

МЕДИЦИНСКИЙ АКАДЕМИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

№ 2

ТОМ 18

2018

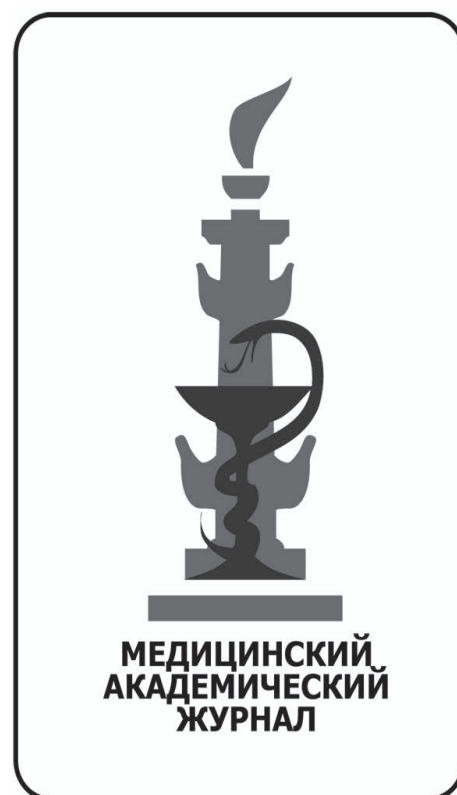
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ РЕЦЕНЗИРУЕМЫЙ ЖУРНАЛ

Институт экспериментальной медицины

Главный редактор:
академик РАН *Г. А. Софронов*

Заместители главного редактора:
академик РАН *Н. А. Беляков*,
профессор РАН *А. В. Дмитриев*

Ответственный секретарь:
доктор биологических наук
А. В. Соколов



Журнал рекомендован ВАК для публикации материалов диссертаций

Адрес: 197376, Санкт-Петербург, улица Академика Павлова, 12.
Редколлегия журнала «Медицинский академический журнал»
Тел.: (812) 234-68-57

e-mail: medicalacademicjournal@gmail.com

Журнал зарегистрирован Территориальным управлением по Санкт-Петербургу и Ленинградской области
Министерства РФ по делам печати, телевидения и средств массовой коммуникации.
Свидетельство о регистрации ПИ № 2-4952 от 17.01.2001 г.

Редакционная коллегия

Э. К. Айламазян — академик РАН, Санкт-Петербург
С. Ф. Багненко — академик РАН, Санкт-Петербург
В. Б. Васильев — профессор, Санкт-Петербург
В. Р. Вебер — академик РАН, Великий Новгород
Ю. В. Лобзин — академик РАН, Санкт-Петербург
В. И. Мазуров — академик РАН, Санкт-Петербург
Н. А. Майстренко — академик РАН, Санкт-Петербург
А. О. Марьяндышев — член-корреспондент РАН, Архангельск
В. В. Рассохин — д.м.н., Санкт-Петербург
А. С. Симбирцев — член-корреспондент РАН, Санкт-Петербург
А. Г. Софронов — член-корреспондент РАН, Санкт-Петербург
А. Н. Суворов — член-корреспондент РАН, Санкт-Петербург
А. А. Тотолян — академик РАН, Санкт-Петербург
Т. Н. Трофимова — профессор, Санкт-Петербург
Ю. А. Щербук — академик РАН, Санкт-Петербург
Ю. К. Янов — академик РАН, Санкт-Петербург
Янг Йонгхонг — иностранный член РАН, Китай
М.-П. Кини — Ph.D., Франция

Редакционный совет

А. Г. Баиндурашвили — академик РАН, Санкт-Петербург
В. С. Баранов — член-корреспондент РАН, Санкт-Петербург
И. П. Дуданов — член-корреспондент РАН, Санкт-Петербург
С. А. Кетлинский — член-корреспондент РАН, Санкт-Петербург
Е. А. Корнева — академик РАН, Санкт-Петербург
С. В. Лобзин — профессор, Санкт-Петербург
М. М. Одинак — член-корреспондент РАН, Санкт-Петербург
Н. С. Сапронов — член-корреспондент РАН, Санкт-Петербург
А. А. Скоромец — академик РАН, Санкт-Петербург
П. И. Сидоров — академик РАН, Архангельск
С. А. Симбирцев — член-корреспондент РАН, Санкт-Петербург
Р. М. Тихилов — профессор, Санкт-Петербург
П. Д. Шабанов — профессор, Санкт-Петербург
А. В. Шабров — академик РАН, Санкт-Петербург
Е. В. Шляхто — академик РАН, Санкт-Петербург
В. Х. Хавинсон — член-корреспондент РАН, Санкт-Петербург
Н. А. Яицкий — академик РАН, Санкт-Петербург

MEDICAL ACADEMIC JOURNAL

№ 2

Vol. 18

2018

SCIENTIFIC AND PRACTICAL PEER-REVIEWED JOURNAL

Institute of Experimental Medicine

Editor in Chief:

G. A. Sofronov

Full Member of the Russian Academy of Sciences

Deputy Editor in Chief:

N. A. Belyakov

Full Member of the Russian
Academy of Sciences,

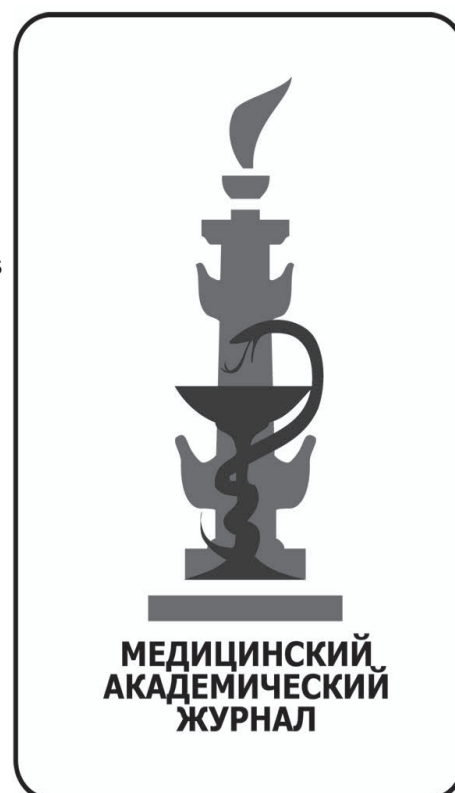
A. V. Dmitriev

Professor of the Russian Academy of Sciences

Executive Secretary:

A. V. Sokolov

Doctor of Biological Sciences



Address: 197376, Academic Pavlov's street, 12
Editorial board «Medical academic journal»
Tel.: (812) 234-68-57

e-mail: medicalacademicjournal@gmail.com

Editorial Board

E. K. Ailamazian, full member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
S. F. Bagnenko, full member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
V. B. Vasiliev, professor, St. Petersburg
V. R. Veber, full member of the Russian Academy of Sciences, Velikiy Novgorod
Yu. V. Lobzin, full member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
V. I. Mazurov, full member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
N. A. Maistrenko, full member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
A. O. Maryandyshev, corresponding member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
A. S. Simbirtsev, corresponding member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
A. G. Sofronov, corresponding member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
A. N. Suvorov, corresponding member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
A. A. Totolyan, full member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
T. N. Trofimova, professor, St. Petersburg
Yu. A. Scherbuk, full member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
Yu. K. Yanov, full member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
Yang Yonghong, foreign member of the Russian Academy of Sciences, China
M.-P. Kieny, PhD, France

