ).]
- Муха А.И., Лысенко В.С., Галилеева В.В. и др. Гемоконпонентная терапия центральной инволюционной хориоретинальной дистрофии // *Вестник офтальмологии*. — 1998. — Т.114. — №1 — С. 28–31. [Mukha AI, Lysenko VS, Galileeva VV,



- et al. Hemocomponent therapy of central involution chorioretinal dystrophy. *Vestn Oftalmol.* 1998;114(1):28–31. (In Russ.)]
5. Figueroa MS, Nadal J, Contreras I. A rescue therapy for persistent optic disk pit maculopathy in previously vitrectomized eyes. *Retin Cases Brief Rep.* 2018;12(1):68–74. doi: 10.1097/ICB.0000000000000416.
  6. Todorich B, Sharma S, Vajzovic L. Successful repair of recurrent optic disk pit maculopathy with autologous platelet rich plasma: report of a surgical technique. *Retin Cases Brief Rep.* 2017;11(1):15–17. doi: 10.1097/ICB.0000000000000276.
  7. Захаров В.Д., Айрапетова Л.Э. Способ хирургического лечения отслоек сетчатки с макулярным разрывом. Патент RU 2103377 C1. Опубл. 27.11.2002. [Patent RUS 2103377 C1/ 27.11.02. Zakharov VD, Airapetova LE. Sposob khirurgicheskogo lecheniya otsloek setchatki s makulyarnym razryvom. (In Russ.)]
  8. Бибков М.М., Алтынбаев У.Р., Абсаликов А.В. Способ лечения макулярного разрыва, осложненного отслойкой сетчатки и центральной хориоретинальной дегенерацией. Патент RU 2367391 C1. Опубл. 20.09.2009. [Patent RUS 2367391 C1/ 20.09.09. Bibkov MM, Altynbaev UR, Absalikov AV. Sposob lecheniya makulyarnogo razryva, oslozhnennogo otsloikoï setchatki i tsentral'noi khorioretinal'noi degeneratsiei. (In Russ.)]
  9. Уласевич О.А. Способ хирургического лечения макулярных разрывов. Патент RU 2391953 C1. Опубл. 20.06.2010. [Patent RUS 2391953 C1/ 20.06.10. Ulasevich OA. Sposob khirurgicheskogo lecheniya makulyarnykh razryvov. (In Russ.)]
  10. Alio JL, Arnalich-Montiel F, Rodriguez AE. The role of “eye platelet rich plasma” (E-PRP) for wound healing in ophthalmology. *Curr Pharm Biotechnol.* 2012;13(7):1257–1265. doi: 10.2174/138920112800624355.
  11. Limoli PG, Limoli C, Vingolo EM, et al. Cell surgery and growth factors in dry age-related macular degeneration: visual prognosis and morphological study. *Oncotarget.* 2016;7(30):46913–46923. doi: 10.18632/oncotarget.10442.
  12. Geremicca W, Fonte C, Vecchio S. Blood components for topical use in tissue regeneration: evaluation of corneal lesions treated with platelet lysate and considerations on repair mechanisms. *Blood Transfusion.* 2010;8(2):107–112.
  13. Лыков А.П., Бондаренко Н.А., Суровцева М.А., и др. Сравнительный эффект обогащенной тромбоцитами плазмы, лизата тромбоцитов и эмбриональной телячьей сыворотки на мезенхимные стволовые клетки // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* — 2017. — Т.163. — №6 — С. 722–725. [Lykov AP, Bondarenko NA, Surovtseva MA, et al. Comparative effects of platelet-rich plasma, platelet lysate, and fetal calf serum on mesenchymal stem cells. *Bull Exp Biol Med.* 2017;163(6):757–760. (In Russ.)]
  14. Lykov AP, Bondarenko NA, Poveshchenko OV, et al. Biomedical cellular product for wound healing. *Integr Obesity Diabetes.* 2015;2(1):176–179. doi: 10.15761/ioid.1000139.
  15. Kobayashi Y, Saita Y, Nishio H, et al. Leukocyte concentration and composition in platelet-rich plasma (PRP) influences the growth factor and protease concentrations. *J Orthop Sci.* 2016;21(5):683–689. doi: 10.1016/j.jos.2016.07.009.
  16. Pezzotta S, Del Fante C, Scudeller L, et al. Autologous platelet lysate for treatment of refractory ocular GVHD. *Bone Marrow Transplant.* 2012;47(12):1558–1563. doi: 10.1038/bmt.2012.64.
  17. Valentini CG, Nuzzolo ER, Orlando N, et al. Cytokine profile of autologous platelet-derived eye drops in patients with ocular chronic graft-versus-host disease. *Vox Sang.* 2016;110(2):189–192. doi: 10.1111/vox.12325.
  18. Anita E, Troya M, Zalduendo M, Orive G. Personalized plasma-based medicine to treat age-related diseases. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* 2017;74:459–464. doi: 10.1016/j.msec.2016.12.040.
  19. Márquez-de-Aracena R, Montero-de-Espinosa I, Muñoz M, Pereira G. [Subconjunctival application of plasma platelet concentrate in the treatment of ocular burns. Preliminary results. (In Spanish).] *Arch Soc Esp Oftalmol.* 2007;82(8):475–481.
  20. Ronci C, Ferraro AS, Lanti A, et al. Platelet-rich plasma as treatment for persistent ocular epithelial defects. *Transfus Apher Sci.* 2015;52(3):300–304. doi: 10.1016/j.transci.2014.12.027.
  21. Kim KM, Shin YT, Kim HK. Effect of autologous platelet-rich plasma on persistent corneal epithelial defect after infectious keratitis. *Jpn J Ophthalmol.* 2012;56(6):544–550. doi: 10.1007/s10384-012-0175-y.
  22. Konstantinidis A, Hero M, Nanos P, Panos GD. Efficacy of autologous platelets in macular hole surgery. *Clin Ophthalmol.* 2013;7:745–750. doi: 10.2147/OPHTH.S44440.
  23. Koh HH, Murray IJ, Nolan D, et al. Plasma and macular response to lutein supplement in subjects with and without age-related maculopathy: a pilot study. *Exp Eye Res.* 2004;79(1):21–27. doi: 10.1016/j.exer.2004.03.001.
  24. Karel I, Kalvodova B, Dotrelova D, et al. Vitrectomy and autologous thrombocyte concentrate in the treatment of idiopathic macular holes. *Cesk Slov Oftalmol.* 1999;55(4):191–202.
  25. Anita E, Muruzabal F, De la Fuente M, et al. Effects of heat-treatment on plasma rich in growth factors-derived autologous eye drop. *Exp Eye Res.* 2014;119:27–34. doi: 10.1016/j.exer.2013.12.005.
  26. Evanson JR, Guyton MK, Oliver DL, et al. Gender and age differences in growth factor concentrations from platelet-rich plasma in adults. *Mil Med.* 2014;179(7):799–805. doi: 10.7205/milmed-d-13-00336.
  27. Sergeeva NS, Shanskii YD, Sviridova IK, et al. Analysis of reparative activity of platelet lysate: effect on cell monolayer recovery in vitro and skin wound healing in vivo. *Bull Exp Biol Med.* 2016;162(1):138–145. doi: 10.1007/s10517-016-3563-3.
  28. Sandri G, Bonferoni MC, Rossi S, et al. Thermosensitive eye drops containing platelet lysate for the treatment of corneal ulcers. *Int J Pharm.* 2012 Apr 15;426(1–2):1–6. doi: 10.1016/j.ijpharm.2011.12.059.

### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Лыков Александр Петрович**, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории клеточных технологий НИИКЭЛ-филиал ИЦиГ СО РАН, старший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий Центра новых технологий «СФБИЦ им. акад. Е.Н. Мешалкина» Минздрава России  
**Адрес:** 630055, Новосибирск, ул. Речкуновская, д. 15, **e-mail:** aplykov2@mail.ru, **SPIN-код:** 4883-0887, **ORCID ID:** <http://orcid.org/0000-0003-4897-8676>

**Суровцева Мария Александровна**, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий НИИКЭЛ-филиал ИЦиГ СО РАН, старший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий Центра новых технологий «СФБИЦ им. акад. Е.Н. Мешалкина» Минздрава России  
**Адрес:** 630055, Новосибирск, ул. Речкуновская, д. 15, **e-mail:** mfelde@ngs.ru, **SPIN-код:** 5597-4170, **ORCID ID:** <http://orcid.org/0000-0002-4752-988X>

**Повешченко Ольга Владимировна**, доктор медицинских наук, заведующая лабораторией клеточных технологий НИИКЭЛ-филиал ИЦиГ СО РАН, старший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий Центра новых технологий «СФБИЦ им. акад. Е.Н. Мешалкина» Минздрава России  
**Адрес:** 630055, Новосибирск, ул. Речкуновская, д. 15, **e-mail:** poveshchenkoo@yandex.ru, **SPIN-код:** 1451-4467, **ORCID ID:** <http://orcid.org/0000-0001-9956-0056>

**Бондаренко Наталья Анатольевна**, кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории клеточных технологий НИИКЭЛ-филиал ИЦиГ СО РАН, старший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий Центра новых технологий «СФБИЦ им. акад. Е.Н. Мешалкина» Минздрава России  
**Адрес:** 630055, Новосибирск, ул. Речкуновская, д. 15, **e-mail:** bond80288@yandex.ru, **SPIN-код:** 5722-7157, **ORCID iD:** <http://orcid.org/0000-0002-8443-656X>

**Ким Ирина Иннокентьевна**, кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории клеточных технологий НИИКЭЛ-филиал ИЦиГ СО РАН, старший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий Центра новых технологий «СФБИЦ им. акад. Е.Н. Мешалкина» Минздрава России  
**Адрес:** 630055, Новосибирск, ул. Речкуновская, д. 15, **e-mail:** kii5@mail.ru, **SPIN-код:** 2887-2821, **ORCID iD:** <http://orcid.org/0000-0002-7380-2763>

**Станишевская Ольга Михайловна**, врач-офтальмолог 4-го офтальмологического отделения (лазерной хирургии) Новосибирского филиала ФГАУ «МНТК» Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Фёдорова» Минздрава России  
**Адрес:** 610071, Новосибирск, ул. Колхидская, д. 10, **тел.:** +7 (383) 209-00-44, **e-mail:** stanishevskaya.olya@gmail.com, **SPIN-код:** 5561-7516, **ORCID iD:** <http://orcid.org/0000-0002-4149-3767>

**Черных Дмитрий Валерьевич**, кандидат медицинских наук, врач-офтальмолог 5-го офтальмологического отделения (витреоретинальной патологии) Новосибирского филиала ФГАУ «МНТК» Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Фёдорова» Минздрава России  
**Адрес:** 610071, Новосибирск, ул. Колхидская, д. 10, **тел.:** +7 (383) 209-00-44, **e-mail:** nfmntk.dima@gmail.com, **ORCID iD:** <https://orcid.org/0000-0003-0151-2596>

**Арбеньева Наталья Сергеевна**, врач-офтальмолог 8-го офтальмологического отделения (консервативного лечения) Новосибирского филиала ФГАУ «МНТК» Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Фёдорова» Минздрава России  
**Адрес:** 610071, Новосибирск, ул. Колхидская, д. 10, **тел.:** +7 (383) 209-00-44, **e-mail:** daisy5555@yandex.ru, **SPIN-код:** 5739-8270, **ORCID iD:** <http://orcid.org/0000-0003-1066-0339>

**Братко Владимир Иванович**, доктор медицинских наук, врач-анестезиолог-реаниматолог высшей категории отделения анестезиологии-реанимации Новосибирского филиала ФГАУ «МНТК» Микрохирургия глаза» им. акад. С.Н. Фёдорова» Минздрава России  
**Адрес:** 610071, Новосибирск, ул. Колхидская, д. 10, **тел.:** +7 (383) 209-00-44, **e-mail:** anest0592@gmail.com, **SPIN-код:** 7999-7699, **ORCID iD:** <http://orcid.org/0000-0002-1705-9944>

DOI: 10.15690/vramn847

С.Г. Макарова<sup>1</sup>, Л.С. Намазова-Баранова<sup>1,2</sup>, Н.Н. Мурашкин<sup>1</sup>,  
Е.А. Вишнёва<sup>1</sup>, Р.В. Епишев<sup>1</sup>, Т.Р. Чумбадзе<sup>1</sup>, О.В. Кожевникова<sup>1</sup>, М.А. Сновская<sup>1</sup>,  
О.А. Ерешко<sup>1,3</sup>, Ф.Г. Балабекова<sup>4</sup>, Д.С. Ясаков<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей, Москва, Российская Федерация

<sup>2</sup> Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова,  
Москва, Российская Федерация

<sup>3</sup> Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет),  
Москва, Российская Федерация

<sup>4</sup> Республиканский кожно-венерологический диспансер, Грозный, Российская Федерация

# Пищевая аллергия у детей с врожденным буллезным эпидермолизом. Результаты собственного наблюдательного исследования

**Обоснование.** Врожденный буллезный эпидермолиз (ВБЭ) относится к группе редких наследственных заболеваний, характеризующихся тяжелым поражением кожных покровов и у большинства больных — слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта, что приводит к нарушению их барьерных свойств по отношению к аллергенам. Однако вопросы пищевой сенсibilизации и пищевой аллергии у данной категории больных не исследованы, и изучение этой проблемы является актуальным. **Цель исследования** — оценить особенности клинических проявлений пищевой аллергии (ПА) и сенсibilизации к пищевым белкам у детей с ВБЭ. **Методы.** Проведено открытое нерандомизированное наблюдательное проспективное исследование. Включены 82 ребенка с ВБЭ в возрасте от 2 мес до 16 лет, в том числе 20 детей с простой и 62 — с дистрофической формой ВБЭ. Оценивались аллергологический анамнез и клинические проявления ПА; всем больным проводилось определение общей концентрации IgE в сыворотке крови, sIgE сыворотки крови к наиболее значимым пищевым аллергенам, по показаниям — к смесям бытовых аллергенов с применением технологий UniCAP System, Thermo Fisher Scientific (ранее Phadia AB). **Результаты.** Поражение кожи при ВБЭ маскирует проявления ПА у детей, обуславливая гиподиагностику заболевания у этой категории пациентов, что в свою очередь ведет к неправильной организации нутритивной поддержки. ПА была выявлена у 20,7% детей с ВБЭ (в 10% случаев при простой и в 24,2% при дистрофической форме ВБЭ). В качестве этиологического фактора наиболее часто выступали продукты, содержащие белок коровьего молока, злаки, яйца. В группе детей с коморбидностью ПА и ВБЭ наиболее часто встречались высокие и крайне высокие уровни общего IgE (>1000 kUA/l). **Заключение.** Дети с дистрофической формой ВБЭ по сравнению с пациентами с простой формой заболевания чаще имеют клинические проявления ПА. Основными причинно-значимыми аллергенами являются белки коровьего молока, злаки, яйца.

**Ключевые слова:** дети, врожденный буллезный эпидермолиз, пищевая аллергия, сенсibilизация, IgE-ответ.

(Для цитирования: Макарова С.Г., Намазова-Баранова Л.С., Мурашкин Н.Н., Вишнёва Е.А., Епишев Р.В., Чумбадзе Т.Р., Кожевникова О.В., Сновская М.А., Ерешко О.А., Балабекова Ф.Г., Ясаков Д.С. Пищевая аллергия у детей с врожденным буллезным эпидермолизом. Результаты собственного наблюдательного исследования. *Вестник РАМН*. 2018;73(1):49–58. doi: 10.15690/vramn847)

## Обоснование

Врожденный буллезный эпидермолиз (ВБЭ)— это группа редких (орфанных) наследственных заболеваний, характеризующихся нарушением межклеточных связей в эпидермисе или эпидермально-дермальном соединении, приводящих к образованию пузырей на коже и/или слизистых оболочках даже при незначительном ее травмировании. Для врожденного буллезного эпидермолиза характерно раннее начало (с рождения или первых месяцев жизни), непрерывное течение с характерными частыми обострениями. Большинство заболеваний этой группы приводит к инвалидизации больных и сокращению продолжительности жизни [1]. Выделяют простую, дистрофическую и пограничную форму болезни, а также синдром Киндлера.

Наиболее тяжелую группу пациентов представляют больные с дистрофической формой ВБЭ. К основным клиническим проявлениям этой формы заболевания относятся появление пузырей и/или эрозий на коже и слизистых оболочках. Эпителизация эрозивных дефектов при различных формах дистрофического буллезного эпидермолиза

происходит с формированием рубцовой ткани (чаще атрофической) и милиумов. Контрактуры, псевдосиндактилии и отсутствие ногтей — специфические проявления тяжело протекающих клинических форм болезни [2]. У большинства пациентов отмечается также поражение желудочно-кишечного тракта: повреждение слизистой оболочки полости рта, глотки, пищевода и прямой кишки завершается рубцеванием с зарастанием во рту вестибулярных складок, утратой уздечки, анкилоглоссией, формированием стриктур пищевода, эпизодами дисфагии, гастроэзофагеального рефлюкса, постоянными запорами [3, 4].

Дистрофическая форма ВБЭ в большинстве случаев сопровождается глубокой белково-энергетической недостаточностью, тяжело поддающейся лечению [5]. У большинства таких больных, особенно у детей с тяжелыми формами, площадь эрозивных очагов велика, что приводит к потере питательных веществ. В результате потребность в нутриентах у детей с дистрофическими формами ВБЭ, согласно современным рекомендациям, может в 1,5 и более раз превышать возрастную норму потребления [2, 6]. Однако, несмотря на широкий спектр лечебных продуктов,

организация питания детей, страдающих ВБЭ, и в настоящее время представляет большие трудности, и даже при адекватных рекомендациях по питанию в ряде случаев не удается достичь нормализации нутритивного статуса этих пациентов [2]. Помимо нутритивной недостаточности, обширное поражение слизистых оболочек и кожи, приводящее к потере ими барьерных свойств, может являться фактором, способствующим избыточному поступлению антигенов, в том числе аллергенов пищевого и непищевого происхождения. Тем не менее вопросы пищевой сенсибилизации и пищевой аллергии у данной категории больных не изучены. Так, при анализе публикаций на эту тему (Web of Science и PubMed) нами обнаружена всего лишь одна работа, где М. Grunwald и соавт. [7] впервые описали клинический случай наличия эозинофильных инфильтратов в сочетании с повышенным уровнем общего иммуноглобулина (Immunoglobulin, Ig) E у ребенка с дистрофической формой ВБЭ. В то же время наличие пищевой аллергии обязательно должно учитываться при организации нутритивной поддержки у этой тяжелой категории пациентов.

В настоящей статье приведены результаты собственного наблюдательного исследования по изучению проявлений пищевой аллергии (ПА) у 82 детей с врожденным буллезным эпидермолизом.

**Цель исследования** — оценить особенности клинических проявлений пищевой аллергии, сенсибилизации к пищевым белкам у детей с врожденным буллезным эпидермолизом.

## Методы

### Дизайн исследования

Проведено открытое нерандомизированное наблюдательное проспективное исследование с целью оценки особенностей пищевой сенсибилизации и проявлений

пищевой аллергии у детей с различными формами ВБЭ. Включенные в исследование дети были распределены на 2 группы в зависимости от формы буллезного эпидермолиза (дети с простой и с дистрофической формой ВБЭ).

### Критерии соответствия

**Критерии включения:** дети любого возраста обоих полов с установленным диагнозом буллезного эпидермолиза: простая форма ВБЭ (Q81.0 согласно Международной классификации болезней 10-го пересмотра, МКБ-10), дистрофическая форма ВБЭ (Q81.2 по МКБ-10).

**Критерии исключения из исследования:** отказ родителей/законных представителей ребенка от участия в исследовании.

### Условия проведения

Исследование проведено на базе отделения дерматологии ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава России (далее НМИЦ здоровья детей).

### Продолжительность исследования

Период включения в исследование составил 12 мес (с января 2016 по декабрь 2016 г.), период наблюдения — 6 мес.

### Описание медицинского вмешательства

#### Методы клинической оценки пациентов с ВБЭ

За период пребывания в стационаре всем детям с ВБЭ проводилось комплексное обследование в соответствии с современными рекомендациями по ведению больных с данной патологией [1]. Все пациенты получали индивидуализированную системную и наружную терапию, в том числе различные физиотерапевтические процедуры, направленные в основном на стимуляцию регенеративных свойств кожного покрова.