Editorial Council

A. G. Baidurashvili, full member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
V. S. Baranov, corresponding member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg.
I. P. Dudanov, corresponding member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
S. A. Ketlinskiy, corresponding member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
Ye. A. Korneva, full member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
S. V. Lobzin, professor, St. Petersburg
M. M. Odinak, corresponding member of the Russian Academy Sciences, St. Petersburg
N. S. Sapronov, corresponding member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
A. A. Skoromets, full member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
P. I. Sidorov, full member of the Russian Academy of Sciences, Arkhangelsk
S. A. Simbirtsev, corresponding member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
R. M. Tikhilov, professor, St. Petersburg
P. D. Shabanov, professor, St. Petersburg
A. V. Shabrov, full member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
Ye. V. Shlyakhto, full member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
V. H. Khavinson, corresponding member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg
N. A. Yaitsky, full member of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg

СОДЕРЖАНИЕ

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ОБЗОРЫ

- ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ЛЕГОЧНОЙ ВЕНОЗНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ.....7
В.И. Евлахов, И.Э. Поясов, В.И. Овсянников
- ФУЛЛЕРЕНКАРБОНОВЫЕ КИСЛОТЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ
 ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ХИМИИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ..... 19
Е.В. Литасова, Л.Б. Пиотровский
- МУЛЬТИФОКАЛЬНЫЙ АТЕРОСКЛЕРОЗ — ОДИН ИЗ ГЛАВНЫХ ФАКТОРОВ РИСКА,
 УСКОРЯЮЩИЙ РАЗВИТИЕ ОСТРЫХ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ СОБЫТИЙ29
А.Р. Прудников, А.Н. Щупакова

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

- БИОАКУСТИЧЕСКОЕ ПРЕКОНДИЦИОНИРОВАНИЕ ТЯЖЕЛОЙ ПСИХОГЕННОЙ ТРАВМЫ 43
Т.В. Авалиани, А.В. Быкова, Н.Н. Ключева, Н.К. Апраксина, С.Г. Цикунов
- ДИСТАНТНОЕ ИШЕМИЧЕСКОЕ ПРЕ- И ПОСТКОНДИЦИОНИРОВАНИЕ НИВЕЛИРУЕТ
 ОТСРОЧЕННУЮ ЭКСПРЕССИЮ $\text{NF-}\kappa\text{B}$ В ГИППОКАМПЕ КРЫС ПРИ КОРРЕКЦИИ
 ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОГО СТРЕССОВОГО РАССТРОЙСТВА.....48
К.А. Баранова, Е.А. Рыбникова
- ОСОБЕННОСТИ ПОДГОТОВКИ РЕАССОРТАНТНЫХ ШТАММОВ ЖИВОЙ ГРИППОЗНОЙ
 ВАКЦИНЫ НА ОСНОВЕ ВИРУСОВ, ОБЛАДАЮЩИХ ПАНДЕМИЧЕСКИМ ПОТЕНЦИАЛОМ 54
Н.В. Ларионова, И.В. Киселева, Е.М. Дорошенко, Л.Г. Руденко
- НЕМОТОРНЫЕ СИМПТОМЫ И КАЧЕСТВО ЖИЗНИ У ПАЦИЕНТОВ С ЭССЕНЦИАЛЬНЫМ
 ТРЕМОРОМ, БОЛЕЗНЬЮ ПАРКИНСОНА И СОЧЕТАНИЕМ ЭССЕНЦИАЛЬНОГО ТРЕМОРА
 И БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА63
А.В. Кудреватых, М.Д. Дидур, Т.В. Сергеев, Д.С. Буг, И.В. Милюхина
- ЦИРКУЛИРУЮЩИЕ НЕЙТРОФИЛЬНЫЕ ВНЕКЛЕТОЧНЫЕ ЛОВУШКИ У ПАЦИЕНТОВ
 С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2-го ТИПА С ГНОЙНО-НЕКРОТИЧЕСКИМИ ОСЛОЖНЕНИЯМИ..... 72
*Д.И. Максимов, Л.Ю. Басырева, А.А. Гусев, Т.В. Вахрушева, А.В. Яскевич, С.А. Гусев, Е.М. Островский,
 О.М. Панасенко, В.И. Сергиенко*
- ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ КАРДИОРЕСПИРАТОРНОГО БИОУПРАВЛЕНИЯ КОЛЕБАТЕЛЬНОЙ
 ПОСТУРАЛЬНОЙ НАГРУЗКОЙ78
Н.Б. Суворов, Т.В. Сергеев, И.В. Ярмош

КЛИНИЧЕСКАЯ ПРАКТИКА

- ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ ВОЗРАСТНОЙ МАКУЛЯРНОЙ ДЕГЕНЕРАЦИИ
 МЕТОДОМ ВВЕДЕНИЯ ИНГИБИТОРОВ АНГИОГЕНЕЗА В ЗАДНЕЕ СУБТЕНОНОВО
 ПРОСТРАНСТВО НА ВЯЗКОМ НОСИТЕЛЕ89
Р.В. Гайбарян, А.Н. Епихин, Ю.Н. Епихина, Ю.Ф. Бондаренко, Н.А. Епихин
- ХРОНИЧЕСКАЯ БОЛЕЗНЬ ПОЧЕК У ПАЦИЕНТОВ КАРДИОЛОГИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ 96
Л.В. Михайлова, Е.М. Романова, У.А. Добрынина

ЮБИЛЕЙ

- 75 ЛЕТ АЛЕКСАНДРУ ВЛАДИМИРОВИЧУ ШАБРОВУ.....101

CONTENTS

ANALYTICAL REVIEWS

- THE PHYSIOLOGICAL MECHANISMS OF THE PULMONARY VENOUS HYPERTENSION7
V.I. Evlakhov, I.Z. Poyassov, V.I. Ovsyannikov
- FULLERENECARBOXYLIC ACIDS AND PROSPECTS FOR THEIR USE IN THE CHEMISTRY OF DRUGS19
E.V. Litasova, L.B. Piotrovskiy
- MULTIFOCAL ATHEROSCLEROSIS IS ONE OF THE MAJOR RISK FACTORS THAT ACCELERATES
 THE DEVELOPMENT OF ACUTE CARDIOVASCULAR EVENTS29
A.R. Prudnikov, A.N. Shchupakova

ORIGINAL RESEARCHES

- BIOACOUSTIC PRECONDITIONING OF SEVERE PSYCHOGENIC TRAUMA43
T.V. Avaliani, A.V. Bykova, N.N. Klyueva, N.K. Apraksina, S.G. Tsikunov
- REMOTE ISCHEMIC PRE- AND POSTCONDITIONING ABOLISHED DELAYED HIF-1 α EXPRESSION
 IN THE RAT HIPPOCAMPUS ALONGSIDE WITH THE CORRECTION OF EXPERIMENTAL
 POST-TRAUMATIC STRESS DISORDER48
K.A. Baranova, E.A. Rybnikova
- PECULIARITIES OF DEVELOPMENT OF REASSORTANT STRAINS FOR LIVE INFLUENZA VACCINE
 BASED ON VIRUSES WITH PANDEMIC POTENTIAL54
N.V. Larionova, I.V. Kiseleva, E.M. Doroshenko, L.G. Rudenko
- NON-MOTOR SYMPTOMS AND QUALITY OF LIFE IN PATIENTS WITH ESSENTIAL TREMOR,
 PARKINSON'S DISEASE AND THE COMBINATION OF ESSENTIAL TREMOR AND PARKINSON'S
 DISEASE63
A.V. Kudrevatykh, M.D. Didur, T.V. Sergeev, D.S. Bug, I.V. Miliukhina
- CIRCULATING NEUTROPHIL EXTRACELLULAR TRAPS IN TYPE 2 DIABETES MELLITUS PATIENTS
 WITH SUPPURATIVE AND NECROTIC COMPLICATIONS72
*D.I. Maximov, L.Yu. Basyreva, A.A. Gusev, T.V. Vakhrusheva, A.V. Yassevich, S.A. Gusev, E.M. Ostrovsky,
 O.M. Panasenko, V.I. Sergienko*
- PHYSIOLOGICAL BASICS OF CARDIORESPIRATORY BIOFEEDBACK CONTROL OF OSCILLATORY
 POSTURAL LOAD78
N.B. Suvorov, T.V. Sergeev, I.V. Yarmosh