S.G. Makarova<sup>1</sup>, L.S. Namazova-Baranova<sup>1, 2</sup>, N.N. Murashkin<sup>1</sup>, R.V. Epishev<sup>1</sup>, T.R. Chumbadze<sup>1</sup>, O.V. Kogevnikova<sup>1</sup>, M.A. Snovskaya<sup>1</sup>, E.A. Vishneva<sup>1</sup>, O.A. Ereshko<sup>1, 3</sup>, F.G. Balabekova<sup>4</sup>, D.S. Yasakov<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

<sup>3</sup> I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation

<sup>4</sup> Republican Dermatovenereological Dispensary, Groznyj, Russian Federation

## Food Allergy in Children with Inherited Epidermolysis Bullosa. The Results of the Observational Study

**Background:** Inherited epidermolysis bullosa (EB) refers to a group of rare inherited disorders characterized by severe damage of skin and in most patients — the gastrointestinal mucosa, what leads to a violation of skin and mucosal barrier properties in relation to allergens. However, the issues of food sensitization and food allergy in this category of patients have not been studied, and the study of this problem is important. **Aim:** To evaluate the clinical manifestations of food allergy (FA) and IgE-response to food proteins in children with EB. **Methods:** 82 patients with EB aged from 2 months to 16 years were entered this open non-randomized observational prospective study, including 20 patients with simple form of EB and 62 patients with dystrophic form of EB. We analyzed allergic history and clinical manifestations of the FA in all the patients. Every patient in this study underwent of determination of the concentration of total serum IgE and specific serum IgE to the most important food allergens, as well as to mixtures of household allergens in some cases (UniCAP System, Phadia AB). **Results:** Skin lesion in patients with EB masks allergic skin manifestations, causing a hypodiagnosis of the FA in this category of patients, which in turn leads to erroneous organization of nutritional support. FA (clinical manifestations) was identified in 20.7% of children with EB (in 10% of cases with simple form of EB and in 24.2% — in patients with dystrophic form of EB). Products containing cow's milk protein, cereals, and eggs were identified as etiologic factors of FA in most cases. In the group of children with comorbidity FA and EB high and very high levels of total IgE (>1000 kUA / l) were detected most frequently. The main cause-significant allergens are cow's milk proteins, cereals, eggs. **Conclusions:** Comorbidity with FA is high in patients with dystrophic form of EB. The main cause-significant allergens are cow's milk proteins, cereals, eggs.

**Key words:** children, congenital epidermolysis bullosa, food allergy, sensitization, IgE-response.

(**For citation:** Makarova SG, Namazova-Baranova LS, Murashkin NN, Epishev RV, Chumbadze TR, Kogevnikova OV, Snovskaya MA, Vishneva EA, Ereshko OA, Balabekova FG, Yasakov DS. Food Allergy in Children with Inherited Epidermolysis Bullosa. The Results of the Observational Study. *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2018;73(1):49–58. doi: 10.15690/vramn847)



К каждому пациенту помимо организации адекватного ухода за кожей осуществлен мультидисциплинарный подход. Большинство детей нуждались в консультациях таких специалистов, как гастроэнтеролог, офтальмолог, хирург, стоматолог, невролог и др. Все дети получали консультацию диетолога, в ходе которой оценивался рацион и давались рекомендации по его коррекции. Для комплексной оценки факторов, нарушающих питание при ВБЭ, использовалась лингвистически адаптированная шкала THINC (Tool to Help Identify Nutritional Compromise), разработанная специально для больных ВБЭ [6]. Согласно этой же шкале оценивалась площадь пораженных участков кожи и площадь инфицированных участков в процентах к общей площади кожных покровов.

**Анализ анамнестических данных**

Анализ анамнестических данных проводили по материалам выписок из историй болезни, врачебных заключений, а также по результатам интервьюирования родителей/представителей пациента. В истории болезни (лат. *anamnesis morbi*) оценивались информация о течении заболевания, включая развитие симптомов, о ранее проводимой терапии и ее эффективности, о наличии сопутствующей патологии. Помимо общих сведений, анамнез жизни (лат. *anamnesis vitae*) содержал сведения о наследственности по аллергическим болезням, характере питания. Диетологический анамнез включал в себя информацию о видах вскармливания, сроках введения продуктов / блюд прикорма и наличии реакций на эти продукты, особенностях питания матери во время беременности и лактации, особенностях рациона питания ребенка. Для выявления пищевой аллергии использовалась адаптированная сокращенная форма структурированного вопросника, рекомендованного Европейской академией аллергологии и клинической иммунологии (European Academy of Allergy and Clinical Immunology, EAACI), с целью оценки анамнеза при подозрении на ПА [8] (табл. 1).

**Методы диетодиагностики**

**Диагностическая элиминационная диета** назначалась по показаниям детям с подозрением на ПА. Длительность диагностической элиминационной диеты составляла от 30 дней, во время которых ребенок соблюдал диету с исключением наиболее вероятного (или вероятных) причинно-значимого продукта. При неясных результатах диагностической элиминационной диеты назначалось диагностическое введение продукта. После подтверждения/установления диагноза ПА по результатам диа-

гностической элиминационной диеты, диагностического введения продукта и лабораторного тестирования ребенку назначалась лечебная элиминационная диета продолжительностью 6–12 мес в соответствии с международными [9] и отечественными клиническими рекомендациями [10] по ведению детей с ПА.

**Диагностическое введение продукта** [11] проводилось по окончании минимального срока элиминационной диеты на основании клинической оценки состояния ребенка. Количество продукта, содержащего причинно-значимый аллерген, для первого диагностического введения определялось исходя из данных анамнеза (количество продукта, на которое отмечалась реакция ранее, выраженность реакции на это количество). Введение начиналось с дозы, значительно меньше той, которая вызвала реакцию. Срок наблюдения за реакцией после диагностического введения продукта составлял 2 сут. Если на первое диагностическое введение продукта никаких отрицательных реакций не отмечалось, то продукт вводился в питание в постепенно возрастающих количествах с обязательной регистрацией всех симптомов. При отсутствии каких-либо негативных реакций после диагностического введения продукта рекомендовалось расширение рациона.

**Оценка физического развития**

Оценка физического развития детей проводилась с помощью специализированного пакета прикладных программ Всемирной организации здравоохранения Anthro и Anthro Plus [12].

Для определения соответствия массы тела, длины/роста, а также индекса массы тела к возрасту и распространенности нарушений нутритивного статуса (избыточного или недостаточного питания) был использован показатель Z-score [отклонение значений индивидуального показателя (масса тела, рост) от стандартного значения для данной популяции]. При этом учитывали величины Z-scores: массу тела для возраста (Weight-for-Age Z-score, WAZ), длину тела (рост) для возраста (Height-for-Age Z-score, HAZ), индекс массы тела для возраста (Body Mass Index (BMI)-for-Age Z-score, BAZ). Для выявления отклонений величин антропометрических показателей от медианы стандартной популяции были определены отрезные точки Z-scores. Дефицит массы тела (WAZ) или недостаточная длина (HAZ) тела ребенка устанавливались при величине соответствующей Z-score < -2SD. Высокий показатель роста/длина тела характеризовался величиной HAZ > +2SD. Избыточная масса тела характеризовалась WAZ > 2SD, а также индексом массы тела для возраста BAZ > 1SD.

**Таблица 1.** Ключевые вопросы, которые необходимо задать родителям/законным представителям пациента в случае подозрения пищевой аллергии у ребенка (модифицировано по EAACI, 2014 [8])

Оценка анамнеза	Ключевые вопросы
Описание симптомов пищевой аллергии, вызванных приемом продукта	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Какие именно отмечались симптомы и как долго наблюдались?</li> <li>• Какое лечение было назначено?</li> <li>• Через какое время симптомы купировались?</li> </ul>
Выявление пищевого аллергена	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Какие продукты вызывают реакцию?</li> </ul>
Время появления реакции после контакта с аллергеном	<ul style="list-style-type: none"> <li>• В течение какого времени после контакта с предполагаемым аллергеном/продуктом развилась реакция?</li> </ul>
Воспроизводимость симптомов	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Носят ли симптомы рецидивирующий характер?</li> </ul>
Способ приготовления продукта	<ul style="list-style-type: none"> <li>• На что развилась реакция — на приготовленный продукт или продукт в сыром виде?</li> </ul>
Количество аллергена	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Какое количество продукта вызвало реакцию?</li> </ul>
Элиминационные диеты в анамнезе	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Соблюдал ли пациент элиминационные диеты ранее? Если да, то были ли они эффективными?</li> </ul>

Таблица 2. Оценка уровня sIgE

Класс концентрации	Оценка уровня	Концентрация sIgE, kUA/l
0	Недетектируемый	-
I	Низкий	0,35–0,7
II	Средний	0,7–3,5
III	Умеренно высокий	3,5–17,5
IV	Высокий	17,5–50
V	Очень высокий	50–100
VI	Предельно высокий	>100

**Лабораторные исследования**

Лабораторные исследования выполнены в централизованной клинико-диагностической лаборатории, лаборатории молекулярной генетики и клеточной биологии и лаборатории инструментальной и лабораторной диагностики НМИЦ здоровья детей. Взятие крови на анализ осуществляли в плановом порядке при поступлении ребенка в отделение после осмотра врачом-дерматологом, без дополнительной венопункции.

**Иммунологические и аллергологические методы обследования**

Иммунологические и аллергологические методы обследования включали в себя определение общей концентрации IgE сыворотки крови, sIgE сыворотки крови к наиболее распространенным пищевым аллергенам, а также аллергенам продуктов, наиболее часто используемым в питании детей — белкам коровьего молока (БКМ) и его фракциям (казеину, бета-лактоглобулину, бычьему сывороточному альбумину), сое, пшенице, ячменю, клейковине, яблоку, банану, груше, куриному яйцу, мясу курицы, индейки, кролика, свинины, говядины, баранины, рыбе (треска, лосось), а также к смесям бытовых аллергенов (клещи домашней пыли) с помощью метода непрямой иммунофлуоресценции на автоматическом анализаторе ImmunoCAP 250 (UniCAP System, Thermo Fisher Scientific, США).

Порог чувствительности анализатора ImmunoCAP 250 составляет 0,01 кЕ/л, референсное значение [граница (cut-off point)] для специфических IgE, согласно инструкции производителя тест-системы, равно 0,35 кЕ/л. При интерпретации результатов лабораторной диагностики полученные значения концентраций sIgE прошли разделение по классам сенсибилизации (табл. 2).

**Исходы исследования**

**Основной исход исследования**

Проанализированы клинические проявления ПА и характер сенсибилизации к пищевым белкам у детей с врожденным буллезным эпидермолизом.

**Дополнительные исходы исследования**

Проанализированы уровни концентрации общего IgE у детей с врожденным буллезным эпидермолизом.

**Анализ в подгруппах**

Поскольку существует несколько форм ВБЭ, отличающихся по патогенезу заболевания и, соответственно, глубине поражения кожного покрова, нами был проведен отдельный анализ в группе детей с простой формой ВБЭ (группа 1) и в группе детей с дистрофической формой ВБЭ (группа 2).

**Этическая экспертиза**

Работа выполнена в рамках научной темы «Оптимизация общих подходов к диагностике, лечению и реабилитации хронических дерматозов у детей» (номер регистрационной карты в ЕГИСУ НИОКР АААА-А17-117041800111-7. Исследование одобрено Локальным независимым этическим комитетом НМИЦ здоровья детей (№ 2/16 от 26.01.2016).

**Статистический анализ**

Размер выборки предварительно не рассчитывали. Обработку полученных данных проводили при помощи пакета статистических программ SPSS 20 (IBM, США). Статистическая обработка данных проводилась с использованием общепринятых методов вариационной статистики. Значимость различия для частотных показателей анализировали с помощью таблиц сопряженности с применением точного критерия Фишера. Рассчитывали доверительные интервалы для признаков — медианы, доли. Параметры, приводимые далее в таблицах, имеют следующие обозначения: *n* — объем анализируемой подгруппы, *Me* (*Q*<sub>1</sub>; *Q*<sub>3</sub>) — медиана и квартили, *p* — достигнутый уровень значимости. Рассчитывали коэффициенты ранговой корреляции Спирмена (*rs*). Разницу значений и/или сами значения (например *rs*, регрессионные коэффициенты и т.д.) считали значимыми при *p*<0,05.

**Результаты**

**Объекты (участники) исследования**

В исследование были включены 82 пациента с ВБЭ:

- 62 ребенка с дистрофической формой ВБЭ в возрасте от 11 мес до 16 лет 2 мес (*Me* 8,9 лет [3,6; 13,9]);
- 20 детей с простой формой ВБЭ в возрасте от 2 мес до 9 лет 2 мес (*Me* 5,6 лет [2,11; 7,3]).

Общая характеристика больных представлена в табл. 3.

На основании анализа антропометрических данных в группе детей с простой формой ВБЭ недостаточность питания (*BAZ*<2) была выявлена у 5 пациентов, что составило 25,0%.

Таблица 3. Общая характеристика пациентов с врожденным буллезным эпидермолизом

Пациенты с ВБЭ	Возраст, лет <i>Me</i> [25; 75]	Пол, %	Площадь поражения кожи, % <i>Me</i> [25; 75]	Наличие пищевой аллергии, <i>n</i> (%)
Группа 1 Простая форма ВБЭ, <i>n</i> =20	5,6 [2,11; 7,3]	М — 45,0 Ж — 55,0	23,5 [19,1; 49,4]	2 (10,0)
Группа 2 Дистрофическая форма ВБЭ, <i>n</i> =62	8,9 [3,6; 13,9]	М — 45,2 Ж — 54,8	54,9 [49,2; 71,9]	15 (24,2)
Все пациенты с диагнозом ВБЭ, <i>n</i> =82	-	-	-	17 (20,7)

Примечание. ВБЭ — врожденный буллезный эпидермолиз

Среди детей с дистрофической формой ВБЭ величина Z-score по всем исследуемым параметрам (WAZ, BAZ, HAZ) в большинстве случаев была >2. Так, недостаточность питания (BAZ<2) была выявлена у 36 больных, или 59,7%.

**Основные результаты исследования**

**Характеристика клинических проявлений ПА у детей с ВБЭ в зависимости от формы заболевания**

Следует отметить, что хронический кожный патологический процесс при ВБЭ, сопровождающийся появлением пузырей, а затем эрозий, с сопутствующими воспалением, инфицированием и выраженным зудом маскирует кожные проявления ПА. В связи с этим ни у одного из обследованных пациентов диагноз пищевой аллергии не был поставлен до настоящей госпитализации. Тем не менее при тщательном целенаправленном сборе анамнестических данных, а также знании четкой причинно-следственной связи появления симптомов с приемом того или иного вероятного причинно-значимого продукта удается не только предположить наличие ПА у ребенка, но и вычленить спектр предполагаемых причинно-значимых пищевых белков. Родители пациентов указывали на усиление зуда при приеме определенных продуктов или появление новых, нехарактерных для основного заболевания высыпаний. Важную дополнительную информацию давали результаты диагностической элиминационной диеты и диагностического введения продукта. В результате пищевая аллергия была диагностирована у 2 (10%) детей с простой формой ВБЭ и у 15 (24,2%) — с дистрофической. Наиболее частыми проявлениями ПА были гастроинтестинальные симптомы, включавшие разжиженный непереваренный стул, у детей первого года жизни — срыгивания. Наряду с указанными симптомами отмечались и такие кожные проявления, как усиление зуда после употребления причинно-значимого продукта; появление пятнисто-папулезной сыпи, эритематозных участков (рис. 1).

У 3 пациентов в группе детей с дистрофической формой ВБЭ как сопутствующее заболевание был диагностирован атопический дерматит. Верификация диагноза атопического дерматита проводилась в соответствии с критериями Hanifin и Rajka<sup>1</sup>. Основные проявления ПА у детей с ВБЭ представлены в табл. 4.

Как видно из табл. 4, среди детей с простой формой ВБЭ ПА была диагностирована лишь у 2 пациентов. Симптомы ПА у этих больных носили эпизодический харак-



**Рис. 1.** Сочетанные проявления клинических признаков врожденного буллезного эпидермолиза и пищевой аллергии у ребенка 9 мес

*Примечание.* А — эритематозные очаги на коже в области лба и щек; Б — пузырный элемент (синяя стрелка), эритематозно-сквамозный очаг (красная стрелка); В — эритематозные очаги в области груди.

тер, купировались исключением причинно-значимого продукта. В качестве этиологического фактора выступали продукты, содержащие БКМ.

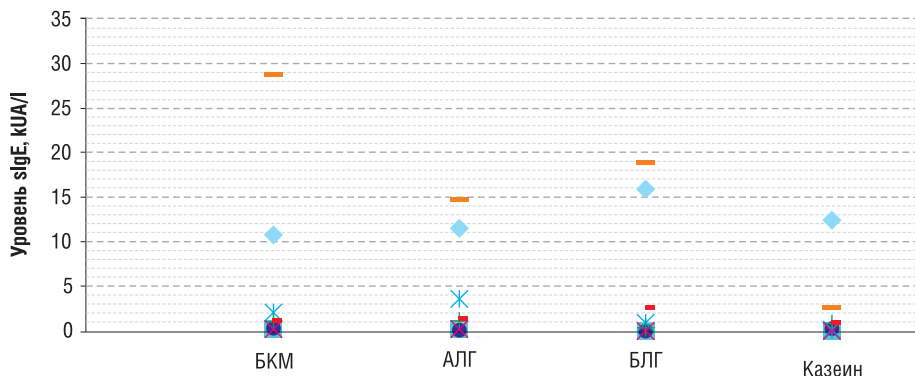
В группе детей с дистрофической формой ВБЭ ПА была диагностирована у 15 человек (см. табл. 4). Практически у всех пациентов с ПА отмечались гастроинтести-

**Таблица 4.** Характер проявлений пищевой аллергии у детей с врожденным буллезным эпидермолизом

Пациенты с ВБЭ	ПА, n (%)	Гастроинтестинальные проявления ПА, n (%)	Кожные проявления ПА, n (%)		Этиологический фактор ПА	Сопутствующая сенсibilизация к бытовым аллергенам, n (%)
			Зуд кожи, высыпания, n (%)	Атопический дерматит, n (%)		
Группа 1 Простая форма ВБЭ, n=20	2 (10,0)	1 (5,0)	1 (5,0)	0	БКМ, n=2	1 (5,0)
Группа 2 Дистрофическая форма ВБЭ, n=62	15 (24,2)	13 (20,9)	12 (13,9)	3 (4,8)	БКМ, n=11 Яйца, n=5 Глютен и злаки, n=6 Фрукты и овощи, n=7 Другие продукты, n=4	8 (12,9)

*Примечание.* ВБЭ — врожденный буллезный эпидермолиз, ПА — пищевая аллергия, БКМ — белки коровьего молока.

<sup>1</sup> J. Hanifin и W. Lobitz (1979), а позднее J. Hanifin и J. Rajka (1980) разработали и предложили диагностические критерии атопического дерматита, разделив их на две группы — большие (обязательные) и малые (дополнительные).



**Рис. 2.** Характер распределения sIgE (индивидуальные уровни sIgE) к белкам коровьего молока и его фракциям в группе детей с дистрофической формой врожденного буллезного эпидермолиза и пищевой аллергией

*Примечание.* БКМ — белки коровьего молока, АЛГ — альфа-лактальбумин, БЛГ — бета-лактоглобулин.

нальные симптомы ПА ( $n=13$ ) и усиление кожного зуда ( $n=12$ ). У 3 из них верифицированы проявления атопического дерматита, купировавшиеся или значительно уменьшившиеся после исключения из питания ребенка причинно-значимого продукта. В этиологической структуре ПА у детей с дистрофической формой ВБЭ лидировали молочные продукты ( $n=11$ ), у 6 пациентов были выявлены реакции на глютен и злаки, у 5 — на куриное яйцо, у 7 — на фрукты и овощи. У 4 больных также отмечались симптомы ПА на другие продукты — рыбу, говядину, свинину, курицу.

При анализе наследственности по аллергическим болезням среди детей с дистрофической формой ВБЭ и ПА выявлено, что лишь у 6 из них отмечалась отягощенная наследственность по аллергическим болезням по линии матери и/или отца.

**Характер сенсибилизации к пищевым белкам у детей с ВБЭ и ПА**

Определение уровней специфических IgE проводили всем детям с коморбидностью ВБЭ и ПА. Выявлено, что у большинства детей с дистрофической формой ВБЭ и ПА ( $n=11$ ) причинно-значимым пищевым аллергеном являлся БКМ (и/или его фракции). Характер распределения sIgE к БКМ и его фракциям в группе детей с дистрофической формой ВБЭ и ПА представлен на рис. 2.

sIgE к пищевым белкам растительного происхождения определялись в диапазоне от низкого до умеренно высокого класса сенсибилизации (рис. 3). Однако у 2 пациентов отмечались предельно высокие уровни sIgE к пшенице, ячменю и клейковине.

Продукты растительного происхождения выступали этиологическим фактором ПА в 8 случаях, что было подтверждено как наличием sIgE, так и реакциями на данные продукты в анамнезе; у 6 детей отмечались клинические

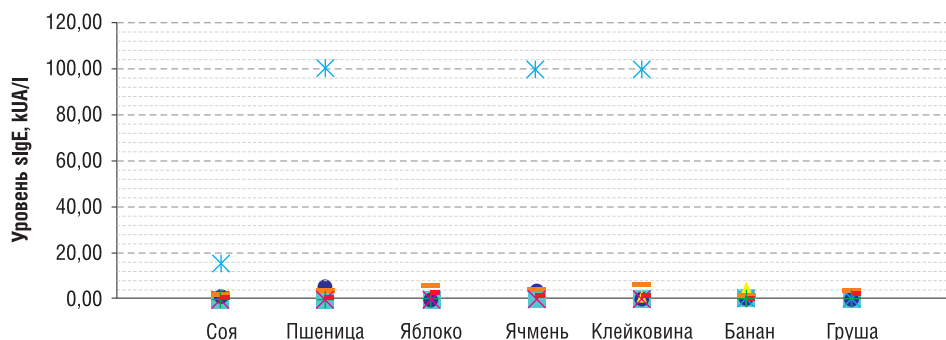
реакции на продукты, содержащие глютен и безглютеновые злаки, у 7 были реакции на фрукты (банан/яблоко или груша).