CLINICAL PRACTICE

- EVALUATION OF THE DATA OF EFFECTIVENESS OF TREATMENT OF AGE-RELATED MACULAR
 DEGENERATION BY THE METHOD OF INTEGRATION OF ANGIOGENESIS INHIBITORS INTO
 THE BACK SUBTENON SPACE ON THE VISCOUS MEDIA87
R.V. Gaybaryan, A.N. Epikhin, U.N. Epikhina, U.F. Bondarenko, N.A. Epikhin
- CHRONIC KIDNEY DISEASE OF CARDIAC PATIENTS 96
L.V. Mikhaylova, E.M. Romanova, U.A. Dobrynina

ANNIVERSARY

- 75 YEARS ANNIVERSARY OF ALEKSANDR VLADIMIROVICH SHABROV 101

АНАЛИТИЧЕСКИЕ ОБЗОРЫ

УДК 616.2-008.331.1-08:615.03

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ ЛЕГОЧНОЙ ВЕНОЗНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

В.И. Евлахов, И.Э. Поясов, В.И. Овсянников
ФГБНУ «Институт экспериментальной
медицины», Санкт-Петербург, Россия

THE PHYSIOLOGICAL MECHANISMS OF THE PULMONARY VENOUS HYPERTENSION

V.I. Evlakhov, I.Z. Poyassov, V.I. Ovsyannikov
FSBSI «Institute of Experimental Medicine», St. Petersburg, Russia

© Коллектив авторов, 2018 г.

© A team of authors, 2018.

В обзоре рассмотрены механизмы регуляции функций венозных сосудов легких и роль их нарушений в развитии легочной гипертензии, обусловленной сердечной недостаточностью левого желудочка. Одним из пусковых механизмов развития легочной гипертензии в ответ на повышение давления в левом предсердии и легочных венах является рефлекторное сужение легочных артериол (рефлекс Китаева). В дальнейшем развивается эндотелиальная дисфункция, а также ремоделирование сосудов малого круга с феноменом «артериализации» легочных вен. Точная оценка величины легочного сосудистого сопротивления в клинической практике представляет собой сложную задачу. Этот показатель, являясь интегральным, не позволяет судить о величинах сопротивления артериальных и венозных сосудов легких при легочной гипертензии, и, следовательно, дать точную характеристику их изменений. Механизмы развития легочной венозной гипертензии нельзя объяснить, исходя из упрощенной модели вазоконстрикции, поскольку особенностями кровообращения малого круга являются наличие артериовенозных и бронхопульмональных шунтов и пульсирующий характер кровотока. Для понимания патогенеза указанной патологии необходимо проведение фундаментальных исследований не только на клеточном, но и на органном и системном уровнях.

Ключевые слова: легочные вены, легочная венозная гипертензия, капиллярное гидростатическое давление, коэффициент капиллярной фильтрации, легочный венозный возврат, недостаточность левого желудочка.

In the review regulatory mechanisms of functions of pulmonary venous vessels have been considered as well as the significance of their impairment in the development of the pulmonary hypertension, caused by the left ventricular cardiac failure. One of the trigger mechanisms of the development of the pulmonary hypertension as a result of the elevation of the left atrial and pulmonary venous pressure is the reflectory constriction of the pulmonary arterioles (Kitayev's reflex). Further, the development of endothelial dysfunction and pulmonary vessels remodeling with the phenomenon of "arterializations" of the pulmonary veins take place. The exact evaluation of the pulmonary vascular resistance value in the clinical practice is a difficult task. This parameter, being integrated, does not allow to evaluate the resistance values of pulmonary arterial and venous vessels in the conditions of pulmonary hypertension and to give exact characteristics of their changes, as a result. The mechanisms of development of the pulmonary venous hypertension could not be explicated using the simplified model of the pulmonary vasoconstriction, because the main features of the pulmonary circulation are the presence of arteriovenous and bronchopulmonary shunts, and pulsatile character of the blood flow. To understand the exact pathogenesis of this pathology the further fundamental investigation not only on the cell level, but also on organ and system levels are needed.

Key words: pulmonary veins, pulmonary venous hypertension, capillary hydrostatic pressure, capillary filtration coefficient, pulmonary venous return, left ventricle failure.

Введение. Согласно клиническим рекомендациям Европейского общества кардиологов, легочная гипертензия диагностируется при повышении среднего давления в легочной артерии свыше 25 мм рт.ст. в покое, определяемого методами катетеризации правого сердца [1]. Прекапиллярный тип легочной гипертензии характеризуется повышенным средним давлением в

легочной артерии и нормальной величиной (менее 15 мм рт. ст.) давления заклинивания в легочной артерии, отражающей давление в левом предсердии. Для посткапиллярного (венозного) типа легочной гипертензии характерно повышение не только среднего давления, но и давления заклинивания в легочной артерии свыше 15 мм рт.ст. в покое [1]. В современ-

ной клинической литературе [2, 3] различают два типа легочной венозной гипертензии: 1) при повышении давления в левом предсердии вследствие заболеваний левого сердца или врожденных нарушений оттока крови из легочных вен; 2) при нормальной величине давления в левом предсердии, например, в случаях стеноза внутрилегочных вен или вено-окклюзивной болезни. Следует подчеркнуть, что в настоящее время заболевания левого сердца являются ведущей причиной развития легочной венозной гипертензии [4–7].

Еще в 1931 г. отечественный врач и физиолог Ф.Я. Китаев обратил внимание на то, что у больных митральным стенозом в стадии компенсации повышается давление в сосудах малого круга кровообращения, т.е. развивается легочная гипертензия [8]. Пусковым механизмом ее развития является рефлекторное сужение легочных артериол в ответ на повышение давления крови в левом предсердии и легочных венах. Указанный механизм способствует уменьшению притока крови к левому сердцу, предупреждает развитие его перегрузки и отека легких. Однако в последующем длительный спазм артериол приводит к их морфологическим изменениям: пролиферации гладкомышечных клеток, утолщению средней оболочки, склеротическим изменениям. Это сопровождается значительным повышением давления в легочной артерии. Таким образом, первоначальные изменения давления в легочных венах могут вызывать целый каскад сосудистых реакций малого круга, что в конечном итоге приводит к развитию легочной гипертензии.

В настоящее время наиболее частым заболеванием левого сердца, приводящим к развитию легочной венозной гипертензии, является сердечная недостаточность с сохраненной или сниженной фракцией выброса и диастолической дисфункцией левого желудочка вследствие ишемической болезни сердца [1–7]. В большинстве работ традиционно рассматриваются механизмы развития артериальной легочной гипертензии, тогда как патогенез легочной венозной гипертензии и функции венозных сосудов легких в литературе освещены недостаточно. И поэтому **целью работы** явилось изучение механизмов развития легочной венозной гипертензии вследствие заболеваний левого сердца на основании анализа физиологической и клинической литературы.

Клинические исследования свидетельствуют о том, что при развитии сердечной недостаточности левого желудочка уменьшение его сократимости, ремоделирование и увеличение жесткости сопровождаются повышением левопредсердного давления [1–6]. При этом возрастают размеры левого предсердия, снижаются сократимость и комплаенс (растяжимость), нарушаются систолическая и диастолическая функции, и оно не может выполнять роль буферного резервуара

для оттока крови из вен легких. Увеличение давления наполнения левого предсердия и желудочка приводит к возрастанию давления и в легочных венах.

В клинической литературе традиционно считается, что первоначальное повышение давления в легочных венах и капиллярах в ответ на увеличение давления в левом предсердии является пассивным, или ретроградным [1, 8]. При этом давление в левом предсердии и легочной артерии возрастает одновременно и в одинаковой степени, так что нормальный градиент между ними (около 10–15 мм рт.ст.) остается неизменным [8]. Однако в силу сложных биофизических характеристик сосудистого русла и кровообращения малого круга механизм этого повышения нельзя объяснить только пассивной обратной передачей левопредсердного давления на венозные сосуды легких.

Следует отметить, что поскольку легочное сосудистое сопротивление существенно меньше, чем общее периферическое сопротивление сосудов большого круга кровообращения (соответственно 60–120 и 1000–1500 $\text{дин}\cdot\text{с}\cdot\text{см}^{-5}$), то кинетическая энергия систолического объема правого желудочка в меньшей мере, чем левого в большом круге, трансформируется в потенциальную энергию растяжения сосудов легких [9, 10]. По этой причине во время систолы правого желудочка большая часть его ударного объема переходит из легочной артерии в легочные вены. В период диастолы желудочков давление в легочной артерии снижается, что сопровождается уменьшением кровотока. Повышение же давления в левом предсердии во время систолы последнего создает настолько выраженное противодействие оттоку крови из легочных вен, что скорость легочного кровотока в указанный период уменьшается практически до нуля. Следовательно, величина легочного венозного кровотока в большой степени зависит от давления в левом предсердии и имеет ярко выраженный пульсирующий характер [11, 12].

В условиях повышения левопредсердного давления при заболеваниях левого сердца легочные вены растягиваются в большей степени, чем в норме, что приводит к изменению их упругих характеристик (комплаенса). Изменения последнего в условиях пульсирующего кровотока способствуют повышению давления в легочных венах [13]. Кроме того, потери энергии пульсирующего кровотока в менее эластичном проводнике возрастают вследствие уменьшения эффектов «компрессионной камеры» крупных легочных сосудов. В результате увеличиваются рабочая нагрузка правого желудочка и его сократимость. И поэтому давление в легочной артерии повышается более выраженно, чем при пассивной обратной передаче [13].

Важно особо подчеркнуть, что левое предсердие, как и правое, является рефлексогенной зоной. Из литературы по физиологии известно [14, 15], что в левом

предсердия имеются рецепторы А- и В-подтипов, возбуждающиеся соответственно во время систолы и диастолы предсердия. И поэтому нельзя исключить возможность рефлекторного усиления симпатических нервных влияний на легочные вены в ответ на повышение левопредсердного давления, что может способствовать возрастанию сопротивления легочных венозных сосудов и давления крови в них.

Таким образом, широко распространенное в клинической практике представление о том, что первоначальное повышение давления в легочных венах в ответ на увеличение левопредсердного давления возникает в результате пассивной обратной передачи, является неполным и упрощенным.

Как отмечено выше, на фоне длительно сохраняющегося увеличенного давления в левом предсердии и легочных венах развивается ремоделирование артериальных и венозных сосудов легких, которое сопровождается возрастанием легочного сосудистого сопротивления. Важно отметить, что в клинических исследованиях при указанной патологии отмечена большая вариабельность значений величин этого показателя: от нормальных до значительно повышенных [3]. В этом плане, естественно, возникает вопрос: насколько корректны применяемые методы оценки сопротивления сосудов легких?

Традиционно в клинической практике при катетеризации легочной артерии катетером Свана-Ганца легочное сосудистое сопротивление рассчитывается по формуле Пуазейля [15–18]:

$$ЛСС = \frac{ДЛА - ДЗЛА}{КрЛА},$$

где ЛСС — легочное сосудистое сопротивление; ДЛА — среднее давление в легочной артерии; ДЗЛА — давление заклинивания в легочной артерии, отражающее величину среднего давления в левом предсердии; КрЛА — кровоток в легочной артерии.

При использовании этого метода окклюзия сегмента легочной артерии прерывает кровоток дистальнее места расположения раздутого баллончика, и поэтому давление, зарегистрированное у конца катетера, отражает давление в легочных венах, несущих кровь в левое предсердие. Поскольку в норме градиент давления на участке от легочных вен до левого предсердия невелик, то величина легочного венозного давления близка к левопредсердному [15]. Следует, однако, отметить, что легочные капилляры, контактирующие с альвеолами, подвержены спадению вследствие действия на них альвеолярного давления. И поэтому, если гидростатическое давление крови в месте слияния посткапиллярных вен меньше, чем альвеолярное, кончик катетера может быть обращен к слепому окончанию спавшихся под действи-

ем альвеолярного давления капилляров. В указанных условиях измеренное давление заклинивания легочной артерии не является пригодным показателем для оценки величины давления в левом предсердии [18].

Важно также подчеркнуть, что непосредственное измерение давления и кровотока в легочной артерии, давления заклинивания в легочной артерии, правопредсердного давления с помощью флотационного катетера Свана-Ганца при катетеризации правого желудочка и легочной артерии у человека является дорогостоящей и небезопасной процедурой [16, 19]. По этой причине в настоящее время в клинической практике широко применяются неинвазивные эхокардиографические методы оценки давления в легочной артерии и левом предсердии человека [16, 19–21]. Считается [19–21], что способы оценки давления в легочной артерии по степени трикуспидальной регургитации коррелируют с величиной давления, измеренной при катетеризации легочной артерии. Величина давления в левом предсердии определяется по скорости трансмитрального потока крови. Вместе с тем, в работе [16] показано, что косвенные эхокардиографические методы оценки давления в легочной артерии и давления в левом предсердии не в полной мере отражают сдвиги реальных величин указанных показателей, что не позволяет корректно оценить изменения легочной гемодинамики при указанной патологии [16]. Кроме того, эти методы не позволяют точно рассчитать величину легочного сосудистого сопротивления, сдвиги которого являются ведущими в патогенезе, например, хронической тромбоэмболической легочной гипертензии. И поэтому требуется дальнейшее развитие эхокардиографических методов оценки легочной гемодинамики [16].

При расчетном способе определения легочного сосудистого сопротивления на его значение, кроме непосредственных констрикторных реакций сосудов легких, будет влиять величина давления в левом предсердии, которая зависит от сократительной функции миокарда левого желудочка и притока крови по легочным венам [15]. И поэтому даже в условиях постоянства легочного кровотока при снижении левопредсердного давления легочное сосудистое сопротивление будет возрастать, а при повышении давления в левом предсердии, напротив, снижаться, что может привести к его неправильной оценке [15]. В условиях же легочной венозной гипертензии, вызванной заболеваниями левого сердца, левопредсердное давление повышено, что, тем более, не позволяет точно рассчитать величину легочного сосудистого сопротивления. Поскольку в клинической практике величины легочного кровотока и степень повышения давления в левом предсердии у больных легочной гипертензией могут быть весьма вариабельными, расчетные величины легочного сосудистого сопро-

тивления будут также варьировать в значительных пределах. Кроме того, в формуле Пуазейля для расчета легочного сосудистого сопротивления используются средние значения давления в легочной артерии и кровотока.

Пульсирующий же характер легочного кровотока и давления накладывает существенные ограничения на возможность интерпретации сдвигов легочного сосудистого сопротивления, рассчитанного по формуле Пуазейля [17, 18]. И поэтому более правомерной представляется оценка входного импеданса легочных артерий, который может быть рассчитан из измерений пульсирующего давления и кровотока в устье легочной артерии с учетом частоты пульсаций и фазового сдвига между пульсовыми колебаниями этих показателей [18]. Входной импеданс, рассчитываемый как соотношение амплитуды осцилляторного давления и амплитуды осцилляторного кровотока при заданной частоте, может определяться по оценке кривых давления и кровотока при их разложении на синусоидальные составляющие [22]. В здоровом легком модуль входного импеданса легочной артерии вначале снижается от нулевого значения частоты, а затем колеблется между максимумами и минимумами с увеличивающейся частотой. При сужении мелких артерий входное сопротивление и отражение волны изменяются, и в соответствии с этим варьируют величины максимумов и минимумов частот, при которых они происходят [22].