При анализе сенсибилизации к пищевым белкам животного происхождения обнаружено, что у 5 детей определялись повышенные титры sIgE к белку куриного яйца от низкого до умеренно высокого класса сенсибилизации, что во всех случаях сопровождалось реакциями на данный белок (рис. 4).

При анализе уровня общего IgE (tIgE) в группе детей с простой формой ВБЭ показатель выше возрастной нормы отмечался в 3 случаях (при этом он не превышал уровень 1000 kUA/l). У одного ребенка с повышенным уровнем tIgE была диагностирована ПА, у другого пациента в дальнейшем выявлена бытовая сенсибилизация.

При анализе уровня общего IgE в группе детей с дистрофической формой ВБЭ без проявлений ПА обнаружено его повышение у 20 пациентов, при этом в подавляющем большинстве случаев (у 18) уровень tIgE находился в пределах 1000 kUA/l. У 3 пациентов с повышенным уровнем tIgE была выявлена изолированная бытовая сенсибилизация, а у 4 детей без клинических проявлений ПА обнаружены sIgE к одному или двум пищевым аллергенам в пределах среднего уровня (до 2,1 kUA/l). Иная картина наблюдалась в группе детей с дистрофической формой ВБЭ, сочетающейся с ПА. Так, уровень tIgE превышал возрастную норму у 10 из 15 больных ПА, при этом у 6 пациентов уровень tIgE превышал отметку 1000 kUA/l (у 5 — >3000 kUA/l, у 4 — значительно превышал норму, не достигая при этом уровня 1000 kUA/l).

Таким образом, в целом в группе детей с дистрофической формой ВБЭ повышенные уровни tIgE наблюдались в 36,6% случаев ( $n=30$ ), статистически значимо чаще, чем в группе детей с простой формой ВБЭ ( $p<0,05$ ). У 17



**Рис. 3.** Характер распределения sIgE (индивидуальные уровни sIgE) к пищевым белкам растительного происхождения в группе детей с дистрофической формой врожденного буллезного эпидермолиза и пищевой аллергией



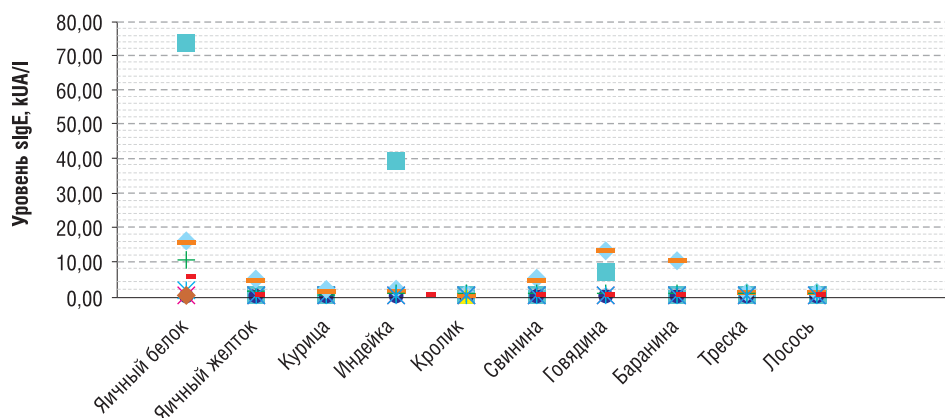


Рис. 4. Характер распределения sIgE (индивидуальные уровни sIgE) к пищевым белкам животного происхождения в группе детей с дистрофической формой врожденного буллезного эпидермолиза и пищевой аллергией

(34,1%) пациентов с дистрофической формой ВБЭ отмечено повышение уровня общего IgE, которое не сопровождалось ни отягощенностью анамнеза по аллергическим заболеваниям, ни выраженной сенсибилизацией к какому-либо из исследуемых аллергенов.

Проведенная в дальнейшем на основании аллергологического обследования, результатов диагностической диеты и при необходимости — диагностического введения продуктов коррекция рациона позволила купировать симптомы ПА аллергии у детей, что способствовало уменьшению симптоматики со стороны как кожных покровов, так и желудочно-кишечной системы. Так, у детей с аллергией к БКМ перевод на безмолочную диету с использованием высокогидролизированных и аминокислотных смесей позволил добиться быстрой положительной динамики и в отношении гастроинтестинальных симптомов, и кожных проявлений атопии, и в целом нутритивного статуса, что было бы невозможно без исключения из рациона основного причинно-значимого аллергена — белка коровьего молока [8].

В качестве иллюстрации важности диагностики ПА у детей с ВБЭ приведем короткое описание клинического наблюдения ребенка-участника группы данного исследования.

### КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ

Девочка А., 9 мес. *Диагноз основной:* Q81.2 Дистрофический рецессивный буллезный эпидермолиз, генерализованная форма; *сопутствующий:* недостаточность питания. Множественная пищевая аллергия, IgE-опосредованная форма.

*Жалобы при поступлении:* высыпания на коже лица, головы, туловища, верхних и нижних конечностей, сопровождаемые зудом и болезненностью; снижение аппетита.

*Краткий анамнез.* В семье — аллергические заболевания. Поражение кожи с рождения. Диагноз «Эпидермолиз буллезный дистрофический» установлен в первые дни жизни. Грудное вскармливание до 2 нед. С 2 нед в питании использовались молочные смеси, затем смеси на основе умеренно гидролизованного молочного белка (ГА). С 3 мес появилась сыпь на щеках, которая усиливалась при изменении питания (отмечались высыпания и выраженный зуд при введении творога, кефира, индейки, гречневой каши). В течение 2 мес (с 7 до 9 мес жизни) получала смесь на основе козьего молока, на фоне чего наблюдалось временное улучшение со стороны atopических проявлений с последующим обострением кожного процесса. Аппетит резко снижен, высасывает не

более 90–120 мл смеси. *Питание при поступлении:* смесь Нэнни — 90–120 мл по требованию (каждые 1–1,5 ч), овсяная каша — 100 г / 1 раз в день без учета фактического питания.

Вес 7,050 кг; рост 72 см.

*Показатели Z-score:* HAZ 0,51; WAZ 2,05; BAZ 2,52 — соответствуют умеренной недостаточности питания.

Общее состояние тяжелое. Кожно-патологический процесс носит распространенный симметричный характер, представлен пятнами, пузырями, эрозиями, корочками, чешуйками, рубчиками и локализован на коже волосистой части головы, лица, щек, носогубного треугольника, ушей, подбородка, шеи, туловища, верхних и нижних конечностей, ладоней и подошв.

*Субъективно:* болезненность, интенсивный зуд.

*На период обследования* на основании анамнестических данных ребенку была назначена элиминационная диета: аминокислотная смесь (Неокейт) по 100 мл 12 раз/день (100 ккал/кг в сутки) с выраженным положительным эффектом (отмечены улучшение аппетита, положительная динамика со стороны кожных высыпаний, уменьшение зуда).

*При обследовании:*

- общий белок сыворотки крови — 57 г/л;
- общий IgE — >3000 Ед/мл;
- специфические IgE (ImmunoCAP):
  - молоко — 10,76 kUA/l (умеренно высокий; III класс);
  - казеин — 12,42 kUA/l (умеренно высокий; III класс);
  - альфа-лактальбумин — 11,47 kUA/l (умеренно высокий; III класс);
  - бета-лактоглобулин — 15,9 kUA/l (умеренно высокий; III класс);
  - яичный белок — 73,6 kUA/l (очень высокий; V класс);
  - говядина — 6,4 kUA/l (умеренно высокий; III класс);
  - свинина — 1,17 kUA/l (средний; II класс);
  - мясо кролика — 0,99 kUA/l (средний; II класс);
  - мясо индейки — 38,7 kUA/l (высокий; IV класс);
  - рыба (треска) — 0,27 kUA/l (0 класс);
  - пшеница, ячмень, клейковина — более 100 kUA/l (предельно высокий; VI класс);
  - соя — 15,86 kUA/l (умеренно высокий; III класс);
  - дрожжи — 1,83 kUA/l (средний; II класс);
  - яблоко — 0,94 kUA/l (средний; II класс);
  - банан — 0,52 kUA/l (низкий; I класс);
  - груша — 0,41 kUA/l (низкий; I класс);

- смесь домашней пыли h×2 (*Hollister-Stier labs, Dermatophagoides pteronyssinus, Dermatophagoides farinae, Blattella germanica*) — положительно;
- смесь грибковых аллергенов m×2 (*Penicillium notatum, Cladosporium herbarum, Aspergillus fumigatus, Candida albicans, Alternaria alternate*) — положительно.

На основании клинико-лабораторного обследования ребенку был выставлен сопутствующий диагноз: «Недостаточность питания. Множественная пищевая аллергия, IgE-опосредованная форма» и сформирован гипоаллергенный безмолочный безглютеновый рацион с использованием аминокислотной смеси в соответствии с протоколом ведения детей с аллергией к БКМ [13]. Калорийность рациона была рассчитана по формуле для расчета питания детей с ВБЭ [6] и составляла 160 ккал/кг в сутки (145% возрастной нормы).

На фоне перевода на безмолочную диету в сочетании с комплексной терапией было отмечено значительное снижение зуда кожных покровов и выраженности гиперемии на участках кожи с пятнисто-папулезными элементами. Прибавка массы тела за 7 дней составила 380 г (8 г/кг в сутки), что является показателем эффективности проводимой диетотерапии.

56

### Нежелательные явления

В настоящем исследовании нежелательных/побочных эффектов не отмечалось.

### Обсуждение

В настоящем исследовании впервые проведен анализ встречаемости пищевой аллергии и сенсибилизации к пищевым аллергенам на большой (для такого редкого заболевания) группе детей с врожденным буллезным эпидермолизом. Проведенный анализ позволил констатировать высокую частоту ПА у этой категории больных, особенно в группе детей с дистрофической формой ВБЭ, у которых ПА была выявлена в 24,2% случаев. Следует отметить, что это несопоставимо выше, чем частота ПА по результатам популяционных исследований, проводимых в Европейском регионе. Так, по данным систематического обзора, представленного в клинических рекомендациях ЕААСИ (2014) [8], в среднем в Европейских странах частота пищевой аллергии составляет 5,9%. При этом повышенные уровни специфических sIgE к одному и более пищевым продуктам определяются в популяции в среднем в 10,1%. Сочетание клинических проявлений ПА с повышенным уровнем IgE к соответствующим пищевым белкам определяется у детей с частотой 1,3–4,6% [8].

Такой высокий процент случаев ПА среди детей с дистрофической формой ВБЭ, по всей видимости, связан с обширными нарушениями целостности кожных покровов, а также поражением слизистых оболочек желудочно-кишечного тракта, что приводит к избыточному поступлению антигенов, в том числе пищевых аллергенов, и, как следствие, формированию сенсибилизации.

Поскольку тяжелый кожный процесс при ВБЭ, а также свойственное этой патологии поражение желудочно-кишечного тракта маскируют проявления ПА, для этих детей характерна недооценка симптомов аллергии и гиподиагностика ПА, что в свою очередь влечет за собой неадекватные рекомендации по питанию: в частности, использование молочных смесей у детей с аллергией к БКМ не только ухудшает течение кожного процесса, но и способствует нарушению нутритивного статуса ребенка.

Также в настоящем исследовании впервые описана высокая частота встречаемости повышенного уровня общего IgE у детей с дистрофической формой ВБЭ, которая составила 36,6% и была статистически значимо выше, чем в группе детей с простой формой ВБЭ ( $p < 0,05$ ). Наиболее часто высокие и предельно высокие уровни общего IgE встречались у детей при сочетании дистрофической формы ВБЭ и ПА.

К сожалению, в рамках данного исследования у отдельных пациентов с дистрофическим ВБЭ причина повышения уровня общего IgE, в том числе и до предельных значений ( $>3000$  kUA/l), осталась не до конца выясненной. Так, у детей с дистрофической формой ВБЭ без клинических проявлений ПА высокие титры общего IgE были выявлены в 42,5% случаев ( $n=20$ ), при этом в 29,8% случаев ( $n=14$ ) — при отсутствии сенсибилизации к исследованным аллергенам. По всей видимости, такая высокая частота гиперпродукции иммуноглобулинов класса E у детей с дистрофической формой ВБЭ может объясняться двумя факторами. Во-первых, повреждение кожного и кишечного барьера способствует сенсибилизации к пищевым, аэро-, а возможно, и бактериальным аллергенам (уровни sIgE к которым в рамках данного исследования не оценивались). Во-вторых, могут иметь значения особенности иммунного ответа у этой категории больных, связанные с наличием постоянно действующего воспалительного фактора. Для изучения особенностей IgE-ответа у детей с дистрофической формой ВБЭ, безусловно, необходимы дальнейшие исследования.

### Резюме основного результата исследования

В группе детей с дистрофической формой ВБЭ ( $n=60$ ) ПА была диагностирована в 15 случаях (24,2%). Ее клиническими проявлениями были гастроинтестинальные симптомы и/или усиление кожного зуда и появление новых высыпаний, не типичных для основного заболевания. В этиологической структуре ПА у детей с дистрофической формой ВБЭ лидировали молочные продукты ( $n=11$ ); у 6 пациентов отмечалась ПА на глютен и злаки, у 5 — на куриное яйцо, у 7 детей имелись реакции на фрукты и овощи. У 4 больных также отмечались симптомы ПА на другие продукты — рыбу, говядину, свинину, курицу. У детей с простой формой ВБЭ ( $n=20$ ) ПА диагностирована лишь у 2 пациентов (10%).

Отдельного внимания в данном наблюдении заслуживает довольно частое выявление высоких ( $>1000$  kUA/l), а в ряде случаев (11,3%) — предельно высоких ( $>3000$  kUA/l) уровней общего IgE у больных с дистрофической формой ВБЭ. В группе детей с дистрофической формой ВБЭ повышенные уровни tIgE наблюдались в 36,6% случаев ( $n=30$ ) — статистически значимо чаще, чем в группе детей с простой формой ВБЭ ( $p < 0,05$ ).

### Обсуждение основного результата исследования

Дистрофические формы буллезного эпидермолиза характеризуются значительным повреждением кожных покровов и у подавляющего числа больных — также и слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта. Это одновременно приводит к нарушению барьерных свойств кожи и желудочно-кишечного тракта и создает условия для избыточного поступления во внутреннюю среду организма антигенов, в том числе пищевого происхождения. Анализ клинических данных показал, что ПА вносит свой вклад в общую клиническую картину, поэтому должна обязательно диагностироваться и учитываться в комплексной терапии этой сложной категории больных. Следует отметить, что вопросы пищевой сенсибилизации и пищевой

аллергии у данной категории больных не изучены. Так, в доступных источниках (Web of Science и PubMed) нами обнаружена всего одна работа, в которой М. Grunwald и соавт. [7] описали клинический случай наличия эозинофильных инфильтратов в сочетании с повышенным уровнем общего IgE у ребенка с дистрофической формой ВБЭ. Полученные нами данные свидетельствуют о том, что наличие ПА должно активно выявляться и учитываться при составлении рациона и осуществлении нутритивной поддержки у этой тяжелой категории больных [14–16].

Для уточнения природы гиперпродукции IgE (>1000 kUA/l, а в 11,3% случаев — >3000 kUA/l) и спектра сенсibilизации к различным группам аллергенов у пациентов с дистрофической формой ВБЭ необходимы дополнительные исследования.

### Ограничения исследования

Ограничением в настоящем исследовании в первую очередь являлся небольшой размер выборки, обусловленный характером самого заболевания, относящегося к группе орфанных. С этим же связан неоднородный возрастной состав исследуемой группы. Ограничением исследования явилось также отсутствие данных по уровню sIgE ко всем пищевым, бытовым и эпидермальным, бактериальным и грибковым антигенам: это не входило в задачи исследования и не было необходимым для формирования выводов по основным результатам настоящей работы. Однако это не позволило до конца расшифровать природу гиперпродукции IgE у некоторых детей обследованной группы.

### Заключение

Врожденный буллезный эпидермолиз относится к орфанным заболеваниям, и наблюдения, включающие большие группы таких больных, сами по себе являются редкостью. По всей видимости, именно в связи с этим в доступной нам литературе (Web of Science и PubMed) мы встретили только одно описание клинического случая сочетания дистрофической формы ВБЭ у ребенка с наличием эозинофильных инфильтратов и повышенным уровнем общего IgE, и не обнаружили исследований, связанных с анализом коморбидности ПА и ВБЭ, а также с характеристикой сенсibilизации у этой категории пациентов.

Впервые полученные в настоящем исследовании данные о высокой частоте ПА у детей с различными формами ВБЭ, особенностях клинических проявлений и спектре

сенсibilизации к пищевым аллергенам свидетельствуют о том, что наличие ПА должно активно выявляться и обязательно учитываться при составлении рациона питания этой сложной категории больных. В обследованной группе больных недиагностированная ПА приводила к утяжелению симптоматики, тогда как выявление причинно-значимых аллергенов и соответствующая коррекция рациона позволяли купировать часть симптомов у детей с ВБЭ, обусловленным коморбидной ПА.

Дети, страдающие дистрофической формой ВБЭ, имеют особые нутритивные потребности в связи с целым комплексом факторов, в том числе из-за потери питательных веществ с отслаивающимся эпителием и повышенных затрат в связи с хроническим воспалительным процессом. Организация нутритивной поддержки этой сложной категории больных представляет собой весьма непростую задачу. Наличие у ребенка пищевой аллергии, особенно аллергии к белкам коровьего молока, еще больше усложняет задачу формирования адекватного рациона этим детям, поскольку резко ограничивает для применения большую часть специализированных продуктов для энтерального питания и нутритивной поддержки.

Природа впервые описанного в настоящем исследовании частого выявления высоких (>1000 kUA/l) и в ряде случаев (11,3%) — предельно высоких (>3000 kUA/l) уровней общего IgE у больных с дистрофической формой ВБЭ требует дальнейшего изучения.

### Источник финансирования

ФГАУ «Национальный научно-практический центр здоровья детей» Минздрава России.

### Конфликт интересов

Авторы настоящей работы подтвердили отсутствие финансовой поддержки/конфликта интересов, который необходимо обнародовать. Получено письменное согласие на обнародование данных истории болезни у пациента.

### Выражение признательности

Авторы выражают признательность фонду «Дети-бабочки» за финансовую поддержку обследования и лечения детей с врожденным буллезным эпидермолизом.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Fine JD, Bruckner-Tuderman L, Eady RA, et al. Inherited epidermolysis bullosa: updated recommendations on diagnosis and classification. *J Am Acad Dermatol.* 2014;70(6):1103–1126. doi: 10.1016/j.jaad.2014.01.903.
2. Буллезный эпидермолиз / Под ред. Файна Дж.-Д., Хинтнера Х. — М.: Практика; 2014. — 358 с. [Fine JD, Hintner H, editors. *Life with epidermolysis bullosa (EB)*. Moscow: Praktika; 2014. 358 p. (In Russ).]
3. Fine JD, Mellerio JE. Extracutaneous manifestations and complications of inherited epidermolysis bullosa: part I. Epithelial associated tissues. *J Am Acad Dermatol.* 2009;61(3):367–385. doi: 10.1016/j.jaad.2009.03.052.
4. Fine JD, Mellerio JE. Extracutaneous manifestations and complications of inherited epidermolysis bullosa: part II. Other organs. *J Am Acad Dermatol.* 2009;61(3):387–403. doi: 10.1016/j.jaad.2009.03.053.
5. Tesi DJ, Lin AN. *Nutritional management of the epidermolysis bullosa patient*. In: Lin AN, Carter DM, editors. *Epidermolysis bullosa: basic clinical aspects*. New York: Springer-Verlag; 1992.
6. Haynes L. Clinical practice guidelines for nutrition support in children with epidermolysis bullosa including THINC (Tool to Help Identify Nutritional Compromise in EB). Great Ormond Street Hospital [cited 2017 Dec 24]. 2007. Available from: <http://www.nutricia-clinical-care.co.uk>.
7. Grunwald MH, Amichai B, Avinoach I, et al. Dystrophic epidermolysis bullosa associated with eosinophilic infiltrate and elevated serum IgE. *Pediatr Dermatol.* 1999;16(1):16–18. doi: 10.1046/j.1525-1470.1999.99004.x.
8. Muraro A, Werfel T, Hoffmann-Sommergruber K, et al. EAACI Food Allergy and Anaphylaxis Guidelines: diagnosis and management of food allergy. *Allergy.* 2014;69(8):1008–1025. doi: 10.1111/all.12429.



9. Roduit C, Frei R, Loss G, et al. Development of atopic dermatitis according to age of onset and association with early-life exposures. *J Allergy Clin Immunol.* 2012;130(1):130–136.e5. doi: 10.1016/j.jaci.2012.02.043.
10. Woodcock A, Lowe LA, Murray CS, et al. Early life environmental control - effect on symptoms, sensitization, and lung function at age 3 years. *Am J Respir Crit Care Med.* 2004;170(4):433–439. doi: 10.1164/rccm.200401-083OC.
11. Макарова С.Г., Намазова-Баранова Л.С., Вишнёва Е.А., и др. Актуальные вопросы диагностики пищевой аллергии в педиатрической практике // *Вестник Российской академии медицинских наук.* — 2015. — Т.70. — №1 — С. 41–46. [Makarova SG, Namazova-Baranova LS, Vishneva EA, et al. Topical issues of food allergy diagnosis in pediatric practice. *Annals of the Russian academy of medical sciences.* 2015;70(1):41–46. (In Russ).] doi: 10.15690/vramn.v70i1.1230.
12. WHO Multicentre Growth Reference Study Group. WHO Child Growth Standards based on length/height, weight and age. *Acta Paediatr Suppl.* 2006;450:76–85.
13. *Протокол ведения детей с пищевой аллергией. Клинические рекомендации Союза педиатров России /* Под ред. Баранова А.А., Намазовой-Барановой Л.С., Макаровой С.Г. — М.: ПедиатрЪ; 2016. — 52 с. [*Protokol vedeniya detei s pishchevoi allergiei. Klinicheskie rekomendatsii Soyuza pediatrov Rossii.* Ed by Baranov A.A., Namazova-Baranova L.S., Makarova S.G. Moscow: Pediatr”; 2016. 52 p. (In Russ).]
14. Allman S, Haynes L, Mackinnon P, Atherton DJ. Nutrition in dystrophic epidermolysis-bullosa. *Pediatr Dermatol.* 1992;9(3):231–238. doi: 10.1111/j.1525-1470.1992.tb00337.x.
15. Gamelli RL. Nutritional problems of the acute and chronic burn patient - relevance to epidermolysis bullosa. *Arch Dermatol.* 1988;124(5):756–759. doi: 10.1001/archderm.124.5.756.
16. Макарова С.Г., Намазова-Баранова Л.С., Мурашкин Н.Н., и др. Коррекция нутритивного статуса в комплексной терапии детей, страдающих дистрофической формой врожденного буллезного эпидермолиза // *Педиатрическая фармакология.* — 2016. — Т.13. — №6 — С. 577–587. [Makarova SG, Namazova-Baranova LS, Murashkin NN, et al. Correction of nutritional status in complex therapy for children suffering from dystrophic forms of innate epidermolysis bullosa. *Pediatric pharmacology.* 2016;13(6):577–587. (In Russ).] doi: 10.15690/pf.v13i6.1672.

### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Макарова Светлана Геннадиевна**, доктор медицинских наук, профессор кафедры факультетской педиатрии № 1 педиатрического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И. Пирогова; заведующая отделом профилактической педиатрии ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава России  
 Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (495) 967-14-20, e-mail: sm27@yandex.ru, SPIN-код: 2094-2840, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-3056-403X>

**Намазова-Баранова Лейла Сеймуровна**, доктор медицинских наук, профессор, академик РАН, заместитель директора по научной работе ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава России; директор НИИ педиатрии ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава России; заведующая кафедрой факультетской педиатрии № 1 педиатрического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И. Пирогова  
 Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (495) 134-15-19, e-mail: namazova@nczd.ru, SPIN-код: 1312-2147, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-2209-7531>

**Мурашкин Николай Николаевич**, доктор медицинских наук, заведующий отделением дерматологии ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава России  
 Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (495) 134-08-89, e-mail: m\_nn2001@mail.ru, SPIN-код: 5906-9724, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0003-2252-8570>

**Епишев Роман Владимирович**, врач отделения дерматологии ФГАУ «Национальный научно-практический центр здоровья детей» Минздрава России  
 Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (495) 134-08-89, e-mail: drepishev@gmail.com, SPIN-код: 5162-7846, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-4107-4642>

**Чумбадзе Тамара Робертовна**, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отдела профилактической педиатрии ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава России  
 Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (495) 967-14-20, e-mail: tamararob@rambler.ru, SPIN-код: 9760-0549, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-8172-5710>

**Кожевникова Ольга Викторовна**, кандидат медицинских наук, заведующая отделом инструментальной и лабораторной диагностики НИИ педиатрии ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава России  
 Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (495) 134-06-68, e-mail: fd@nczd.ru, SPIN-код: 2215-2910, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0001-8562-6851>

**Сноуская Марина Андреевна**, кандидат медицинских наук, врач клинической лабораторной диагностики отдела инструментальной диагностики НИИ педиатрии ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава России  
 Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (495) 134-06-68, e-mail: snows@inbox.ru, SPIN-код: 9899-1095, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-5263-6743>

**Вишнёва Елена Александровна**, кандидат медицинских наук, заместитель директора по научной работе ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей»; заведующая отделом стандартизации и клинической фармакологии ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава России  
 Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (499) 134-03-92, e-mail: vishneva@nczd.ru, SPIN-код: 1109-2810, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0001-7398-0562>

**Ерешко Оксана Александровна**, аспирант ФГАУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет); младший научный сотрудник отдела профилактической педиатрии ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава России  
 Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (495) 967-14-20, e-mail: ksenya2005@inbox.ru, SPIN-код: 3893-9946, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1650-652X>

**Ясаков Дмитрий Сергеевич**, аспирант ФГАУ «Национальный научно-практический центр здоровья детей», младший научный сотрудник отдела профилактической педиатрии ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава России  
 Адрес: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, д. 2, стр. 1, тел.: +7 (495) 967-14-20, e-mail: dmyasakov@mail.ru, SPIN-код: 4715-0974, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0003-1330-2828>

**Балабекова Фаина Гасанбековна**, врач-дерматолог ГБУ «Республиканский кожно-венерологический диспансер»  
 Адрес: 364901, Чеченская республика, Грозный, ул. Калашникова, 15, e-mail: elkhan.suleymanov@gmail.com, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0001-5190-4315>



DOI: 10.15690/vramn905

А.Г. Самохин<sup>1</sup>, Ю.Н. Козлова<sup>2</sup>, Д.В. Корнеев<sup>3</sup>, О.С. Таранов<sup>3</sup>, Е.А. Фёдоров<sup>1</sup>,  
В.В. Павлов<sup>1</sup>, В.В. Морозова<sup>2</sup>, Н.В. Тикунова<sup>2</sup><sup>1</sup> Новосибирский научно-исследовательский институт травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна,  
Новосибирск, Российская Федерация<sup>2</sup> Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения Российской академии наук,  
Новосибирск, Российская Федерация<sup>3</sup> Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору  
в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Кольцово, Российская Федерация

# Экспериментальное исследование антибактериальной активности литического стафилококкового бактериофага *ph20* и литического бактериофага синегнойной палочки *ph57* при моделировании их импрегнации в ортопедические полимерные конструкции из полиметилметакрилата (костного цемента)

59

**Обоснование.** Проблема бактериальной колонизации используемых в медицинской практике имплантатов из различных материалов продолжает оставаться актуальной, независимо от использованного для их изготовления материала. Отдельного внимания заслуживают имплантируемые в организм человека полимерные имплантаты, которые изготавливают *ex tempore* (по мере необходимости) из полиметилметакрилата, например при ортопедических хирургических вмешательствах (так называемый костный цемент). Защита таких имплантатов путем импрегнации в них антибиотиков подвергается множественной критике, поэтому в качестве альтернативы антибиотикам могут быть использованы литические бактериофаги, обладающие рядом уникальных преимуществ, однако экспериментальных работ по изучению возможности импрегнации бактериофагов в полиметилметакрилат и антибактериальной активности в таких условиях в литературе не опубликовано. **Цель исследования** — изучить возможность физического размещения бактериофагов в полиметилметакрилате и в модели *in vitro* охарактеризовать литический антибактериальный эффект двух различных штаммов бактериофагов при их импрегнации в изготавливаемый *ex tempore* полимерный носитель на этапе полимеризации. **Методы.** Первым этапом была проведена атомно-силовая микроскопия (АСМ) образцов полиметилметакрилата медицинского назначения для выяснения наличия и размеров каверн, образовавшихся после завершения полимеризации при различном диапазоне температур реакционной смеси (+6...+25 °C и +18...+50 °C). Вторым этапом *in vitro* было проведено импрегнация двух различных штаммов бактериофагов (*ph20*, активного в отношении *Staphylococcus aureus*, и *ph57*, активного в отношении *Pseudomonas aeruginosa*) в полиметилметакрилат на этапе полимеризации с последующим определением их антибактериальной активности. **Результаты.** В ходе выполнения АСМ установлена возможность размещения бактериофагов в кавернах полиметилметакрилата: медиана сечения и глубины каверн на внешней поверхности образца, полимеризованного при температуре +18...+50 °C, составила 100,0 и 40,0 нм соответственно, а на поверхности поперечного скола образца — 120,0 и 100,0 нм соответственно, что статистически не отличалось от геометрических размеров каверн образца, полимеризованного при температуре +6...+25 °C. Изучение антибактериальной активности показало, что импрегнированный при +6...+25 °C в полиметилметакрилат стафилококковый бактериофаг *ph20* утратил эффективный титр уже в течение первых шести суток с момента начала эксперимента, тогда как синегнойный бактериофаг *ph57* сохранял эффективный титр как минимум в течение 13 сут. **Заключение.** В исследовании была подтверждена возможность импрегнации бактериофагов в полиметилметакрилат медицинского назначения с поддержанием эффективного титра бактериофага при его эмиссии во внешнюю среду, что открывает пути возможного применения такого способа доставки бактериофагов в клинической практике. Также сделаны предположения о вероятной подверженности некоторых бактериофагов агрессивным воздействиям со стороны химических компонентов «костного цемента» и/или продуктов реакции полимеризации, что требует строгого отбора пригодных для подобного способа доставки штаммов бактериофагов.

**Ключевые слова:** бактериофаг, инфекция, костный цемент, полиметилметакрилат, *ex tempore*.

(Для цитирования: Самохин А.Г., Козлова Ю.Н., Корнеев Д.В., Таранов О.С., Фёдоров Е.А., Павлов В.В., Тикунова Н.В. Экспериментальное исследование антибактериальной активности литического стафилококкового бактериофага *ph20* и литического бактериофага синегнойной палочки *ph57* при моделировании их импрегнации в ортопедические полимерные конструкции из полиметилметакрилата (костного цемента). *Вестник РАМН*. 2018;73(1):59–68. doi: 10.15690/vramn905)

## Обоснование

Проблема полирезистентных штаммов патогенных микроорганизмов в клинической практике с каждым годом приобретает все большие масштабы, в связи с чем клиницистам по всему миру все чаще приходится сталкиваться со штаммами бактерий, против которых или нет эффективного антибиотика, или же для лечения возможен лишь один класс антибиотиков [1]. Одной из причин такого распространения бактериальной резистентности является наличие бактериальных биопленок, существенно осложняющих проникновение многих антибиотиков к мишеням. Надо отметить, что бактериальной колонизации могут быть подвержены любые виды хирургических имплантатов независимо от материала — будь то металлические либо полимерные, с последующим быстрым образованием биопленок на поверхности изделия (рис. 1) [2].

Широкое внедрение в медицинскую практику имплантируемых полимерных изделий привело к необходимости поиска способов их антибактериальной защиты. Особого внимания заслуживают имплантируемые в организм человека ортопедические полимерные конструк-

ции, которые изготавливают *ex tempore* (по мере надобности) в условиях операционной: речь идет о полиметилметакрилатных имплантатах различной конфигурации, применяемых при ортопедических хирургических вмешательствах на крупных суставах конечностей, при реконструктивных вмешательствах на позвоночнике и т.д. (так называемый костный цемент). Их использование подчас сопряжено с потенциально возможной бактериальной колонизацией такого полимерного имплантата, поэтому некоторые врачи-ортопеды, а также ряд производителей полимеров медицинского назначения нередко добавляют в состав такого полимера антибиотика как некое универсальное решение для обеспечения возможности санации имплантационного ложа после установки имплантата за счет диффузии антибиотика в окружающие ткани, поскольку в противном случае лечение присоединившихся инфекций области хирургического вмешательства становится чрезмерно затратным с экономической и сложным с клинической точки зрения.

Однако такой способ защиты имплантата из полиметилметакрилата также не является совершенным, поскольку диффузия антибиотика в окружающие ткани при хорошо гомогенизированном полиметилметакри-

A.G. Samokhin<sup>1</sup>, Y.N. Kozlova<sup>2</sup>, D.V. Korneev<sup>3</sup>, O.S. Taranov<sup>3</sup>, E.A. Fedorov<sup>1</sup>, V.V. Pavlov<sup>1</sup>, N.V. Tikunova<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Novosibirsk Research Institute of Traumatology and Orthopaedics n.a. Ya.L. Tsivyan, Novosibirsk, Russian Federation

<sup>2</sup> Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russian Federation

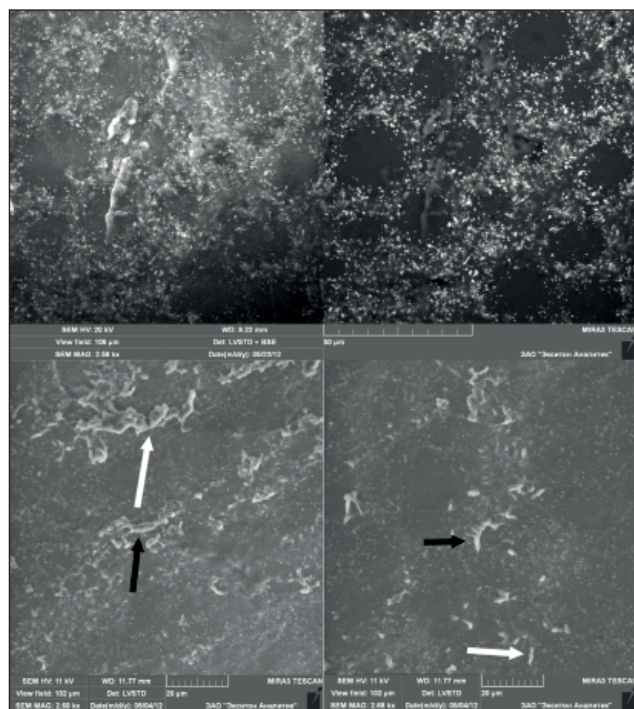
<sup>3</sup> Federal Scientific Centre of Virology and Biotechnology «Vector», Koltsovo, Russian Federation

## Experimental Study of the Antibacterial Activity of the Lytic *Staphylococcus Aureus* Bacteriophage *Ph20* and Lytic *Pseudomonas Aeruginosa* Bacteriophage *Ph57* when Modelling Impregnation into Poly (Methylmetacrylate) Orthopedic Implants (Bone Cement)

**Background:** The problem of bacterial colonization of implants used in medical practice continues to be relevant regardless of the material of the implant. Particular attention should be given to polymeric implants which are produced “*ex tempore*” from polymethyl methacrylate, for example, during orthopedic surgical interventions (so-called «bone cement»). The protection of such implants by antibiotic impregnation is subjected to multiple criticisms; therefore, as an alternative to antibiotics, lytic bacteriophages with a number of unique advantages can be used — however, no experimental studies have been published on the possibility of impregnating bacteriophages into polymethyl methacrylate and their antibacterial activity assessment under such conditions. **Aims:** To evaluate the possibility of physical placement of bacteriophages in polymethylmethacrylate and to characterize the lytic antibacterial effect of two different strains of bacteriophages when impregnated into polymer carrier *ex tempore* during the polymerization process in *in vitro* model. **Materials and methods:** First stage — Atomic force microscopy (AFM) of polymethyl methacrylate samples for medical purposes was used to determine the presence and size of caverns in polymethyl methacrylate after completion of its polymerization at various reaction temperatures (+6...+25°C and +18...+50°C). The second stage was performed *in vitro* and included an impregnation of two different bacteriophage strains (phage *ph20* active against *S. aureus* and *ph57* active against *P. aeruginosa*) into polymethyl methacrylate during the polymerization process, followed by determination of their antibacterial activity. **Results:** ACM showed the possibility of bacteriophages placement in the cavities of polymethyl methacrylate — the median of the section and the depth of cavities on the outer surface of the polymer sample polymerized at +18...+50°C were 100.0 and 40.0 nm, respectively, and on the surface of the transverse cleavage of the sample — 120.0 and 100.0 nm, respectively, which statistically did not differ from the geometric dimensions of the caverns of the sample polymerized at a temperature of +6...+25°C. The study of antibacterial activity showed that the *ph20* bacteriophage impregnated in polymethyl methacrylate at +6...+25°C lost its effective titer within the first six days after the start of the experiment, while the phage *ph57* retained an effective titer for at least 13 days. **Conclusion:** the study confirmed the possibility of bacteriophages impregnation into medical grade polymethyl methacrylate, maintaining the effective titer of the bacteriophage during phage emission into the external environment, which opens the way for the possible application of this method of bacteriophage delivery in clinical practice. It is also assumed that certain bacteriophages are susceptible to aggressive influences from the chemical components of «bone cement» and/or polymerization reaction products which requires strict selection of bacteriophage strains that could be suitable for this method of delivery.

**Key words:** bacteriophages, infection, bone cements, polymethyl methacrylate.

(**For citation:** Samokhin AG, Kozlova YN, Korneev DV, Taranov OS, Fedorov EA, Pavlov VV, Tikunova NV. Experimental Study of the Antibacterial Activity of the Lytic *Staphylococcus Aureus* Bacteriophage *Ph20* and Lytic *Pseudomonas Aeruginosa* Bacteriophage *Ph57* when Modelling Impregnation into Poly (Methylmetacrylate) Orthopedic Implants (Bone Cement). *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2018;73(1):59–68. doi: 10.15690/vramn905)



**Рис. 1.** Сформированная биопленка на поверхности полимерного имплантата из полиметилметакрилата, эксплантированного в ходе хирургического вмешательства

*Примечание.* Для биопленки на полимерных материалах характерно морфологическое разнообразие. На одном образце могут обнаруживаться как кокковые (белая стрелка), так и удлиненные (черная стрелка) формы бактерий, располагающиеся на поверхности в виде отдельных колоний. Сканирующая электронная микроскопия (фото сделано авторами).

лате может не происходить вовсе из-за возможного отсутствия проницаемости полиметилметакрилата для антибиотика [3] и чрезмерно высокой скорости эмиссии антибиотика из такого носителя, что радикально уменьшает сроки его терапевтической эффективности [4]. Помимо этого, в опубликованных в мировой литературе метааналитических и литературных обзорах последних лет показано, что импрегнация антибиотика в полиметилметакрилат демонстрирует эффективность не для всех видов классифицируемых в ортопедии локализаций и типов течения инфекционного процесса, показана вероятность развития интоксикации и гиперчувствительности к антибиотику наряду с нежелательной селекцией антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов [5, 6].

В качестве потенциальных кандидатов на роль терапевтического агента для защиты полимерных и металлоимплантатов, помимо антибиотиков, могут быть использованы также литические бактериофаги, которые в силу особенностей своей морфологии и активности обладают рядом уникальных преимуществ по сравнению с антибиотиками, в том числе способностью вырабатывать эндолизины, приводящие к лизису бактерий, а также преодолевать экзополимерный субстрат бактериальных биопленок, вызывая в них значительные изменения [7–9]. Поэтому применение литических бактериофагов для лизиса бактерий в биопленках или же разрушение самой структуры экзополисахарида под воздействием ферментных структур, кодируемых бактериофагами, представляются наиболее перспективными методами предотвращения колонизации имплантатов медицинского назначения.

Вместе с тем, поскольку экспериментальные исследования, посвященные фармакокинетике высвобождения терапевтических агентов из полиметилметакрилата в мировой литературе сравнительно редки, особенно по современному компонентному составу полимеров на его основе, то исследовательские работы в данной области всегда представляют живой интерес для практических врачей тех специальностей, что используют в своей повседневной деятельности подобные, формируемые *ex tempore* имплантаты из полиметилметакрилата. Отдельный интерес при этом представляет установление возможности использования бактериофагов в качестве альтернативного антибиотикам терапевтического агента для защиты полимерного носителя из полиметилметакрилата в условиях эксперимента *in vitro* для дальнейшей возможной экстраполяции его результатов на инфекционный процесс в окружающих имплантат тканях уже в условиях *in vivo*, поскольку на настоящий момент подобных сведений в мировой литературе не представлено. Дополнительный интерес представляет также и проблема защиты бактериофагов при такого рода импрегнации против термического разрушения бактериофагов в ходе реакции полимеризации под воздействием высоких температур.