Вместе с тем предположение, принятое в основе концепции входного импеданса, основано на том, что легочное артериальное дерево ведет себя подобно линейной системе, т.е. волны давления и кровотока каждой отдельной частоты не зависят от таких волн других частот. Допущение о линейности для реальных кровеносных сосудов является весьма упрощенным, что усложняет интерпретацию расчетных показателей входного импеданса. Важно также отметить, что жесткость легочных артериальных сосудов является показателем, зависимым от давления. Так, при возрастании давления легочные артерии растягиваются, что приводит к большему образованию коллагеновых волокон и возрастанию жесткости. И поэтому достаточно сложно ответить на вопрос, что приводит к увеличению жесткости: ремоделирование легочных артерий или возрастание давления и напряжения сосудистой стенки [22]. Таким образом, из сказанного следует, что точная оценка реальной величины легочного сосудистого сопротивления в клинической практике является весьма сложной задачей. Кроме того, этот показатель, являясь интегральным, не позволяет судить о величинах сопротивления артериальных и венозных сосудов легких при указанной патологии, и, следовательно, дать количественную характеристику их изменений. Следовательно, для понимания меха-

низмов развития легочной венозной гипертензии, наряду с клиническими, необходимы фундаментальные медицинские исследования, моделирующие указанную патологию в опытах на животных.

Данные гистологических исследований свидетельствуют о том, что диаметр легочных венул, начинающихся от посткапилляров, составляет от 50 до 80 мкм, и в их стенке уже встречаются гладкомышечные волокна. В стенке мелких вен содержится много коллагеновых волокон, а гладкомышечные волокна располагаются косо, тогда как в крупных венах они уже образуют толстые мышечные пучки [23]. Таким образом, наличие в легочных венах мышечного слоя обеспечивает им возможность активных констрикторных и дилаторных реакций. Отличительной особенностью строения стенки легочных венозных сосудов по сравнению с артериальными является также преобладание коллагеновых волокон. Именно поэтому растяжимость легочных венозных сосудов значительно меньше, чем у артерий малого круга, тогда как эластичность, т.е. способность сопротивляться растяжению, напротив, выше [10, 11].

По данным литературы по физиологии [24], в малом круге кровообращения на долю артериальных легочных сосудов приходится не более 50% величины легочного сосудистого сопротивления, а сопротивление легочных вен более вариабельно и может составлять от 7% до 30% суммарного сопротивления легочных сосудов. При морфометрическом измерении длины и диаметра сосудов легких кошки и расчете на основании этих данных сопротивления легочных венозных сосудов оно может достигать до 49% величины суммарного легочного сосудистого сопротивления. Это может быть обусловлено многочисленными разветвлениями легочных венозных сосудов [24].

Важным свойством гладкомышечных клеток венозных, как и артериальных сосудов легких, является способность к спонтанной генерации потенциалов действия, т.е. автоматии. Фаза деполяризации потенциала действия этих клеток обусловлена увеличением входа Ca^{2+} через потенциалзависимые Ca^{2+} каналы, а фаза реполяризации — уменьшением входа Ca^{2+} и усилением выхода K^+ в результате активации потенциалзависимых K^+ каналов [11, 14]. Генерация потенциала действия в гладкомышечных клетках обеспечивает их сокращение (электромеханическое сопряжение). Кроме того, гладкомышечные клетки легочных вен, как и артерий, способны сокращаться, например, под воздействием катехоламинов без генерации потенциалов действия, т.е. в результате фармакомеханического сопряжения [11, 14].

В гладкомышечных клетках легочных венозных сосудов, так же как и артериальных, увеличение концентрации внутриклеточных Ca^{2+} является необходимым сигналом не только для вазоконстрик-

ции, но и пролиферации миоцитов [25]. Возрастные концентрации Ca^{2+} в гладкомышечных клетках может быть результатом как поступления внешних Ca^{2+} , так и высвобождения последних из внутренних внутриклеточных депо (саркоплазматического ретикулома). При увеличении концентрации внутриклеточных ионов кальция выше пороговой (200 нМ) они связываются с белком кальмодулином, и комплекс « Ca^{2+} —кальмодулин» активирует фермент киназу легких цепей миозина, который обеспечивает фосфорилирование головок этого белка. В результате последние приобретают способность циклически связываться с актином по типу «закрывание—сокращение—размыкание» [14].

Электрофизиологические исследования показали [26], что поступление внешних Ca^{2+} в клетку через плазматическую мембрану может осуществляться в результате активации различных типов Ca^{2+} каналов: 1) потенциалзависимых Ca^{2+} каналов L-типа, 2) хемозависимых (рецептор-управляемых) Ca^{2+} каналов и 3) депо управляемых Ca^{2+} каналов, или каналов, управляемых опустошением кальциевых депо.

Потенциалзависимые Ca^{2+} каналы могут быть активированы деполяризацией мембраны и блокируются антагонистами Ca^{2+} , например, верапамилом и нифедипином [26]. Кроме того, эти каналы могут быть также активированы в ответ на растяжение гладкомышечных клеток, т.е. быть механочувствительными [27]. Депо-управляемые Ca^{2+} каналы активируются в случае уменьшения концентрации Ca^{2+} в саркоплазматическом ретикуломе (его «опустошении»). Указанный механизм получил название емкостный, или депо-управляемый вход кальция [28]. Исследования, выполненные методами молекулярной биологии, показали, что в мембране саркоплазматического ретикулома имеется своеобразный белок («стромальная интеракционная молекула»), чувствительный к изменениям концентрации Ca^{2+} в этом депо. Этот белок взаимодействует с субъединицей модулятора активатора высвобождения кальция 1, что приводит к активации депо-управляемых Ca^{2+} каналов и поступлению внешних Ca^{2+} в клетку [28].

Структурными компонентами потенциалзависимых и депо управляемых Ca^{2+} каналов являются канонические катионные каналы с транзитным рецепторным потенциалом [25, 28]. В работах [28, 29] показано, что повышенная экспрессия генов указанных каналов имеет место при острой и хронической гипоксии в гладкомышечных клетках легочных артериальных и венозных сосудов. Это сопровождается увеличением содержания внутриклеточного кальция и вазоконстрикцией. Вместе с тем в процессах регуляции сокращения гладкомышечных клеток участвуют также потенциалзависимые K^+ каналы. Так, в исследовании [30] показано, что в условиях острой гипоксической

гипоксии в гладкомышечных клетках легочных сосудов тормозится выходящий ток K^+ , что сопровождается деполяризацией мембраны и активацией в результате потенциалзависимых Ca^{2+} каналов. Последнее вызывает выраженную вазоконстрикцию [30]. Таким образом, молекулярные механизмы регуляции сократимости гладкомышечных клеток являются многофакторными и установить ведущую роль какого-либо одного из них, по-видимому, невозможно.

Отличительной особенностью легочных венозных сосудов, по сравнению с артериальными, является то, что они, как и органы вены большого круга кровообращения, обладают небольшим базальным тонусом. Это обеспечивает резерв веноконстрикции и мобилизацию резервного объема крови из легочных венозных сосудов [11, 14].