В этой связи была сформулирована **цель исследования**: изучить возможность размещения бактериофагов в образцах полимеризованного полиметилметакрилата с точки зрения соответствия бактериофагов геометрическим характеристикам поверхности образцов и в модели *in vitro* охарактеризовать литический антибактериальный эффект двух различных штаммов бактериофагов при их импрегнации в изготавливаемый *ex tempore* полимерный носитель (полиметилметакрилат) на этапе полимеризации.

## Методы

### Условия эксперимента

Исследование было проведено двухэтапно: первым этапом была проведена атомно-силовая микроскопия (АСМ) образцов полиметилметакрилата, используемого при выполнении ортопедических хирургических вмешательств, которое требовалось для выяснения возможного наличия и размеров образовавшихся каверн после завершения его полимеризации при различной температуре окружающей среды.

Вторым этапом в лабораторных условиях было проведено моделирование для определения возможности добавления двух различных штаммов бактериофагов в полиметилметакрилат на этапе полимеризации с последующим определением их антибактериальной активности *in vitro*:

- 1) бактериофага *ph20* (штамм депонирован в коллекции бактерий, бактериофагов и грибов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора под номером *Ph-1312*), активного в отношении *Staphylococcus aureus*. В качестве бактериального тест-штамма был использован метициллинрезистентный *S. aureus* ATCC 43300 (США);
- 2) бактериофага *ph57* (штамм депонирован в коллекции бактерий, бактериофагов и грибов ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора под номером *Ph-357*), активного в отношении *Pseudomonas aeruginosa*. В качестве бактериального тест-штамма был использован тест-штамм *P. aeruginosa* ATCC 9027 (США).

На обоих этапах приготовление образцов полиметилметакрилата осуществляли с использованием коммер-



чески доступного полиметилметакрилата медицинского назначения DePuy SmartSet HV (DePuy International Ltd, Великобритания), состоящего из стерильного сухого вещества сополимера метилметакрилат/метакрилат с индуктором полимеризации (перекись бензоила) и стерильной жидкой фракции мономера (метилметакрилат) с кофактором полимеризации (N,N-диметил-р-толуидин).

Непосредственно полимеризацию производили на базе Института химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения РАН следующим способом: получаемую в стерильных чашках Петри в ходе перемешивания порошкообразного полимера и жидкого мономера стерильную реакционную смесь охлаждали до температуры +6...+25 °С на заранее приготовленном и охлажденном до -80 °С транспортном пластиковом контейнере, содержащем охлаждающий агент, разместив на нем чашки Петри, для снижения теплового выхода экзотермической реакции полимеризации, что позволяет существенно понизить пиковую температуру экзотермической реакции полимеризации со штатных 50–70 °С до 25 °С и тем самым снизить вероятность термического разрушения бактериофагов. Смешивание полимера и мономера производили в соотношении 1:2, т.е. к 1,0 г сухого вещества полимера добавляли 0,5 мл жидкого мономера. Указанную процедуру проводили с трехкратным контролем температуры при помощи инфракрасного дистанционного пирометра, что обеспечивало бесконтактное измерение температурных показаний в стерильной реакционной смеси при смешивании полимера и мономера с индуктором полимеризации.

**Первый этап.** Атомно-силовую микроскопию полимеризованных образцов полиметилметакрилата выполняли на базе ФБУН ГНЦ ВБ «Вектор» Роспотребнадзора.

Для этого был использован коммерчески доступный полиметилметакрилат медицинского назначения без добавления модифицирующих агентов (таких как антибиотики и т.п.), полимеризация которого была произведена двумя разными способами.

Первый — вышеописанный способ полимеризации реакционной смеси в диапазоне температур +6...+25 °С при температуре окружающей среды +24 °С с использованием принудительного охлаждения реакционной смеси. Максимальная достигнутая кратковременная пиковая температура реакционной смеси составила при этом +24,7 °С, средняя температура — +12,0 °С.

Второй — вышеописанный способ полимеризации реакционной смеси в диапазоне температур +18...+50 °С при температуре окружающей среды +24 °С без дополнительного охлаждения реакционной смеси (для моделирования температурных условий полимеризации в типичных вариантах применения *ex tempore* полиметилметакрилата медицинского назначения в медучреждениях). Максимальная достигнутая кратковременная пиковая температура реакционной смеси составила при этом +49,2 °С, средняя температура — +31,3 °С.

После этого полученные полимерные образцы по достижении затвердевания были подвергнуты АСМ, выполненной на АСМ-микроскопе SolverBio 47 с зондами HA\_HR серии ETALON (НТ-МДТ, Россия). Атомно-силовую микроскопию осуществляли по внешней поверхности образцов и по поверхности их поперечных сколов с целью визуализации профиля внешней поверхности и поверхности по линии поперечных сколов образцов, подсчета геометрических размеров каверн и их количества на единицу площади поверхности.

Для изучения рельефа внешней поверхности образцы закрепляли на предметном стекле при помощи цианоакрилатного клея. Для изучения поверхности поперечных сколов образцы разбивали ударом молотка через бумажные прокладки, осколки фиксировали на предметном стекле цианоакрилатным клеем.

Все снимки АСМ представлены в формате топографической карты поверхности. Измерение латеральных размеров каверн в образцах выполняли по топографическим снимкам, используя встроенное программное обеспечение микроскопа. Глубину каверн оценивали по топографическим профилям (сечениям) поверхности образцов.

**Второй этап** — моделирование для определения возможности добавления литического стафилококкового бактериофага *ph20*, активного в отношении метициллинрезистентного тест-штамма *S. aureus* ATCC 43300 (США), в полиметилметакрилат на этапе полимеризации и определение его антибактериальной активности *in vitro* к указанному тестовому штамму. Параллельно аналогичное моделирование было проведено со штаммом бактериофага *ph57*, активным в отношении *P. aeruginosa*, с определением его антибактериальной активности *in vitro* в отношении тест-штамма *P. aeruginosa* ATCC 9027 (США).

Модельный эксперимент проводили в условиях полимеризации в интервале температур реакционной смеси +6...+25 °С. По достижении стабилизации температуры в указанном интервале в реакционную смесь добавляли 100 мкл раствора, содержащего бактериофаг *ph20* в усредненном титре  $1,1 \times 10^9$  БОЕ/мл (бляшкообразующие единицы на миллилитр) либо бактериофаг *ph57* в усредненном титре  $2,4 \times 10^7$  БОЕ. После этого полимер повторно перемешивали до достижения гомогенного состояния получившейся полимерной композиции и придавали нужную (сферическую) конфигурацию конечному полимерному образцу для обеспечения возможности его размещения в стерильную пробирку, в которую после этого добавляли 1 мл физиологического раствора и помещали в термостат при +37 °С.

Для каждого использованного в эксперименте штамма бактериофага были изготовлены по 21 полимерному образцу, содержащему бактериофаг в составе полимерной композиции: серии по три идентичных образца на каждую из семи запланированных временных точек оценки литического действия бактериофага (результат оценивали спустя 1, 6, 9, 13, 16, 19 и 22 сут с момента приготовления образцов).

Результат литического действия бактериофага определяли путем анализа активности фаговых частиц методом двухслойного агара, в ходе которого подсчитывали количество негативных колоний (прозрачные пятна на матовом фоне глубинного роста бактерий) на каждой чашке Петри. Количество фаговых частиц рассчитывали по формуле:

$$K = A \times 1000 \times 10^n / V,$$

где  $K$  — количество фаговых частиц в 1 мл препарата,  $A$  — количество негативных колоний в чашке Петри,  $V$  — объем высеваемой пробы (в мл),  $10^n$  — порядковый номер разведения препарата, по которому производится расчет фаговых частиц.

Полученный в ходе вычислений результат интерпретировали следующим образом: достижение бактериофагом концентрации (титра) не менее  $10^6$  БОЕ/мл свидетельствует об эффективном литическом (антибакте-



риальном) воздействию бактериофага на целевой штамм микроорганизма(ов).

**Этическая экспертиза**

Проведенное исследование не нуждается в этической экспертизе (выписка из протокола Комитета по биоэтической этике ФГБУ «ННИИТО им. Я.Л. Цивьяна» Минздрава России № 080/17 от 10.10.2017).

**Статистический анализ**

**Принципы расчета размера выборки**

Предварительный расчет выборки в настоящем экспериментальном исследовании не производили.

**Методы статистического анализа данных**

Статистическую обработку полученных результатов исследования проводили при помощи программного обеспечения IBM SPSS v19.0 (США) путем вычисления описательных статистик и сравнения значений переменных, относящихся к дискретной шкале. Все описательные статистики представлены в виде непараметрических статистик — медианы (Me) и нижнего и верхнего квартилей [Q1; Q3].

В ходе первого этапа исследования при выполнении АСМ-исследования поверхностей полимерных образцов с учетом малых размеров выборок наблюдений при выполнении измерений в различных точках ( $n=15$ ) поверхности образцов сравнения между полимеризованными при различных условиях образцами проводили непараметрическим ранговым методом Вилкоксона. Различия сравниваемых величин при межгрупповом сравнении считали значимыми при значениях, не превышающих порогового уровня ( $\alpha$ ) отклонения нулевой гипотезы при двусторонней статистической значимости, принятого как  $\alpha=0,01$ .

**Результаты**

Для уточнения возможности использования полиметилметакрилата в качестве потенциального носителя для бактериофагов была проведена АСМ отвержденных образцов полиметилметакрилата, полимеризованных при описанных в разделе «Методы» условиях, в ходе которой было показано, что структура отвержденного полимера представляет собой кавернистую матрицу (рис. 2–9). Зарегистрированные медианы сечения и глубины каверн по внешней поверхности образцов и по их поперечным сколам представлены в табл. 1.

Атомно-силовая микроскопия образцов показала что, во-первых, геометрические размеры каверн в образцах не имеют статистически значимых различий при использованных температурных режимах полимеризации (во всех случаях сравнений образцов пороговый уровень отклонения нулевой гипотезы  $\alpha=0,01$  не был достигнут), а во-вторых, геометрия каверн и их количество на 1 мм<sup>2</sup> площади поверхности позволяет говорить о возможности размещения в них наноразмерных частиц, к которым относятся бактериофаги.

После того как была установлена возможность размещения бактериофагов в кавернах полиметилметакрилата, был проведен второй этап эксперимента в условиях *in vitro*, направленный на определение практической возможности депонирования бактериофагов *ph20* и *ph57* в кавернах полиметилметакрилата, формируемых в ходе полимеризации последнего, и оценке их возможного литического антибактериального эффекта при эмиссии из полимера.

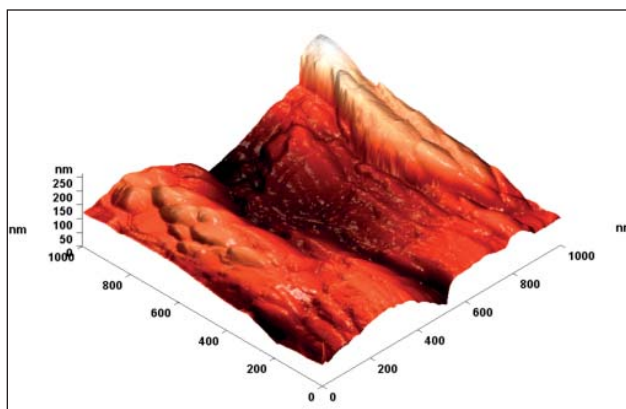


Рис. 2. Атомно-силовая микроскопия внешней поверхности образца, полимеризованного при температуре +6...+25 °С

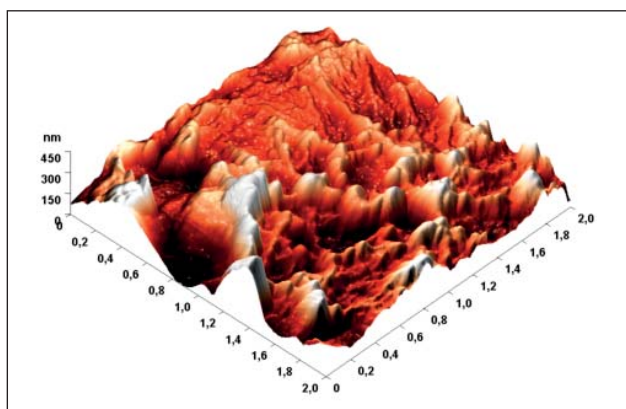


Рис. 3. Атомно-силовая микроскопия поверхности поперечного скола образца, полимеризованного при температуре +6...+25 °С

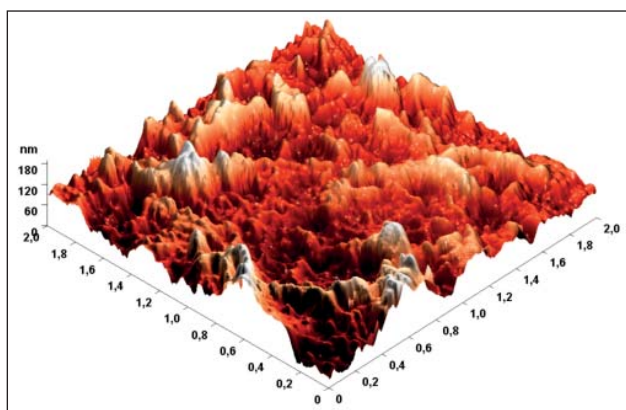


Рис. 4. Атомно-силовая микроскопия поверхности поперечного скола образца, полимеризованного при температуре +18...+50 °С

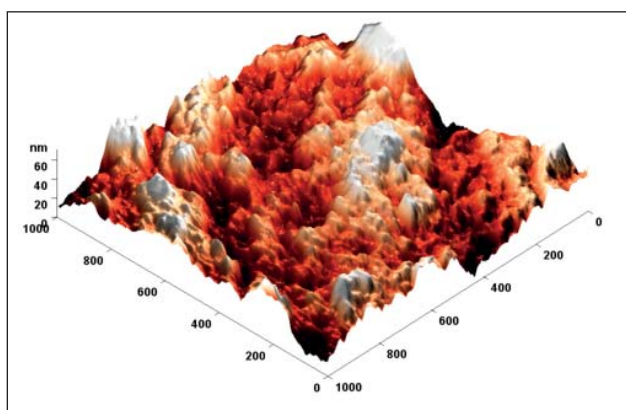


Рис. 5. Атомно-силовая микроскопия внешней поверхности образца, полимеризованного при температуре +18...+50 °С

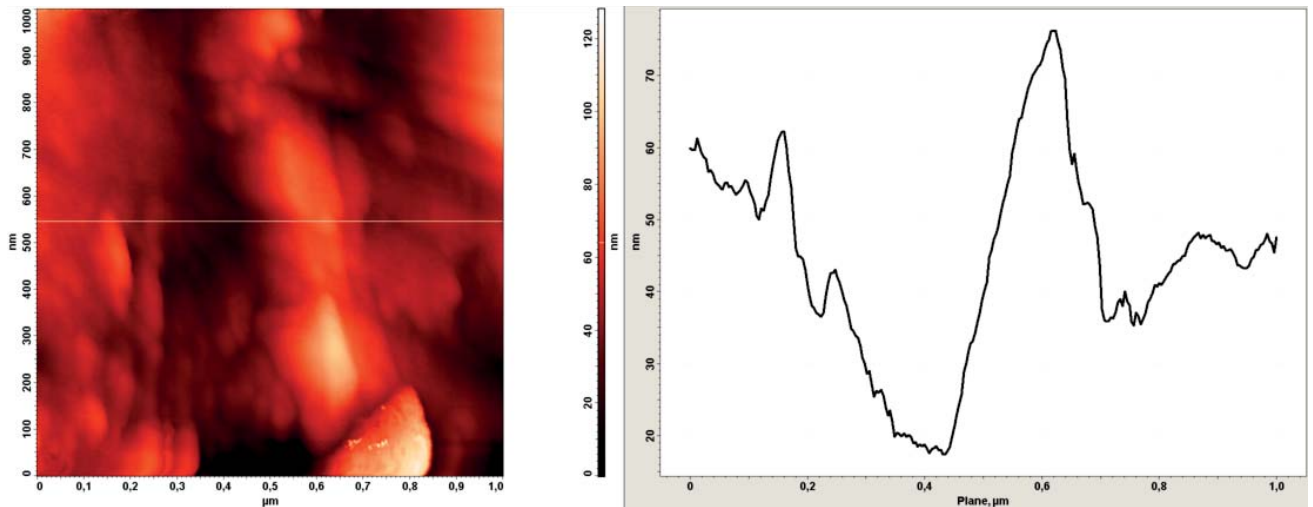


Рис. 6. Атомно-силовая микроскопия поверхности и профиля внешней поверхности образца, полимеризованного при температуре +6...+25 °С

64

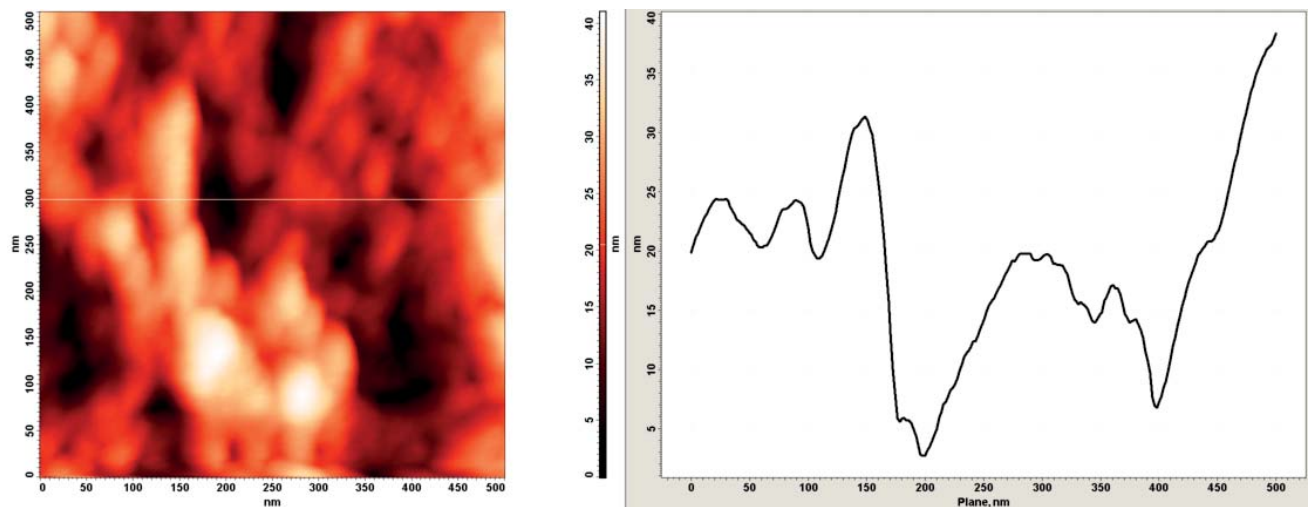


Рис. 7. Атомно-силовая микроскопия поверхности и профиля поверхности поперечного скола образца, полимеризованного при температуре +6...+25 °С

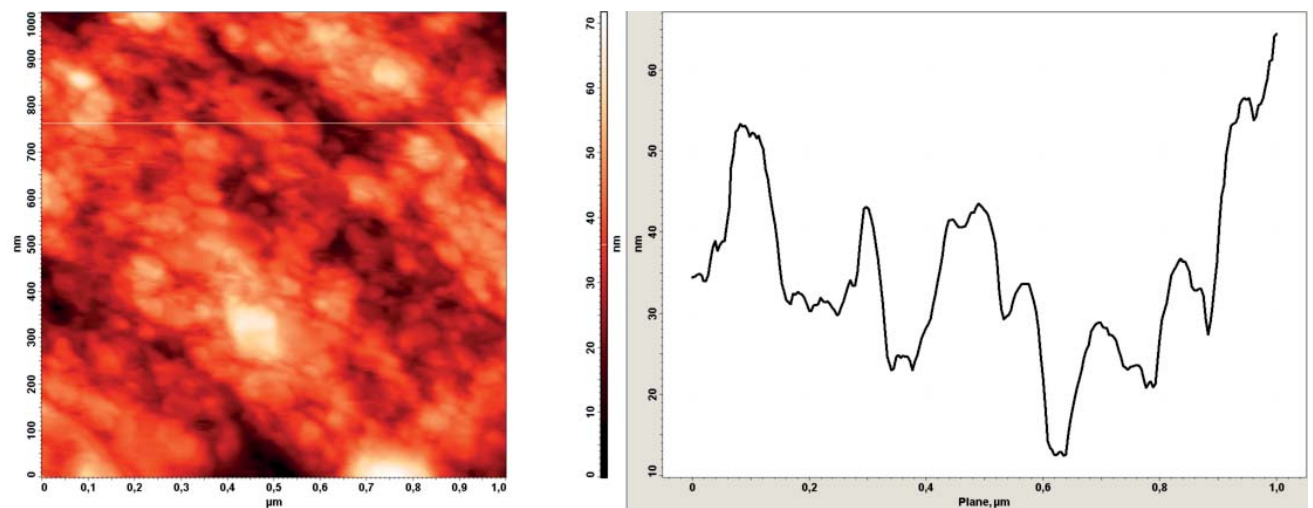


Рис. 8. Атомно-силовая микроскопия поверхности и профиля внешней поверхности образца, полимеризованного при температуре +18...+50 °С