Из физиологической литературы известно [31–33], что легочные артериальные и венозные сосуды иннервируются эфферентными симпатическими адренергическими и парасимпатическими (блуждающими) холинергическими нервами, обеспечивающими нейрогенный компонент сосудистого тонуса. Усиление тонической активности симпатических нервов вызывает вазоконстрикцию, тогда как возбуждение парасимпатических нервов — вазодилатацию [31–33].

На гладкомышечных клетках сосудов легких имеются постсинаптические α_1 - и α_2 -адренорецепторы, активация которых норадреналином вызывает вазоконстрикцию. Вместе с тем α_1 -адренорецепторы разделяются на подтипы α_{1A} -, α_{1B} - и α_{1D} -, тогда как α_2 -адренорецепторы — на α_{2A} -, α_{2B} - и α_{2C} [34, 35]. В работах [34, 35], выполненных на изолированных колечках легочных вен, показано наличие в них α_{1B} -, α_{1D} - и α_{2C} -адренорецепторов, активация которых вызывает их констрикцию. При этом констрикторные реакции легочных вен, в ответ на активацию α_{2C} -адренорецепторов усиливаются на фоне повышенного тонуса легочных венозных сосудов. Авторы поэтому полагают, что одним из направлений лечения легочной гипертензии может быть использование селективных антагонистов α_{2C} -адренорецепторов. В работе [32] показано наличие β_1 - и β_2 -подтипов адренорецепторов на гладкомышечных клетках легочных вен, активация которых приводит к вазодилатации.

В исследовании [36], выполненном на легочных срезах, показано, что констрикторные и дилаторные реакции легочных венозных сосудов в ответ на активацию соответственно α - и β -адренорецепторов более выражены, чем у легочных артерий. Эти же авторы отметили констрикторные реакции легочных вен в ответ на применение вазопрессина и ангиотензина при активации соответственно V_{1A} - и AT_1 -рецепторов, тогда как констрикторные реакции легочных артерий в последнем случае практически не проявлялись. Следовательно, реакции легочных

артериальных и венозных сосудов в ответ на применение указанных вазоактивных веществ могут быть различными.

Холинергические рецепторы в гладкомышечных клетках легочных вен у человека представлены, в основном, мускариновыми рецепторами M_3 -подтипа, возбуждение которых ацетилхолином приводит к вазодилатации [32]. Вместе с тем в работе [37], выполненной в условиях перфузии изолированных легких кролика, стимуляция ацетилхолином M_3 -холинорецепторов в условиях легочной гипертензии, вызванной применением тромбоксана A_2 , не вызывала дилатации легочных вен, хотя приводила к расширению легочных артериальных сосудов. По мнению авторов, это обусловлено тем, что плотность M_3 -холинорецепторов больше в артериальных, чем в венозных сосудах легких.

Данные литературы свидетельствуют также о том, что характер реакций венозных сосудов легких в ответ на применение ацетилхолина зависит от величины исходного сосудистого тонуса. Так, в исследовании [38], выполненном на изолированных колечках легочных венозных сосудов собак, показано, что в отсутствие предварительной констрикции, применение ацетилхолина вызывало дозозависимое сокращение венозных колечек. Эти реакции блокировались антагонистами Ca^{2+} , а также инозитолтрифосфата. Авторы полагают, что констрикторные реакции венозных колечек в ответ на применение ацетилхолина, обусловлены как входом внешних ионов кальция через потенциалзависимые Ca^{2+} -каналы, так и выходом этих ионов из саркоплазматического ретикулома при повышении внутриклеточной концентрации инозитолтрифосфата. Вместе с тем в работе [39], выполненной на изолированных колечках легочных вен человека, показано, что при действии ацетилхолина на предварительно сокращенные применением норадреналина колечки проявляются их дилататорные реакции. Последние были обусловлены активацией ацетилхолином M_1 -холинорецепторов эндотелия и высвобождением оксида азота.

Таким образом, реакции легочных венозных сосудов в ответ на активацию M -холинергических механизмов неоднозначны и зависят от их исходного тонуса. В случае низкой исходной величины последнего имеют место констрикторные реакции, а при исходно высоком тонусе, напротив, дилататорные.

Данные литературы свидетельствуют также о том, что в гладкомышечных клетках сосудов легких имеются и никотинчувствительные рецепторы $\alpha 7$ -nACh-подтипа [40, 41]. В работе [32] отмечено, что активация этих рецепторов сопровождается снижением легочного сосудистого сопротивления через эндотелий-зависимый механизм синтеза оксида азота, а также ускорением пролиферации гладкомышечных клеток и неоваскуляризации. Из литературы также известно [42],

что из окончаний парасимпатических нервов, иннервирующих легочные сосуды, наряду с ацетилхолином могут также выделяться такие медиаторы, как оксид азота и вазоактивный интестинальный пептид, вызывающие вазодилатацию. Выяснение степени участия этих нервов в регуляции тонуса венозных сосудов легких требует дальнейших исследований.

Важно подчеркнуть, что исследования, выполненные на изолированных колечках легочных вен или легочных срезах, не могут дать в полной мере ответа на вопрос о роли нейрогенных рефлекторных механизмов регуляции тонуса венозных сосудов легких. Однако традиционно в учебной литературе по физиологии считается, что нейрогенные рефлекторные влияния на сосуды легких слабо выражены вследствие небольшого количества гладкомышечных клеток в стенке этих сосудов и низкой плотности эфферентных нервных окончаний [9–11]. Вместе с тем в работе [32] рассматривается роль вегетативной нервной системы в патогенезе легочной артериальной гипертензии. Поскольку в условиях сердечной недостаточности активируются симпатические влияния на сердце и сосуды, их роль в патогенезе легочной венозной гипертензии может быть также значимой. Однако сведения о рефлекторных нейрогенных влияниях на легочные венозные сосуды в современной физиологической литературе практически отсутствуют. Сложность изучения этого вопроса заключается в том, что легочные вены эластичны и легко растяжимы, и поэтому их активные реакции могут быть нивелированы пассивными, обусловленными сдвигами интерстициального и альвеолярного давлений [43]. Кроме того, слабая выраженность рефлекторных влияний на легочные сосуды обусловлена также торможением вазомоторных рефлексов, изучаемых на животных в условиях наркоза. И поэтому дальнейший прогресс в изучении механизмов рефлекторной регуляции легочного кровообращения мог бы быть обусловлен, очевидно, развитием методов измерения параметров легочной гемодинамики и нейронной активности в хронических опытах у бодрствующих животных [43]. Таким образом, для выяснения роли нейрогенных рефлекторных механизмов в регуляции резистивной и емкостной функции венозных сосудов легких необходимы дальнейшие исследования, базирующиеся на качественно новом уровне.

Вместе с тем данные современной литературы по физиологии свидетельствуют, что ведущим механизмом развития легочной гипертензии является эндотелиальная дисфункция, т.е. нарушение баланса синтеза эндотелием веществ вазодилататоров и вазоконстрикторов, в частности, оксида азота и эндотелина-1 [1–3, 44–47]. Однако ответить на вопрос о том, синтезирует ли эндотелий легочных венозных сосудов какие-то особые вещества, по сравнению с легочными артериальными сосудами, практически очень сложно. Из

литературы также известно [45], что эндотелий синтезирует ряд факторов роста, таких как тромбоцитарный фактор роста, фактор роста фибробластов, инсулиноподобный фактор роста, трансформирующий фактор роста β и др. Увеличение синтеза этих факторов приводит к пролиферации и миграции гладкомышечных клеток легочных сосудов, накоплению коллагена в стенке легочных артериол, усилению воспалительных процессов. Ремоделирование легочных сосудов сопровождается также процессами апоптоза, миграцией эндотелиальных клеток, увеличением активности тромбоцитов и микротромбозами. В результате развивается прогрессирующее повышение легочного сосудистого сопротивления [45].