Для этого был проведен модельный эксперимент, условия которого предусматривали импрегнацию бактериофага в полимер (полиметилметакрилат) с последующей гомогенизацией получившейся реакционной смеси (фаго-

полимерной композиции) и приданием сферической конфигурации образцу с преимущественным распределением бактериофага в поверхностных слоях образца. Результаты эксперимента для различных использованных штаммов

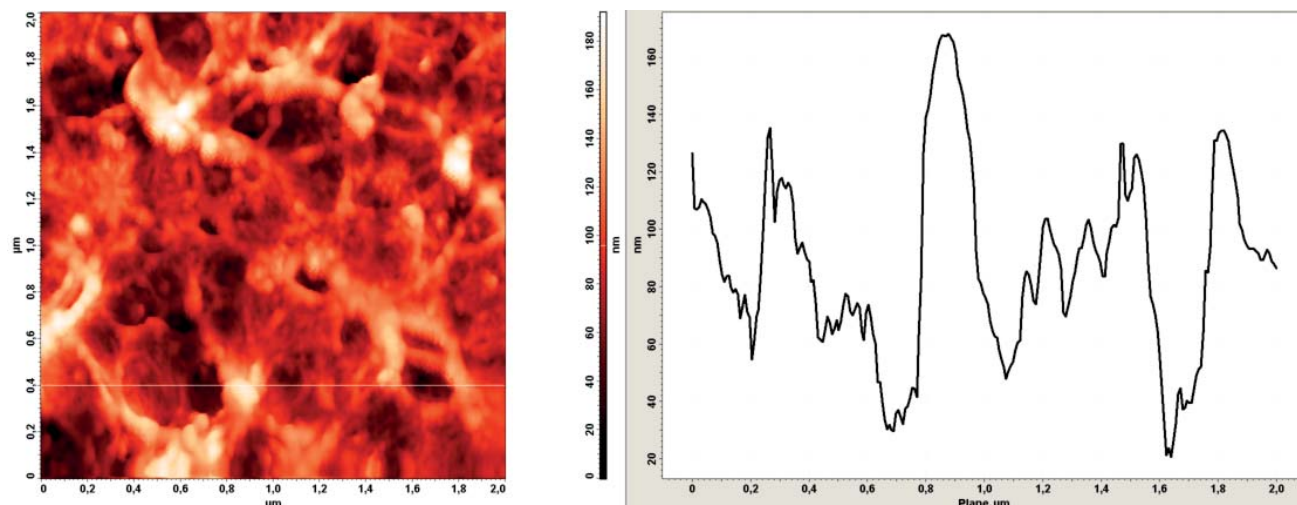


Рис. 9. Атомно-силовая микроскопия поверхности и профиля поверхности поперечного скола образца, полимеризованного при температуре +18...+50 °С

Таблица 1. Зарегистрированные размеры сечения и глубины каверн по внешней поверхности образцов и по их поперечным сколам (Ме [Q1; Q3])

Параметр	Сечение каверн, нм	Глубина каверн, нм	Кол-во каверн на 1 мм <sup>2</sup>
На внешней поверхности образца, полимеризованного при +18...+50 °С	100,0 [70,00; 140,00]	40,0 [30,00; 53,00]	От 4 до 12
На внешней поверхности образца, полимеризованного при +6...+25 °С	110,0 [25,00; 230,00] <i>p</i> =0,705*	47,0 [30,75; 117,50] <i>p</i> =0,817*	От 1 до 5
На поверхности поперечного скола образца, полимеризованного при +18...+50 °С	120,0 [90,00; 160,00]	100,0 [60,00; 130,00]	От 4 до 12
На поверхности поперечного скола образца, полимеризованного при +6...+25 °С	190,0 [60,00; 310,00] <i>p</i> =0,262**	32,0 [18,00; 121,50] <i>p</i> =0,027**	От 1 до 11

Примечание. \* — при сравнении с образцом, внешняя поверхность которого была полимеризована при +24 °С; \*\* — при сравнении с образцом, поверхность поперечного скола которого была полимеризована при +24 °С.

бактериофагов представлены в табл. 2 и 3, из которых следует, что бактериофаг *ph20* после его импрегнации в полиметилметакрилат фактически утратил эффективный

титр уже в течение первых шести суток с момента начала эксперимента, тогда как бактериофаг *ph57* сохранял эффективный титр как минимум в течение 13 суток.

Таблица 2. Величины титра бактериофага *ph20* в исследуемых образцах (*n*=7)

№ образца	Средняя достигнутая температура реакционной смеси в ходе реакции полимеризации каждого образца, °С	Титр бактериофага <i>ph20</i> в физиологическом растворе после 12 ч инкубации образцов с импрегнированным в них бактериофагом при температуре +37 °С, БОЕ/мл	Титр бактериофага после культивирования образцов с импрегнированным в них бактериофагом с культурой тест-штамма <i>S. aureus</i> ATCC 43300, БОЕ/мл
1	15,76	1×10 <sup>4</sup>	1,5×10 <sup>6</sup> (через 1 суток от начала эксперимента)
2	13,56	4×10 <sup>2</sup>	0 (ноль) (через 6 суток)
3	16,10	6×10 <sup>2</sup>	0 (ноль) (через 9 суток)
4	5,61	1×10 <sup>2</sup>	0 (ноль) (через 13 суток)
5	14,36	1×10 <sup>2</sup>	0 (ноль) (через 16 суток)
6	19,42	0 (ноль)	0 (ноль) (через 19 суток)
7	8,13	4×10 <sup>5</sup>	0 (ноль) (на 22-е сутки)



Таблица 3. Величины титра бактериофага *ph57* в исследуемых образцах ( $n=7$ )

№ образца	Средняя достигнутая температура реакционной смеси в ходе реакции полимеризации каждого образца, °С	Титр бактериофага в физиологическом растворе после 12 ч инкубации образцов с импрегнированным бактериофагом при температуре +37 °С, БОЕ/мл	Титр бактериофага после культивирования образцов с импрегнированным в них бактериофагом с культурой тест-штамма <i>P. aeruginosa</i> ATCC 9027, БОЕ/мл
1	13,81	$2 \times 10^6$	$1 \times 10^9$ (через 1 сутки от начала эксперимента)
2	10,95	$9,6 \times 10^5$	$6,7 \times 10^8$ (через 6 суток)
3	5,34	$3,4 \times 10^6$	$8,5 \times 10^8$ (через 9 суток)
4	7,63	$3 \times 10^6$	$5 \times 10^8$ (через 13 суток)
5	15,89	$2,7 \times 10^6$	$5 \times 10^6$ (через 16 суток)
6	18,42	$8 \times 10^5$	0 (ноль) (через 19 суток)
7	14,16	$4,5 \times 10^6$	0 (ноль) (на 22-е сутки)

### Обсуждение

Полученный результат свидетельствует о том, что при осуществлении в ходе полимеризации образцов перемешивания полимера до достижения гомогенного состояния получившейся полимерной композиции (что соответствует таковому при приготовлении аналогичных композиций в клинической практике) размещение в составе такой композиции бактериофага позволяет ожидать эмиссии бактериофага из каверн полимерного образца во внешнюю среду, поскольку зарегистрированные в ходе выполнения АСМ геометрические размеры каверн и их количество на  $1 \text{ мм}^2$  площади поверхности позволяют говорить о возможности размещения в них наноразмерных частиц, к которым относятся бактериофаги, что в конечном итоге предопределяет возможность импрегнации бактериофагов в полиметилметакрилат, например на этапе полимеризации последнего, и тем самым открывает возможность использовать полимерные имплантаты из полиметилметакрилата в качестве носителя для бактериофагов, что несет практическое значение для хирургических направлений в медицине.

При этом авторы не ставят под сомнение тот факт, что в ходе гомогенизации реакционной смеси полиметилметакрилата и бактериофага последние попадают как внутрь полимерной композиции, так и в ее поверхностный слой, контактирующий непосредственно с внешней средой, однако определить точное количество и соотношение сорбции бактериофагов внутри и снаружи полимерной композиции практически невозможно.

Результаты эксперимента также показывают, что с учетом характера использованного полимерного носителя (не обладает возможностью биоразложения, отверждение в ходе полимеризации является необратимым процессом) в случае полного погружения бактериофага в полимер либо в случае плохой гомогенизации возможность диффузии бактериофага сквозь каверны в структуре полимера будет отсутствовать, что будет выражаться в минимальных и клинически незначимых титрах бактериофага, не достигающих терапевтических величин, вследствие чего не будет происходить подавления роста колоний микроорганизма в ходе дальнейшей проверки литической активности бактериофага с тестовым штаммом микроорганизма.

С учетом вышесказанного можно говорить о том, что непосредственно антибактериальную эффективность терапевтического агента, помещенного в полиметилмета-

крилат, будет обеспечивать лишь та его часть, что в ходе гомогенизации попала в поверхностный слой полимера, откуда возможна диффузия во внешнюю среду из каверн, расположенных на поверхности полимерной композиции, отвержденной после полимеризации.

Несмотря на отсутствие в доступной мировой литературе публикаций, посвященных анализу литической активности в ходе эмиссии во внешнюю среду бактериофагов, помещенных в полиметилметакрилат, в пользу сделанных выше предположений говорят результаты многочисленных опубликованных работ, посвященных изучению фармакокинетики эмиссии во внешнюю среду антибиотиков, помещенных в полиметилметакрилат медицинского назначения: принципиальная суть таких исследований может быть экстраполирована и на полимерные композиции на основе полиметилметакрилата с импрегнированным бактериофагом. Так, в работе A. Baker и L. Greenham [3] было показано, что диффузия антибиотика в окружающие ткани при хорошо гомогенизированном полимере, например при использовании полиметилметакрилата, может не происходить вовсе из-за возможного отсутствия проницаемости полимерного цемента для антибиотика, поскольку данный материал не является биоразлагаемым. В работах других авторов, также работавших с антибиотиками, подобный недостаток пытались исправить увеличением концентрации антибиотика в полимере, но на практике отмечалось ухудшение прочностных свойств полимера наряду с возможностью появления токсических [6, 10] и аллергических побочных явлений, связанных с присутствием высоких доз антибиотика в составе такой полимерной композиции. Более того, необходимость увеличения концентрации терапевтического агента, в случае тех же антибиотиков, при ожидаемой неэффективности элиминации патогенной микробиоты также не всегда оправдана, т.к. скорость эмиссии антибиотика из поверхностных слоев такого носителя, как полиметилметакрилат, достаточно велика, и потому ведет к быстрому снижению концентрации антибиотика, что в эксперименте [4] было подтверждено возможностью последующей колонизации такого полимерного имплантата бактериями в течение нескольких суток (72 ч).

Вместе с тем необходимо также объяснить продемонстрированные в настоящем исследовании различные титры использованных бактериофагов в ходе эмиссии во внешнюю среду после их импрегнации в полиметилметакрилат, характеризовавшиеся тем, что стафилококковый



бактериофаг *ph20* фактически утратил эффективный титр уже в течение первых шести суток с момента начала эксперимента, тогда как синегнойный бактериофаг *ph57* сохранял эффективный титр как минимум в течение 13 сут.

Учитывая то, что условия приготовления образцов были идентичными, и исходя из предположения, что в ходе гомогенизации реакционной полимерной смеси полиметилметакрилата с бактериофагом последний попадал как в глубокий, так и в поверхностный слой образца, то одной из возможных причин такого различия в титрах бактериофагов можно предположить плохую переносимость штаммом бактериофага *ph20* контакта с полиметилметакрилатом или иными входящими в состав полимерной композиции веществами либо продуктами реакции полимеризации, способными оказать свое агрессивное воздействие на бактериофаг. В пользу вероятности такой причины может говорить тот факт, что в поданном ранее авторами патенте [11], характеризующем процесс полимеризации полиметилметакрилата с синегнойным бактериофагом *ph57* против *P. aeruginosa*, анализ титров образцов полимера с импрегнированным в него аналогичным способом бактериофагом не сопровождался катастрофическим снижением титра бактериофагов: напротив, были продемонстрированы терапевтические титры, эффективные в отношении целевого микроорганизма. Также дополнительным ограничением исследования могло послужить то, что еще одной возможной причиной нулевых титров бактериофага *ph20* на момент выполнения анализа титра в образцах может быть плохая переносимость использованным штаммом бактериофага *ph20* перепадов температур, которые возникают при охлаждении до +6...+25 °С во время приготовления реакционной смеси и последующем увеличении температуры до +37 °С при помещении образцов в термостат. В этой связи необходимо учитывать возможную подверженность некоторых бактериофагов такого рода агрессивным воздействиям, что может сказаться на выборе пригодных для подобного способа доставки штаммов бактериофагов.

Тем не менее практическая возможность импрегнации бактериофагов в полиметилметакрилат медицинского назначения с поддержанием эффективного титра бактериофага при его эмиссии во внешнюю среду была продемонстрирована как минимум на примере синегнойного бактериофага *ph57*, что открывает пути возможного применения такого способа доставки бактериофагов в клинической практике, например в медицинских учреждениях хирургического профиля, в частности — в травматолого-ортопедических хирургических стационарах.

#### Ограничения исследования

Авторы не ставили своей целью изучение механических характеристик полиметилметакрилата медицинского назначения, полимеризованного при температуре

в интервале от +6 до +25 °С, при изменении температуры полимеризации и добавлении в реакционную смесь бактериофагов, что было сделано в ходе постановки настоящего экспериментального исследования. Также авторы не учитывали в работе практическую длительность полимеризации до момента полного отвердевания образцов, поскольку в условиях понижения температуры экзотермической реакции полимеризации время отвердевания существенно удлиняется (процесс занимает примерно 45–55 мин) относительно типичного времени отвердевания «костного цемента».

Дополнительным ограничением исследования могла послужить возможная плохая переносимость одним из использованных в эксперименте штаммов бактериофага (в частности *ph20*) перепадов температур, которые возникают при охлаждении до +6...+25 °С во время приготовления реакционной смеси и последующем увеличении температуры до +37 °С при помещении образцов в термостат. Данный факт также рассмотрен в разделе «Обсуждение», и даны рекомендации по учету такого ограничения в практической деятельности.

#### Заключение

В ходе проведенного экспериментального исследования была подтверждена цель настоящей работы — возможность импрегнации в полиметилметакрилат медицинского назначения бактериофагов вместо антибиотика с сохранением эффективного титра бактериофагов при их эмиссии во внешнюю среду, что позволяет ожидать получения клинически значимых титров бактериофагов при таком способе их доставки в инфекционный очаг и открывает пути возможного практического применения данного способа в клинической практике.

#### Источник финансирования

Поисковая экспериментальная работа проведена на личные средства авторского коллектива.

#### Конфликт интересов

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

#### Выражение признательности

Авторы выражают признательность Владимиру Евгеньевичу Репину за его помощь на начальном этапе проведения исследования и в работе над патентом.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Skurnik D, Davis MR Jr, Benedetti D, et al. Targeting pan-resistant bacteria with antibodies to a broadly conserved surface polysaccharide expressed during infection. *J Infect Dis.* 2012;205(11):1709–1718. doi: 10.1093/infdis/jis254.
- Самохин А.Г., Козлова Ю.Н., Корнеев Д.В., и др. Современные экспериментальные методы предотвращения бактериальной адгезии и нарушения внутреннего гомеостаза бактерий: обзор литературы // *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований.* — 2017. — №11–2 — С. 248–254.
- [Samokhin AG, Kozlova YuN, Korneev DV, et al. Modern experimental methods of bacterial adhesion prevention and bacterial internal homeostasis impairment: a review. *Mezhdunarodnyi zhurnal prikladnykh i fundamental'nykh issledovaniy.* 2017;(11–2):248–254. (In Russ).]
- Baker AS, Greenham LW. Release of gentamicin from acrylic bone cement. Elution and diffusion studies. *J Bone Joint Surg Am.* 1988;70(10):1551–1557. doi: 10.2106/00004623-198870100-00015.

4. Schiefer UR, Heiss C, Dingeldein E, et al. [Elution kinetics and antimicrobial effects of gentamicin- and clindamycin-loaded bone cements in vitro. (In German).] *Z Orthop Unfall*. 2008;146(1):92–98. doi: 10.1055/s-2007-989301.
5. Wang J, Zhu C, Cheng T, et al. A systematic review and meta-analysis of antibiotic-impregnated bone cement use in primary total hip or knee arthroplasty. *PLoS One*. 2013;8(12):e82745. doi: 10.1371/journal.pone.0082745.
6. Hinarejos P, Guirro P, Puig-Verdie L, et al. Use of antibiotic-loaded cement in total knee arthroplasty. *World J Orthop*. 2015;6(11):877–885. doi: 10.5312/wjo.v6.i11.877.
7. Тикунова Н.В., Власов В.В. Бактериофаги — враги наших врагов // *Наука из первых рук*. — 2013. — №2 — С. 58–69. [Tikunova NV, Vlasov VV. Bakteriofagi — vragi nashikh vragov. *Nauka iz pervykh ruk*. 2013;(2):58–69. (In Russ).]
8. Самохин А.Г., Фёдоров Е.А., Козлова Ю.Н., и др. Применение литических бактериофагов при хирургическом лечении парапротезной инфекции эндопротеза тазобедренного сустава (пилотное исследование) // *Современные проблемы науки и образования*. — 2016. — №6. [Samokhin AG, Fedorov EA, Kozlova YuN, et al. Application of the lytic bacteriophages during surgical treatment of the periprosthetic infection of the hip joint endoprosthesis (pilot study). *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2016;(6). (In Russ).]
9. Fenton M, Ross P, McAuliffe O, et al. Recombinant bacteriophage lysins as antibacterials. *Bioeng Bugs*. 2010;1(1):9–16. doi: 10.4161/bbug.1.1.9818.
10. Bunetel L, Segui A, Cormier M, et al. Release of gentamicin from acrylic bone cement. *Clin Pharmacokinet*. 1989;17(4):291–297. doi: 10.2165/00003088-198917040-00006.
11. Патент на изобретение РФ RU 2475273. Козлова Ю.Н., Самохин А.Г., Павлов В.В., Репин В.Е. Способ получения полимерного цемента медицинского назначения. Оpubл. 20.02.2013. [Patent RU №2475273 / 20.02.2013. Byul. №5. Kozlova YuN, Samokhin AG, Pavlov VV, Repin VE. Sposob polucheniya polimernogo tsementa meditsinskogo naznacheniya. (In Russ).] Доступно по: <http://www.freepatent.ru/images/patents/257/2475273/patent-2475273.pdf>. Ссылка активна на 12.12.2017.

#### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Самохин Александр Геннадьевич**, старший научный сотрудник лабораторно-экспериментального отдела Новосибирского научно-исследовательского института травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна Минздрава России  
**Адрес:** 630091, Новосибирск, ул. Фрунзе, д. 17, **тел.:** +7 (383) 363-31-31, **e-mail:** motorist@inbox.ru,  
**ORCID ID:** <http://orcid.org/0000-0001-5599-3925>, **SPIN-код:** 4482-7718

**Козлова Юлия Николаевна**, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии Института химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения РАН  
**Адрес:** 630090, Новосибирск, пр. Ак. Лаврентьева, д. 8, **тел.:** +7 (383) 363-51-57, **e-mail:** ulona@ngs.ru,  
**ORCID ID:** <http://orcid.org/0000-0003-0811-8110>, **SPIN-код:** 2747-9587

**Корнеев Денис Владимирович**, научный сотрудник лаборатории микроскопических исследований Государственного научного центра вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Роспотребнадзора  
**Адрес:** 630559, Новосибирская обл., пос. Кольцово, **тел.:** +7 (383) 363-47-00, **e-mail:** korneev\_dv@vector.nsc.ru,  
**ORCID ID:** <http://orcid.org/0000-0003-4350-8317>, **SPIN-код:** 4040-3757

**Таранов Олег Святославович**, заведующий лабораторией микроскопических исследований Государственного научного центра вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека Роспотребнадзора  
**Адрес:** 630559, Новосибирская обл., пос. Кольцово, **тел.:** +7 (383) 363-47-00, **e-mail:** taranov@vector.nsc.ru,  
**ORCID ID:** <http://orcid.org/0000-0002-6746-8092>, **SPIN-код:** 5894-6518

**Фёдоров Евгений Александрович**, врач-ортопед отделения эндопротезирования суставов и осложнений Новосибирского научно-исследовательского института травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна Минздрава России  
**Адрес:** 630091, Новосибирск, ул. Фрунзе, д. 17, **тел.:** +7 (383) 363-31-31, **e-mail:** evgeniifedorov1987@mail.ru,  
**ORCID ID:** <http://orcid.org/0000-0003-4084-4956>, **SPIN-код:** 9688-8822

**Павлов Виталий Викторович**, заведующий отделением эндопротезирования суставов и осложнений Новосибирского научно-исследовательского института травматологии и ортопедии им. Я.Л. Цивьяна Минздрава России  
**Адрес:** 630091, Новосибирск, ул. Фрунзе, д. 17, **тел.:** +7 (383) 363-31-31, **e-mail:** pavlovdoc@mail.ru,  
**ORCID ID:** <https://orcid.org/0000-0002-8997-7330>, **SPIN-код:** 7596-2960

**Морозова Вера Витальевна**, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии Института химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения РАН, **e-mail:** morozova@niboch.nsc.ru,  
**ORCID ID:** <http://orcid.org/0000-0002-0869-3476>, **SPIN-код:** 4915-9723

**Тикунова Нина Викторовна**, заведующая лабораторией молекулярной микробиологии Института химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения РАН  
**Адрес:** 630090, Новосибирск, пр. Ак. Лаврентьева, д. 8, **тел.:** +7 (383) 363-51-57, **e-mail:** tikunova@niboch.nsc.ru,  
**ORCID ID:** <http://orcid.org/0000-0002-1687-8278>, **SPIN-код:** 2096-3645

DOI: 10.15690/vramn967

В.Н. Николенко<sup>1,2</sup>, В.А. Кудряшова<sup>1</sup>, М.В. Оганесян<sup>1</sup>, Н.А. Ризаева<sup>1</sup>, Ф.Х. Закиров<sup>1</sup><sup>1</sup> Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Российская Федерация<sup>2</sup> Московский государственный университет им. М.В. Ломоносова, Москва, Российская Федерация

## Дмитрий Аркадьевич Жданов — основоположник функциональной анатомии лимфатической системы (к 110-летию со дня рождения)

*Дмитрий Аркадьевич Жданов — выдающийся представитель отечественной морфологической школы, академик АМН СССР, крупный деятель науки в области лимфологии, талантливый руководитель и мудрый наставник. Д.А. Жданов представил совершенно новый взгляд на преподавание и изучение анатомии, расширив тем самым знания о многих аспектах строения и функций лимфатической системы, раскрыл новые, неизвестные ранее факты, определив темы для дальнейшего изучения. Являясь основателем функционального направления в анатомии лимфатической системы, Д.А. Жданов воспитал множество ученых-морфологов, которые продолжили его дело. В статье освещены основные направления работы Д.А. Жданова (изучение лимфатической системы, активная педагогическая и наставническая деятельность), его главные открытия и методы, которыми он пользовался в своих исследованиях; раскрыта многогранная и разносторонняя личность ученого. Описаны труды Д.А. Жданова и в других областях, таких как история медицины и искусство; проанализированы его международная научная деятельность и роль в становлении отечественной анатомической школы. Также представлены элементы биографии, описания исследований, воспоминания коллег о работе Д.А. Жданова.*

**Ключевые слова:** академик Жданов, анатомия, лимфатическая система, лимфология, морфология, наставник, история медицины.

**(Для цитирования:** Николенко В.Н., Кудряшова В.А., Оганесян М.В., Ризаева Н.А., Закиров Ф.Х. Дмитрий Аркадьевич Жданов — основоположник функциональной анатомии лимфатической системы (к 110-летию со дня рождения). *Вестник РАМН*. 2018;73(1):69–73. doi: 10.15690/vramn967)

Дмитрий Аркадьевич Жданов родился 15 сентября 1908 г. в Тамбове. Его отец вел счета в крестьянском банке, а после Октябрьской революции 1917 года работал в различных профессиональных учреждениях. Д.А. Жданов обучался в средней школе г. Орла в течение 9 лет и после ее окончания в 1924 г. поступил на медицинский факультет Воронежского университета (ныне Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко).

Уже в первые годы обучения в институте Д.А. Жданов проявлял большой интерес к строению человеческого тела: так, будучи на втором курсе, он уже начал работать препаратором на кафедре нормальной анатомии. Дмитрий Аркадьевич увлекся процессом изготовления препаратов, участвовал в организации практических занятий для других студентов университета. Во время летних каникул юный студент не прекращал заниматься меди-

V.N. Nikolenko<sup>1,2</sup>, V.A. Kudryashova<sup>1</sup>, M.V. Oganesyanyan<sup>1</sup>, N.A. Rizaeva<sup>1</sup>, F.H. Zakirov<sup>1</sup><sup>1</sup> I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russian Federation<sup>2</sup> M.V. Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

## Dmitry A. Zhdanov — the Founder of the Functional Anatomy of the Lymphatic System (to the 110th Birth Anniversary)

*D.A. Zhdanov is the eminent member of Russian anatomy school, member of the USSR Academy of Medical Sciences, great lymphologist, talented master and wise mentor whose 110th jubilee is held this year. Having introduced completely new way of teaching and learning anatomy, Zhdanov expanded knowledge of functions and structure of lymphatic system, presented new information unknown before and determined direction of further studies for his disciples. Being the founder of functional anatomy of the lymphatic system, D.A. Zhdanov brought up a lot of scientists of morphology who developed the aspects he had noticed. The article reveals main directions of Zhdanov's occupation and activity (studying the lymphatic system, mentorship and tutorship); major findings and methods which he used in his research works; his interesting and many-sided personality. The article also describes works of D.A. Zhdanov in other scientific areas such as history of medicine and art, analyzes his international scientific work and role in formation of the Russian anatomy school, presents some biographical data, description of researches and recollections of colleagues.*

**Key words:** academician Zhdanov, anatomy, lymphatic system, lymphology, morphology, mentor, history of medicine.

**(For citation:** Nikolenko VN, Kudryashova VA, Oganesyanyan MV, Rizaeva NA, Zakirov FH. Dmitry A. Zhdanov — the Founder of the Functional Anatomy of the Lymphatic System (to the 110th Birth Anniversary) *Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2018;73(1):69–73. doi: 10.15690/vramn967)

чиной, работая ординатором хирургического отделения Липецкой больницы. Все больше увлекаясь наукой, он в 1928 г. опубликовал свою первую статью «Случай двух дивертикул уретры» [1].

После окончания университета в 1929 г. Д.А. Жданов приступил к работе в качестве ассистента кафедры нормальной анатомии, которую в тот момент возглавлял профессор Г.М. Иосифов. Это послужило продолжением его научно-педагогической деятельности. Уже в 1929 г. в Научном медицинском обществе Воронежского университета молодой ученый подготовил сообщение о лимфатических сосудах суставов нижней конечности. В 1931 г. Д.А. Жданов был направлен в научную командировку в Ленинград, где в рентгенорадиологическом институте разрабатывал новые методы исследования лимфатической системы, Дмитрий Аркадьевич использовал комплексные методы и сочетал различные способы исследования: применял полихромную инъекцию, пластмассовую микрокоррозию, метод меченых атомов, люминесцентную и электронную микроскопию, микрорентгенографию; исследовал гистопографию органов, осуществлял импрегнацию нервов сосудистой стенки. Так он смог получить новые данные о строении лимфатических капилляров, сосудов, крупных стволов и протоков.

В период с 1932 по 1934 г. Д.А. Жданов исполнял обязанности заведующего кафедрой нормальной анатомии Г.М. Иосифова — вначале по причине его болезни, а затем и последующей в 1933 г. смерти. В 1935 г. после прихода нового заведующего кафедрой Дмитрий Аркадьевич ненадолго стал доцентом кафедры нормальной анатомии, поскольку в этом же году был назначен Наркомздравом РСФСР на должность заведующего кафедрой анатомии Горьковского медицинского института им. С.М. Кирова, а с 1936 г. возглавил лечебный факультет этого института [2]. Здесь же он продолжил изучение лимфатической системы. Вместе с сотрудниками института Дмитрий Аркадьевич вел крупную научную работу: изучал строение лимфатических сосудов внутренних органов и опорно-двигательной системы. Обобщив полученные материалы и результаты исследований в своей лекции «Функциональная анатомия лимфатической системы», Жданов удостоился первой премии Харьковского медицинского университета (1940 г.). В эти же годы ученый поставил большое число экспериментов с использованием рентгеноконтрастных веществ для изучения лимфооттока [3]. В 1936 г. первым в мире Д.А. Жданов сделал инъекцию краски и торотраста живому человеку при ранении шеи с последующей рентгенографией грудного протока и его корней. Результаты многих исследований были обобщены в докторской диссертации «Анатомия грудного протока и главных лимфатических коллекторов туловища у человека и млекопитающих животных», которую Дмитрий Аркадьевич успешно защитил в 1942 г., и в августе этого года решением Высшей аттестационной комиссии Всесоюзного комитета по делам Высшей школы при СНК СССР он получил степень доктора наук и был утвержден в звании профессора, возглавив кафедру нормальной анатомии Горьковского медицинского университета.

В трудный для страны период 1941–1942 гг. Д.А. Жданов руководил работой студентов при строительстве военных оборонительных сооружений. В 1943 г. был назначен директором Томского медицинского института им. В.М. Молотова и одновременно заведующим кафедрой анатомии. Там же была продолжена научная

деятельность по изучению строения и функциональной анатомии крупных лимфатических сосудов [4]. Результаты своих исследований, в числе которых на тот момент было уже значительное число клинических наблюдений, Жданов опубликовал в монографии «Хирургическая анатомия грудного протока и главных коллекторов и узлов туловища» (1945 г.) В 1945 г. он стал членом-корреспондентом Академии медицинских наук СССР, в 1966 г. — академиком АМН СССР [5]. В 1946 г. его монография была удостоена первой государственной премии СССР. В Томске Жданов помимо научной и преподавательской деятельности активно занимался организаторскими вопросами: решал проблему с кадрами; совершенствовал учебный процесс, вовлекая все больше студентов в научную работу; проводил реставрацию препаратов в музее института [6].

Томским медицинским университетом Д.А. Жданов заведовал 4 года, и в 1947 г. был назначен ректором Ленинградского санитарно-гигиенического медицинского института и одновременно заведующим кафедрой нормальной анатомии [7]. Вместе с новым коллективом Дмитрий Аркадьевич продолжил изучение лимфатической системы, обратив особое внимание на микро- и макро-строение лимфатического русла, а также на его физиологические особенности [8, 9]. Результаты проведенных многолетних исследований он обобщил в монографии «Общая анатомия и физиология лимфатической системы», которая хорошо была принята лимфологами, анатомами, физиологами и клиницистами [10]. Д.А. Жданов, используя стереоморфологический и гистологический методы исследований, изучал анатомию лимфатических протоков, сосудов и капилляров, а также их взаиморасположение с окружающими органами и тканями. По данным этих наблюдений и экспериментов ученый опубликовал монографию «Общая анатомия и физиология лимфатической системы» (1952 г.) [11].

Во время работы в Ленинграде Дмитрий Аркадьевич занимался не только изучением лимфологии, но и историей медицины. Так, в 1955 г. ученый опубликовал книгу «Леонардо да Винчи — анатом», которая с большим интересом была принята научным сообществом. Ленинградский период (1947–1956 гг.) был продуктивным для Д.А. Жданова не только как для ученого-анатома, но и как для активного общественного и партийного деятеля: в 1947–1950 гг. он был депутатом Калининского районного Совета народных депутатов, в 1953–1954 гг. — депутатом Ленинградского городского Совета.

После 9 лет успешной работы в Ленинградском санитарно-гигиеническом медицинском институте Д.А. Жданов был избран председателем ученого совета Министерства здравоохранения Российской Федерации (1956 г.). В 1956 г. он стал заведующим кафедрой анатомии Первого Московского Ордена Ленина медицинского института (сегодня Сеченовский Университет) и возглавил лабораторию функциональной анатомии в Научно-исследовательском институте морфологии человека АМН СССР (в настоящее время НИИ морфологии человека РАМН) [12]. С этого момента жизнь Дмитрия Аркадьевича и коллектива кафедры анатомии Первого МОЛМИ была подчинена серьезной научной работе, в ходе которой применялись различные методы исследований. Благодаря этому был реорганизован анатомический музей (оборудован оригинальными витринами), открылись микроскопическая лаборатория и фотокомната, было изготовлено много новых препаратов [13]. Под руководством академика велись обширные работы по изучению лимфатических капилляров и сосудов эндокринных



желез (совместно с М.Р. Сапиным, М.В. Шмерлингом, Л.Е. Этингеном). Также были выполнены исследования по строению стенок лимфатических сосудов [14]. Полученные данные позволили понять механизм расширения лимфатических сосудов и капилляров, что впоследствии вызвало большой интерес к сущности процесса образования отеков тканей [15]. Одновременно было сделано открытие, что количество лимфатических капилляров в органах у человека с возрастом уменьшается (возрастная инволюция лимфатических капилляров) [16]. В своей работе Д.А. Жданов придерживался строгой структурированности и точности, а от всех своих учеников требовал точных фактов и тщательной проверки всех данных. Стоит также отметить, что ученые, для которых Дмитрий Аркадьевич был руководителем и наставником (М.Р. Сапин, Л.Е. Этинген, Ю.И. Бородин, В.В. Федяй, Г.С. Сатюкова, В.Н. Надеждин, А.Б. Борисов, Н.В. Крылова, В.Н. Балашов, Р.А. Крупская), продолжили развивать созданное им научное направление, впоследствии став известными морфологами.

Основной областью своих интересов профессор Д.А. Жданов считал лимфологию, и за время своей работы уделял внимание разным аспектам этой науки. Про свой главный объект изучения ученый писал: «Лимфатическая система в ее структурах и функциях является во многих отношениях решающей базой, на которой разыгрываются процессы обмена веществ, разворачиваются реакции организма на инфекцию, распространяются новообразования», а анатомию рассматривал с точки зрения единства строения органов и выполняемых ими функций [17, 18]. Такой подход отводил важную роль эксперименту как неотъемлемой части научного познания. Таким образом, ученый в ходе своих исследований проводил многочисленные опыты по изучению строения и топографии лимфатических капилляров, сосудов, протоков, их анатомических и функциональных особенностей; изучал вопросы лимфооттока, половых и возрастных особенностей лимфатической системы [19, 20]. Д.А. Жданов дал четкие определения ряду анатомических терминов, таких как «функциональная анатомия», «строение», «структура», «конструкция», «орган, система и аппарат органов» и др. [21]. Он установил принципиальное морфологическое отличие лимфатического капилляра от сосуда: у капилляра нет клапанов, а у сосуда они есть. Более того, в работе ученого важную роль играла методология преподавания, в связи с чем он часто обращался к истории анатомии и общим вопросам медицины, в том числе в своих статьях о Г.М. Иосифове, П.Ф. Лесгафте, В.М. Бехтерева, А. Везалии.

Д.А. Жданов был талантливым руководителем, успешно возглавляя кафедру анатомии Первого МОЛМИ, и активным деятелем системы здравоохранения: был членом Коллегии и председателем ученого медицинского совета Министерства здравоохранения РСФСР (позже СССР) (1956–1966 гг.) [22], заместителем председателя комитета по морфологии при Президиуме АМН СССР, затем заместителем председателя научно-плановой комиссии, членом Президиума АМН СССР; состоял в оргкомитете многих отечественных конференций, где нередко выступал с докладами, среди которых Сибирское межобластное совещание по клещевому энцефалиту и сыпному тифу (1945 г.), онкологии, методике преподавания морфологии (1946 г.), Сибирская Мечниковская конференция, VI и VII Всесоюзные съезды анатомов, гистологов и эмбриологов (1958, 1966). Под руководством Дмитрия Аркадьевича в Ленинграде был проведен IX Международный конгресс анатомов (1970 г.), в ходе которого он был

избран президентом Всемирной ассоциации анатомов, что свидетельствовало о высшем признании советской морфологической школы и ее выдающегося представителя — Д.А. Жданова.

Работу организатора Д.А. Жданов успешно совмещал с преподавательской и наставнической деятельностью. Его лекции были востребованы, а в числе их слушателей были не только студенты, но и аспиранты, молодые ученые и практикующие врачи [23]. Профессор вел лекции спокойно, но в то же время артистично, обладая хорошим литературным языком [24]. Современники отмечают исключительное обаяние и остроумие ученого. Кроме того, Дмитрий Аркадьевич всегда стремился к познанию мира, был начитанным и всесторонне развитым человеком: разбирался в литературе и живописи, свободно разговаривал на трех языках. Ученый коллекционировал картины и знал в них толк. В запасниках Эрмитажа он отыскал и распознал никому не известный ранее портрет Везалия, принадлежавший кисти Тициана, который презентовал на Конгрессе по истории медицины в Италии в 1968 г. Ученый подтвердил свое открытие результатами изучения исторических архивов, а также рентгеновским исследованием холста [25].

Под руководством Д.А. Жданова были защищены 96 диссертаций, из них 21 докторская. Коллеги отмечали мудрое руководство диссертационными работами: Жданов быстро проверял и отправлял посланные на проверку работы, делая лаконичные и полезные замечания. Со сходными задачами Д.А. Жданов также справлялся, работая заместителем главного редактора журнала «Архив анатомии, гистологии и эмбриологии» (ныне журнал «Морфология») и в редакционных коллегиях международных журналов *Acta anatomica* и *Excerpta medica* [26, 27].

Помимо работы с международными изданиями, Д.А. Жданов много сотрудничал непосредственно с иностранными коллегами, представляя достижения советской анатомии всему миру. В 1966 г. Братиславский университет (Чехословакия) наградил ученого медалью Коменского. Помимо этого, в своей научной деятельности Дмитрий Аркадьевич работал со специалистами других государств, имел членство в Медицинском обществе Чехословакии им. Пуркинье, Ассоциации анатомов Франции и Югославии, Немецком анатомическом обществе (*Anatomische Gesellschaft*), Германской академии естествоиспытателей «Леопольдина», Лигурийском хирургическом обществе. Совместная работа с зарубежными учеными обуславливала необходимость представления отечественных исследований и открытий на международных конференциях и конгрессах, на которых Д.А. Жданов не только активно выступал, но и был в числе их организаторов. В 1955 г. он участвовал в Международном конгрессе анатомов, в 1957 г. — Международном конгрессе по ангиологии, в 1961 г. — Международном симпозиуме по лимфаденографии. Выдающиеся и содержательные доклады ученый представлял на Международном конгрессе анатомов в Висбадене (1965 г., Германия), на конгрессе *Anatomische Gesellschaft* в Швейцарии (1966 г.), что позволило международному сообществу ознакомиться с работами советского коллеги и дало им возможность использовать его открытия в своих трудах [28–30].

Д.А. Жданов скончался 25 сентября 1971 г. в Москве. За годы своей работы Дмитрий Аркадьевич сумел сделать множество научных открытий, обеспечить развитие отечественной морфологической школы, воспитать новое поколение ученых-анатомов и определить развитие современной лимфологии [31]. Ученики и коллеги

Д.А. Жданов продолжили его дело и посвятили свои труды дальнейшему изучению затронутых им вопросов: так, уже в 1973 г. была проведена конференция памяти академика, на которой были представлены новые результаты и факты исследований. А 20 сентября 2008 г. в стенах кафедры анатомии ММА им. И.М. Сеченова (сегодня Сеченовский Университет) состоялась научная конференция, посвященная 100-летию ученого [32].

За заслуги перед наукой и образованием Д.А. Жданов был удостоен высоких государственных наград, среди которых три ордена Трудового Красного Знамени и медали «За доблестный труд. В ознаменование 100-летия со дня рождения Владимира Ильича Ленина», «За доблестный труд в Великой Отечественной войне 1941–1945 гг.». В 1969 г. Жданов получил звание «Заслуженный деятель науки РСФСР».