Однако в работе [3] подчеркивается, что, несмотря на идентификацию большого количества молекул и патогенетических путей как возможно значимых для развития сосудистого ремоделирования и вазоконстрикции, еще неизвестно, для какого типа легочной гипертензии и в какой степени значимы эти механизмы. Например, тот факт, что уровень эндотелина I в плазме крови коррелирует с величиной давления в легочной артерии при сердечной недостаточности, не устанавливает роль этого пептида в генезе легочной гипертензии [3]. По мнению автора, фундаментальная причина повышения легочного сосудистого сопротивления при легочной венозной гипертензии — это увеличенное внутрисосудистое давление, ведущее к возрастанию напряжения сосудистой стенки и растяжению легочных артерий и вен. При увеличении внутрисосудистого давления могут происходить миогенная вазоконстрикция (по типу феномена Бейлисса—Остроумова, как и в артериолах большого круга) и патологическое ремоделирование легочных сосудов. Как отмечено выше, ремоделирование характеризуется пролиферацией гладкомышечных клеток, их миграцией и пролиферацией в интиме, гиперплазией и фиброэластозом интимы, утолщением адвентиции. Следует также отметить, что большинство исследований касаются изменений гладкомышечных клеток, хотя в процессах сосудистого ремоделирования участвуют также эндотелий и адвентициальные клетки. В случае же ремоделирования легочных венозных сосудов характерна их «артериализация», т.е. прогрессирующая гипертрофия средней оболочки и фиброз интимы [48–50]. Важно также подчеркнуть, что при развитии легочной венозной гипертензии изменяются пульсовые характеристики кровотока, которые также влияют на процессы ремоделирования [3, 13]. Однако для выяснения механизмов влияния изменений характера пульсирующего кровотока на процессы сосудистого ремоделирования необходимы дальнейшие исследования.

Вместе с тем механизмы развития легочной венозной гипертензии нельзя объяснить исходя из упрощенной модели вазоконстрикции, поскольку одной из

главных особенностей кровообращения малого круга которого является наличие шунтирующего кровотока.

Из литературы известно [9–11], что кровь из артериальных сосудов легких может направляться, минуя легочные капилляры, через запираемые артерии и шунты в легочные вены. Таким образом, кровь протекает по артериовенозным анастомозам не оксигенируясь. При этом, естественно, уменьшается и величина легочного сосудистого сопротивления. Роль артериовенозных шунтов, осуществляющих «короткое замыкание» легочного кровотока, может возрастать в условиях легочной гипертензии. При этом на фоне повышения давления в легочной артерии и возрастания шунтирующего кровотока, с одной стороны, уменьшается перегрузка правого желудочка, но с другой — возрастает поступление неоксигенированной крови в левое сердце, что приводит к развитию гипоксии [51]. Важно также отметить, что легочная паренхима и бронхи снабжаются кровью из бронхиальных артерий, а между системой кровоснабжения бронхов и легочными венами также имеются физиологические шунты [9–11]. В нормальных условиях часть крови (1–2%) из бронхиальных сосудов поступает через венозные бронхопультмональные анастомозы в легочные вены. При нарушениях системного и легочного кровообращения может изменяться не только величина, но и направление кровотока по бронхопультмональным анастомозам [51]. Таким образом, наличие шунтирующего кровотока между бронхиальными артериями и венами легких способствует повышению давления в системе легочной артерии, а изменения оттока крови из бронхиальных вен в систему верхней полой вены приводят к сдвигам величины кровотока в этой вене. Для изучения механизмов регуляции шунтирующего кровотока в легких в условиях легочной венозной гипертензии также требуется проведение дальнейших исследований.

Следует подчеркнуть, что изменение тонуса венозных сосудов легких приводит к сдвигам капиллярного гидростатического давления и коэффициента капиллярной фильтрации, т.е. фильтрационно-абсорбционного равновесия [10, 11]. В условиях левожелудочковой сердечной недостаточности сдвиги фильтрационно-абсорбционного равновесия в ответ на констрикцию легочных вен могут приводить к развитию отека легких и нарушениям газообмена.

Из литературы известно, что скорость фильтрации жидкости через микрососудистый эндотелий в интерстиций определяется модифицированным уравнением Старлинга [9–11, 14]:

$$Q_f = CFC \times [(P_c - P_i) - \sigma(\pi_c - \pi_i)],$$

где Q_f — скорость фильтрации жидкости; CFC — коэффициент капиллярной фильтрации (в легочной ткани он составляет от 0,07 до 0,2 мл/мин / мм рт.ст./100 г); P_c — легочное капиллярное гидростатиче-

ское давление (5–12 мм рт.ст.); P_i — гидростатическое давление интерстициальной жидкости (в легочной ткани оно является отрицательной величиной и составляет $-2...-4$ мм рт.ст., поскольку рассчитывается по отношению к внутривенному отрицательному давлению); σ — коэффициент осмотического отражения, принимаемый обычно за 1; P_c — онкотическое давление белков плазмы крови (в легочных микрососудах 24–30 мм рт. ст.); P_i — онкотическое давление интерстициальной жидкости (14–18 мм рт.ст., что составляет около 75% онкотического давления белков плазмы крови) [15]. Таким образом, в норме в легочном микроциркуляторном русле скорость реабсорбции преобладает над фильтрацией, что противодействует развитию отека легких.

Также известно, что увеличение венозного сопротивления приводит к выраженному приросту капиллярного гидростатического давления в силу высокого коэффициента передачи его изменений на капиллярное русло [9–11, 14]. Эта зависимость для микроциркуляторного русла может быть выражена следующим соотношением:

$$P_c = P_v + \frac{P_a - P_v}{R_a + R_v} \times R_v,$$

где P_c — капиллярное гидростатическое давление; P_a и R_a — соответственно давление и сопротивление в артериальной части микроциркуляторного русла; P_v и R_v — соответственно давление и сопротивление в венозной части микроциркуляторного русла.

Следует также отметить, что поскольку легочный венозный кровоток имеет ярко выраженный пульсирующий характер, то его пульсовые колебания могут вызывать сдвиги проницаемости микрососудов и скорости фильтрационно-реабсорбционных процессов в легких [52, 53].

Вместе с тем важно подчеркнуть наличие факторов, противодействующих развитию отека легких. В физиологической литературе [15, 18] традиционно рассматриваются четыре механизма, противодействующих развитию отека легких.

1. «Просеивающий» эффект эндотелия. Поскольку эндотелий полупроницаем для белка, в норме величина отношения концентрации белка в интерстиции к концентрации белка в плазме крови снижается при увеличении гидростатического давления. В результате увеличение гидростатической движущей силы (разность между капиллярным и интерстициальным гидростатическими давлениями) уравновешивается увеличением онкотической абсорбционной силы (разность между онкотическим давлением белков плазмы крови и онкотическим давлением интерстициальной жидкости).

2. Повышение интерстициального гидростатического давления. По мере повышения интерстициального гидростатического давления гидростатическая

движущая сила начинает уменьшаться, что препятствует дальнейшей фильтрации жидкости.

3. Повышение онкотического давления плазмы. В ответ на резкое повышение гидростатического давления и возрастание фильтрации жидкости с малым содержанием белка в интерстиции концентрация белка в плазме возрастает. Увеличение онкотического давления плазмы и, следовательно, абсорбционной силы, противодействует фильтрации.

4. Резервные возможности лимфатической системы. Лимфоотток в легких может возрастать в 15 раз, что позволяет компенсировать увеличение скорости фильтрации жидкости [15, 18]. Следовательно, кардиогенный отек легких будет развиваться в случае преобладания факторов, способствующих отеку, над факторами, которые ему противодействуют.