Д.А. Жданов — пример не только выдающегося ученого, сумевшего обобщить и значительно детализировать знания лимфологии, истории медицины, методологии преподавания и других областей науки, но и замечательного педагога, наставника и всесторонне развитого человека. Дмитрий Аркадьевич привнес новое понимание анатомии как науки глубокой и всеобъемлющей, отвечающей на вопросы не только о строении, но и о функциях и взаимодействии органов и систем. Его научное наследие, вклад в развитие морфологической школы были и останутся источником множества новых открытий. А энергия, с которой он отдавался любимому делу, его трудолюбие и светлый ум для каждого смогут послужить мотивацией и вдохновением к активной работе, творчеству, изучению окружающего мира, научной и практической деятельности.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Фоминых С.Ф., Некрылов С.А., Грибовский М.В., и др. Профессора медицинского факультета Императорского (государственного) Томского университета — Томского медицинского института — Сибирского государственного медицинского университета (1878–2003): Биографический словарь. Т. 2. — Томск: Изд-во Томского ун-та; 2004. — С. 203–204. [Fominykh SF, Nekrylov SA, Gribovskii MV, et al. Professora meditsinskogo fakul'teta Imperatorskogo (gosudarstvennogo) Tomskogo universiteta — Tomskogo meditsinskogo instituta — Sibirskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta (1878–2003): Biograficheskii slovar'. Vol. 2. Tomsk: Izd-vo Tomskogo un-ta; 2004. pp. 203–204. (In Russ).]
2. Некрылов С.А., Малиновская И.С., Малиновский С.В., HYPERLINK “https://elibrary.ru/author\_items.asp?authorid=97033” Логвинов С.В. Выдающийся советский морфолог, основатель школы лимфологов, академик АМН СССР Дмитрий Аркадьевич Жданов (1908–1971 гг.). К 100-летию со дня рождения // *Сибирский медицинский журнал*. — 2008. — Т.23. — №4–2 — С. 130–135. [Nekrilov SA, Malinovskaya IS, Malinovskaya SV, Logvinov SV. An outstanding soviet morphologist, a founder of the school of limphologists, an academician Dmitriy Arkadyevich Jdanov (1908–1971): to 100th anniversary of his birth. *Siberian medical journal*. 2008;23(4–2):130–135. (In Russ).]
3. Сапин М.Р., Бочаров В.Я. Д.А. Жданов и учение о лимфатической системе // *Морфология*. — 2008. — Т.133. — №4 — С. 50–52. [Sapin MR, Bocharov VYa. D.A. Zhdanov i uchenie o limfaticheskoi sisteme. *Morphology*. 2008;133(4):50–52. (In Russ).]
4. Barrowman JA. Physiology of the gastro-intestinal lymphatic system. *Monogr Physiol Soc*. 1978(33):ix-xii;1–312.
5. Сапин М.Р., Никитюк Д.Б. Дмитрий Аркадьевич Жданов (к 100-летию со дня рождения) // *Морфология*. — 2008. — Т.133. — №4 — С. 47–49. [Sapin MR, Nikityuk DB. Dmitrii Arkad'evich Zhdanov (k 100-letiyu so dnya rozhdeniya). *Morphology*. 2008;133(4):47–49. (In Russ).]
6. Минин Н.П., Гурченко А.П. Дмитрий Аркадьевич Жданов (Томский период). Воспоминания // *Сибирский медицинский журнал*. — 2009. — Т.24. — №1 — С. 145–146. [Minin NP, Gurchenok AP. Dmitrii Arkadyevich Zhdanov (the Tomsk period). Recollections. *Siberian medical journal*. 2009;24(1):145–146. (In Russ).]
7. Минин Н.П., Бабкина В.И. Кафедра анатомии человека. Материалы по истории кафедр лечебного факультета; 1888–1988. — Томск; 1988. [Minin NP, Babkina VI. Kafedra anatomii cheloveka. Materialy po istorii kafedr lechebnogo fakul'teta; 1888–1988. Tomsk; 1988. (In Russ).]
8. Сологуб Э.А., Карасева О.В., Тимофеева А.Г. Неспецифический мезаденит у детей (обзор литературы) // *Педиатрическая фармакология*. — 2013. — Т.10. — №1 — С. 18–25. [Sologub EA, Karaseva OV, Timofeeva AG. Non-specific mesenteric lymphadenitis in children (literature review). *Pediatric pharmacology*. 2013;10(1):18–25. (In Russ).] doi: 10.15690/pf.v10i1.585.
9. Slais J. *The morphology and pathogenicity of the bladder worms. Cysticercus cellulosae and cysticercus bovis*. Netherlands: Springer; 1970. pp. 81–82.
10. Myrzakhanov N, Myrzakhanova MN. On development of the lymph and blood of dogs in the protein composition under some effects on organisms. *ESJ*. 2013;9(6):92–99.
11. Бородин Ю.И. Лимфология в Сибири. Люди и проблемы // *Бюллетень Сибирского отделения Российской академии медицинских наук*. — 2012. — Т.32. — №1 — С. 107–116. [Borodin YuI. Lymphology in Siberia. People and problems. *Siberian scientific medical journal*. 2012;32(1):107–116. (In Russ).]
12. Сапин М.Р. 250 лет кафедре анатомии человека Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М. Сеченова (1764–2014) // *История медицины*. — 2014. — №1 — С. 193–198. [Sapin MR. 250 let kafedre anatomii cheloveka Pervogo Moskovskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta im. I.M. Sechenova (1764–2014). *Istoriya meditsiny*. 2014;(1):193–198. (In Russ).]
13. Сапин М.Р. К истории старейшей анатомической кафедры России // *Врач*. — 2007. — №3 — С. 119–120. [Sapin MR. K istorii stareishei anatomicheskoi kafedry Rossii. *Vrach*. 2007;(3):119–120. (In Russ).]
14. Ruzsnyak I, Foldi M, Szabo G. Lymphatics and lymph circulation. Physiology and pathology. *Proc R Soc Med*. 1961;54(3):250.
15. Сапин М.Р. Лимфатическая система и ее роль в иммунных процессах // *Морфология*. — 2007. — Т.131. — №1 — С. 18–22. [Sapin MR. Limfaticheskaya sistema i ee rol' v immunnykh protsesakh. *Morphology*. 2007;131(1):18–22. (In Russ).]
16. Petrenko VM. Types of constitution of lymphatic system. *European Journal of Natural History*. 2013;(3):57–58.
17. Петренко В.М. Функциональная анатомия лимфатической системы. — М.: Директ-медиа; 2004. — С. 5. [Petrenko VM. Funktsional'naya anatomiya limfaticheskoi sistemy. Moscow: Direkt-media; 2004. pp. 5. (In Russ).]
18. Сапин М.Р., Никитюк Д.Б. Д.А. Жданов в науке и жизни (1908–1971). — М.; 2008. — 72 с. [Sapin MR, Nikityuk DB. D.A. Zhdanov v nauke i zhizni (1908–1971). Moscow; 2008. 72 p. (In Russ).]
19. Lauweryns JM, Cornillie FJ. Topography and ultrastructure of the uterine lymphatics in the rat. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. 1984;18(5–6):309–327. doi: 10.1016/0028-2243(84)90053-4.
20. Gastal EL, Gastal MO, Ginther OJ. Relationships of changes in B-mode echotexture and colour-Doppler signals in the wall of the

- preovulatory follicle to changes in systemic oestradiol concentrations and the effects of human chorionic gonadotrophin in mares. *Reproduction*. 2006;131(4):699–709. doi: 10.1530/rep.1.01011.
21. Прокопьев Н.Я., Прокопьева А.Н. Выдающиеся анатомы и их вклад в мировую науку. Часть 4 // *Педагогика высшей школы*. — 2016. — №1 — С. 17–22. [Prokop'ev NYa, Prokop'eva AN. Vydayushchiesya anatomiy i ikh vklad v mirovuyu nauku. Chast' 4. *Pedagogika vysshei shkoly*. 2016;4(1):17–22. (In Russ).]
  22. Николенко В.Н., Кудряшова В.А., Ризаева Н.А., и др. Доброе слово об академике Дмитрие Аркадьевиче Жданове. / Материалы V Всероссийской научной конференции с международным участием «Морфология — физической культуре, спорту, клинической и авиационно-космической медицине», посвященная 50-летию кафедры анатомии МГАФК; Октябрь 19–20, 2017; Москва. [Nikolenko VN, Kudryashova VA, Rizaeva NA, et al. Dobroe slovo ob akademike Dmitrii Arkad'eviche Zhdanove. (Conference proceedigs) Materialy V Vserossiiskoi nauchnoi konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem «Morfologiya — fizicheskoi kul'ture, sportu, klinicheskoi i aviatsionno-kosmicheskoi meditsine», posvyashchennaya 50-letiyu kafedry anatomii MGAFK; 2017 okt 19–20; Moscow. (In Russ).]
  23. Бочаров В.Я. Вклад академика Д.А. Жданова в учебный процесс кафедры анатомии человека ММА им. И.М. Сеченова // *Волгоградский научно-медицинский журнал*. — 2008. — №4 — С. 11–13. [Bocharov VYa. Vklad akademika D.A. Zhdanova v uchebnyi protsess kafedry anatomii cheloveka MMA im. I.M. Sechenova. *Volgogradskii nauchno-meditsinskii zhurnal*. 2008;(4):11–13. (In Russ).]
  24. Каримов М.К., Этинген Л.Е. Учитель, перед именем твоим... (к 100-летию академика Д.А. Жданова) // *Вестник Авиценны*. — 2008. — №4 — С. 113–115. [Karimov MK, Etingen LE. Uchitel', pered imenem tvoim... (k 100-letiyu akademika D.A. Zhdanova). *Vestnik Avitsenny*. 2008;(4):113–115. (In Russ).]
  25. Чебышев Н.В., Вальцева И.А. *Мы их слушали. Мы у них учились*. — М.: Изд-во Сеченовского университета; 2018. — С. 9. [Chebyshev NV, Valceva IA. *My ih slushali. Mi u nih uchilis*. Moscow: Izdatelstvo Sechenovskogo Universiteta; 2018. pp. 9. (In Russ).]
  26. Быков В.Л. Журнал «Морфология» в 2008 году. От главного редактора // *Морфология*. — 2008. — Т. 134. — №6 — С. 7–9. [Bykov VL. Zhurnal «Morfologiya» v 2008 godu. Ot glavnogo redaktora. *Morphology*. 2008;134(6):7–9. (In Russ).]
  27. In memoriam: Dmitry Arkadievich Zhdanov. *Cells Tissues Organs*. 1975;93(4):481–495. doi: 10.1159/000144526.
  28. Golab B. The lymphatic system of the spleen in the caves. *Lymphology*. 1974;169–174.
  29. Skobe M, Detmar M. Structure, function, and molecular control of the skin lymphatic system. *J Invest Dermatol Symp Proc*. 2000;5(1):14–19. doi: 10.1046/j.1087-0024.2000.00001.x.
  30. Bridenbaugh EA, Nizamutdinova IT, Jupiter D, et al. Lymphatic muscle cells in rat mesenteric lymphatic vessels of various ages. *Lymphat Res Biol*. 2013;11(1):35–42. doi: 10.1089/lrb.2012.0025.
  31. Никитюк Д.Б., Чава С.В. Михаил Романович Сапин (к 85-летию со дня рождения) // *Морфология*. — 2010. — Т.138. — №5 — С. 95–96. [Nikityuk DB, Chava SV. Mikhail Romanovich Sapin (k 85-letiyu so dnya rozhdeniya). *Morphology*. 2013;138(5):95–96. (In Russ).]
  32. Этинген Л.Е. Конференция памяти Д.А. Жданова // *Морфологические ведомости*. — 2008. — Т.1. — №3–4 — С. 241–242. [Etingen LE. Konferentsiya pamyati D.A. Zhdanova. *Morphological newsletter*. 2008;1(3–4):241–242. (In Russ).]

#### КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

**Николенко Владимир Николаевич**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой анатомии человека ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет); заведующий кафедрой нормальной и топографической анатомии ФГБОУ ВО «МГУ им. М.В. Ломоносова»  
 Адрес: 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2, **e-mail**: vn.nikolenko@yandex.ru, **SPIN-код**: 8257-9084, **ORCID**: <https://orcid.org/0000-0001-9532-9957>

**Кудряшова Валентина Александровна**, кандидат медицинских наук, доцент кафедры анатомии человека ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет)  
 Адрес: 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2, тел.: +7 (499) 248-01-81, **e-mail**: kudryashovanm@mail.ru, **SPIN-код**: 8143-8288, **ORCID**: <https://orcid.org/0000-0002-5597-5230>

**Оганесян Марине Валиковна**, кандидат медицинских наук, доцент кафедры анатомии человека ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет)  
 Адрес: 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2, тел.: +7 (499) 248-01-81, **e-mail**: marine-oganesyan@mail.ru, **SPIN-код**: 6607-5271, **ORCID**: <https://orcid.org/0000-0001-6432-5179>

**Ризаева Нелли Алексеевна**, кандидат медицинских наук, доцент кафедры анатомии человека ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет)  
 Адрес: 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2, тел.: +7 (499) 248-01-81, **e-mail**: rizaevan@yandex.ru, **SPIN-код**: 3961-0030, **ORCID**: <https://orcid.org/0000-0003-4033-1202>

**Закиров Феликс Хайдарович**, студент 1-го курса специальности «лечебное дело» факультета ДОП ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» Минздрава России (Сеченовский Университет)  
 Адрес: 119991, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2, **e-mail**: nilski@mail.ru, **ORCID**: <https://orcid.org/0000-0002-9781-7644>





## Уважаемые читатели!

Педиатры Национального научно-практического центра здоровья детей и Союз педиатров России подготовили для вас книгу полезных советов на каждый день о детях в возрасте от 0 до 18 лет.

В первой части вас ждут ответы на вопросы:

- Как правильно кормить ребенка?
  - Как выбрать подгузник?
  - Почему малыш плачет?
  - В чем причина плохой успеваемости в школе?
  - Вредные привычки, общение в социальных сетях, первая влюбленность...
- Вторая часть издания посвящена проблемам здоровья.
- Что могут означать те или иные симптомы?
  - Когда нужно срочно идти к врачу?

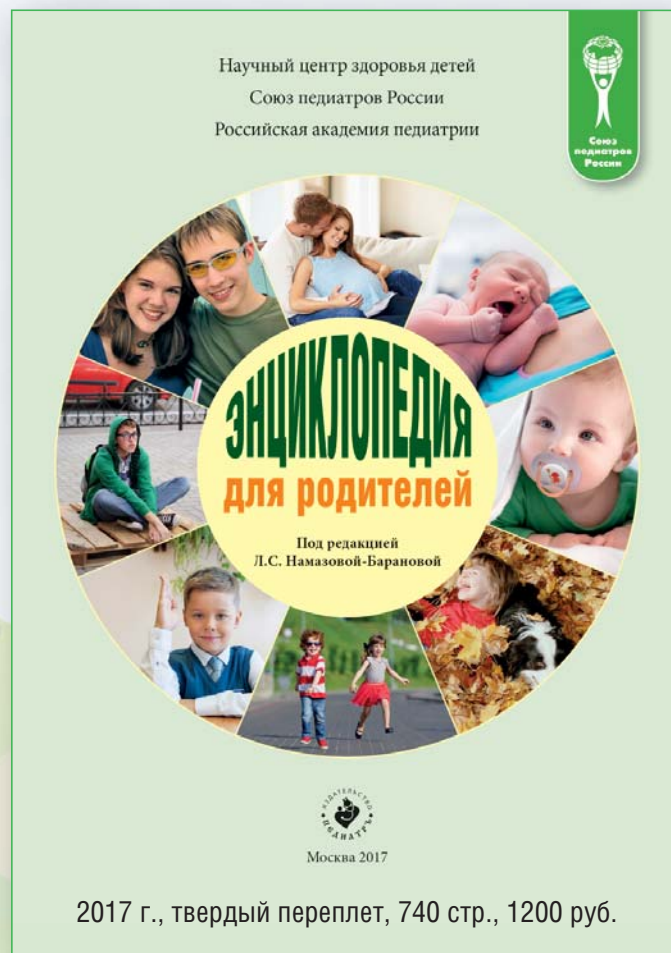
В энциклопедии также предусмотрены советы по оказанию первой помощи до обращения к врачу, изложены юридические и социальные аспекты «надлежащего родительства».

Книгу можно приобрести на сайте:

<http://www.spr-journal.ru/sc5/shop/entsiklopediya-dlya-roditeley/>

**Звоните по тел.: +7 (499) 132-72-04**

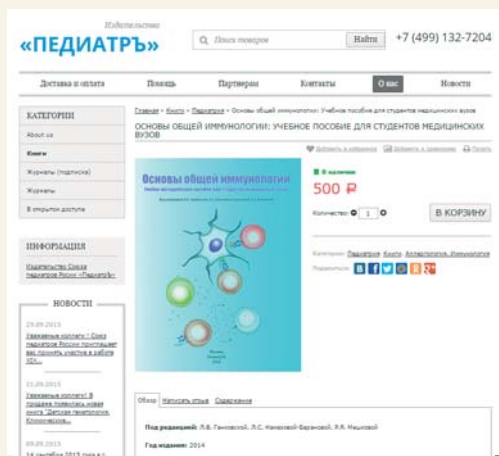
*По Москве возможна доставка курьером.*



2017 г., твердый переплет, 740 стр., 1200 руб.



# Информация о сайте [www.spr-journal.ru](http://www.spr-journal.ru)



- Большой выбор медицинской литературы
- Низкие цены
- Удобная форма регистрации
- Разные варианты доставки
- Оперативная обратная связь
- Актуальные новости от Союза педиатров России

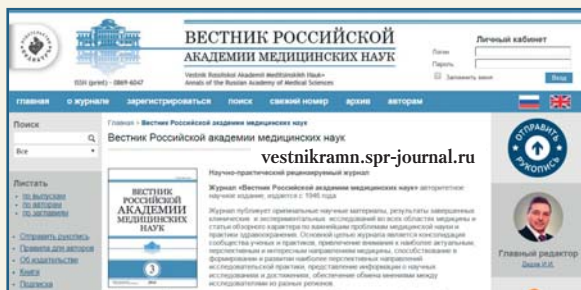
## Электронная библиотека журналов издательства Союза педиатров России «Педиатръ»

Приглашаем вас посетить новые сайты журналов издательства и оценить их преимущества.

- Электронные версии журналов в открытом доступе, за исключением последнего года выпуска
- Возможность разместить статью на сайте с помощью электронной редакции
- Подписка на статью, номер, на год журналов последнего года выпуска — по ценам редакции

### Преимущества для авторов журналов:

- полное соответствие сайтов журналов Издательства требованиям зарубежных реферативных баз данных (Scopus, Web of Science, PubMed и др.);
- присутствие журналов в различных базах данных, таких как РИНЦ, OCLC, WorldCat, Open Archives, iNecon, Research Bible, Akademic Keys, Ciberleninka, VINITI RAN Referativnyi Zhurnal, Ulrich's Periodicals Directory, Google Scholar и др.;
- размещение по желанию автора дополнительных материалов к статье (видео, презентации);
- все журналы входят в Перечень ВАК



+7 (499) 132-72-04



sales@nczd.ru

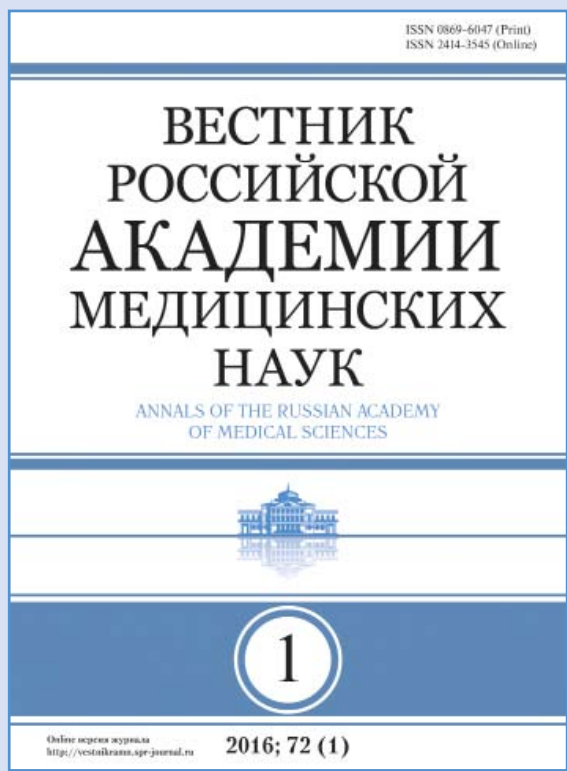


www.spr-journal.ru

# ВНИМАНИЮ ПОДПИСЧИКОВ!



Союз  
педиатров  
России



Научно-практический рецензируемый журнал «Вестник Российской академии медицинских наук» — авторитетное научное издание, издается с 1946 года.

Журнал публикует оригинальные научные материалы, результаты завершенных клинических исследований во всех областях медицины и статьи обзорного характера по важнейшим проблемам медицинской науки и практики здравоохранения. Основной целью журнала является консолидация сообщества ученых и практиков, привлечение внимания к наиболее актуальным, перспективным и интересным направлениям медицины, содействие в формировании и развитии наиболее перспективных направлений исследовательской практики, представление информации о научных исследованиях и достижениях, обеспечение обмена мнениями между исследователями из разных регионов.

Журнал входит в Перечень ведущих научных журналов и изданий ВАК, в которых должны быть опубликованы основные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата и доктора наук. Индексируется в Elsevier BV Scopus, PubMed, РИНЦ.

## Подписка через агентства:

- **«Роспечать»**  
Подписной индекс 71488  
Оплата по квитанции через отделения Почты России.
- **«Почта России»**  
Подписной индекс П4838  
Оплата по квитанции через отделения Почты России.



## Электронная редакционная подписка

Новый номер журнала — в день выхода его электронной версии.

Стоимость:

- один выпуск — 750 руб.
- одна статья — 450 руб.
- полгода (3 номера) — 2 250 руб.,
- год (6 номеров) — 4 500 руб.

Оплата по квитанции через Сбербанк, online оплата пластиковыми картами VISA и MASTERCARD через платежную систему Яндекс.Деньги.

По всем возникающим вопросам обращаться  
по тел. +7 (499) 132-72-04 или по электронной почте [sales@nczd.ru](mailto:sales@nczd.ru)  
Контактное лицо – Вильма Генриховна Саакян

Адрес редакции: 119991, Москва, Ломоносовский проспект, д. 2/62.  
Телефон/факс: +7 (499) 132-72-04