Однако перечисленные выше механизмы, базирующиеся на уравнении Старлинга, не учитывают активных реакций легочных сосудов. В случае развития отека легких выделяется целый комплекс вазоактивных веществ, оказывающих различные влияния на легочное микроциркуляторное русло. При этом изменяется функция эндотелия, приводящая к сдвигам коэффициентов капиллярной фильтрации и осмотического отражения [18]. Можно полагать, что механизмы изменений легочной макро- и микрогемодинамики в условиях кардиогенного отека легких более сложны, чем может быть объяснено уравнением Старлинга. В этом плане представляется целесообразным проведение сравнительных исследований сдвигов легочной гемодинамики на экспериментальных моделях кардиогенного отека легких в условиях целостного кровообращения и на перфузируемых легких со стабилизацией легочного кровотока. В последнем случае можно также изучать механизмы сдвигов легочной макро- и микрогемодинамики и фильтрационно-реабсорбционных процессов.

Следует подчеркнуть, что измерение ряда показателей легочной микроциркуляции (капиллярное гидростатическое давление, гидростатическое и онкотическое давление в интерстициальном пространстве, коэффициент капиллярной фильтрации, коэффициент осмотического отражения, онкотическое давление в легочных сосудах) представляет собой методически и технически весьма сложную задачу даже в стационарных условиях легочного кровообращения.

Для определения среднего капиллярного гидростатического давления и коэффициента капиллярной фильтрации зарубежные авторы, как правило, используют гравиметрический метод, предусматривающий непрерывную регистрацию массы изолированных перфузируемых легких [54–56]. Так, в работе [55] острая гипоксическая гипоксия в условиях нормокапнии не вызывала повышения коэффициента капиллярной фильтрации, тогда как указанное воздействие в условиях гиперкапнического ацидоза сопровождалось

повышением коэффициента капиллярной фильтрации. Вместе с тем недостатком гравиметрического метода даже на интактной легочной доле являются дыхательные экскурсии ее паренхимы, отражающиеся на записи массы и затрудняющие оценку ее изменений. По этой причине для анализа механизмов изменений легочной макро- и микрогемодинамики при моделировании легочной гипертензии на животных нам представляется целесообразным применить метод волюмометрии экстракорпорально циркулирующей крови. Он был разработан под руководством акад. Б.И. Ткаченко для изучения нормальной физиологии микроциркуляторного русла различных органов и, в частности, легких [14].

Как отмечено выше, немаловажным обстоятельством является пульсирующий характер легочного кровотока, который также необходимо учитывать при разработке методов перфузии легких в моделях нарушений легочного кровообращения. Так, в проведенных нами ранее исследованиях [57] с использованием одноканальной перфузии с помощью роликового насоса постоянной производительности PD 5001 (Heidolph, ФРГ) исходное давление в легочной артерии у кроликов составляло 24 ± 4 мм рт.ст., легочный кровоток — 160 мл/мин, а легочное сосудистое сопротивление — 159 ± 10 дин \cdot с \cdot см $^{-5}$. В случае двухканальной перфузии легких поршневым насосом производства «ИЭМ» исходное давление в легочной артерии составляло 30 ± 2 мм рт.ст., легочный кровоток — 136 мл/мин, а легочное сосудистое сопротивление — 239 ± 8 дин \cdot с \cdot см $^{-5}$. Различия величин давления в легочной артерии и легочного сосудистого сопротивления в обоих случаях могли быть обусловлены различиями характера пульсирующего кровотока применяемых насосов. В наших опытах частота вращения ротора роликового насоса составляла 40 циклов в минуту, а ударный объем — 4 мл, тогда как частота движения поршня насоса «ИЭМ» была равна 170 циклов в минуту, а ударный объем составлял 0,8 мл. Таким образом, при дальнейшей разработке новых методов перфузии легких необходимо также учитывать пульсирующий характер легочного кровотока, характер пульсаций которого оказывает влияние на резистивную, емкостную и обменную функции легочных сосудов [53].

Как уже отмечалось, для понимания механизмов легочной венозной гипертензии, наряду с клиническими, необходимы фундаментальные медицинские исследования, моделирующие указанную патологию в опытах на животных. В зарубежных исследованиях для моделирования легочной венозной гипертензии используются стенозирование легочных вен [49], стеноз левого предсердия [48], а также стенозирование аорты для развития левожелудочковой недостаточности [50]. У животных с экспериментальной легочной гипертензией отмечена «артериализация» легочных вен, т.е. изменение их стро-

ения по типу артерий малого круга. Однако точные механизмы указанных изменений остаются невыясненными. Необходимы дальнейшие многоплановые исследования, интегрирующие данные, получаемые на клеточном и молекулярном уровнях, с результатами экспериментов, проводимых на органном и системном уровнях.

Выводы.

1. Наиболее частой причиной развития легочной венозной гипертензии является сердечная недостаточность с сохраненной или сниженной фракцией выброса и диастолической дисфункцией левого желудочка вследствие ишемической болезни сердца. При этом увеличение давления наполнения левого предсердия и желудочка приводит к возрастанию давления и в легочных венах.

2. Широко распространенное в клинической практике мнение о пассивной обратной передаче повышенного левопредсердного давления на легочные вены представляется неполным и упрощенным, поскольку легочный кровоток является пульсирующим, а легочные сосуды — эластичными. Изменения комплаенса последних в условиях пульсирующего кровотока могут способствовать повышению давления в легочных венах.

3. Одним из пусковых механизмов развития легочной гипертензии в ответ на повышение давления в левом предсердии и легочных венах является рефлекторное сужение легочных артериол (рефлекс Китаева). При прогрессировании указанной патологии развивается эндотелиальная дисфункция, т.е. нарушение баланса синтеза эндотелием веществ вазодилататоров и вазоконстрикторов, а также ремоделирование сосудов малого круга с феноменом «артериализации» легочных вен.

4. Точная оценка реальной величины легочного сосудистого сопротивления в клинической практике является сложной задачей. Указанный показатель, являясь интегральным, не позволяет судить о величинах сопротивления артериальных и венозных сосудов легких при легочной гипертензии и дать количественную характеристику их изменений.

5. Механизмы развития легочной венозной гипертензии нельзя объяснить исходя из упрощенной модели вазоконстрикции, поскольку особенностями кровообращения малого круга являются пульсирующий характер кровотока и наличие артериовенозных и бронхопульмональных шунтов. Для понимания патогенеза указанной патологии необходимы дальнейшие фундаментальные исследования, моделирующие ее в опытах на животных и интегрирующие данные, получаемые методами клеточной и молекулярной биологии, с результатами экспериментов, проводимых на органном и системном уровнях.

Работа выполнена согласно теме 0557-2016-0015 гос. задания ФАНО Российской Федерации.

Литература

1. Berthelot E., Bailly M.T., Hatimi S.E., Robard I., Rezgui H., Bouchachi A., Montani D., Sitbon O., Chemla D., As-sayag P. Pulmonary hypertension due to left heart disease // Arch. Cardiovasc. Dis. 2017. Vol. 110, No 6–7. P. 420–431.
2. Clark C.B., Horn E.M. Group 2 Pulmonary Hypertension: Pulmonary Venous Hypertension: Epidemiology and Pathophysiology // Cardiol Clin. 2016. Vol. 34, No 3. P. 401–411.
3. Kulik T.J. Pulmonary hypertension caused by pulmonary venous hypertension // Pulm. Circ. 2014. Vol. 4, No 4. P. 581–595.
4. Dixon D.D., Trivedi A., Shah S.J. Combined post- and precapillary pulmonary hypertension in heart failure with preserved ejection fraction // Heart Fail. Rev. 2016. Vol. 21, No 3. P. 285–297.
5. Farr G., Shah K., Markley R., Abbate A., Salloum F.N., Grinnan D. Development of Pulmonary Hypertension in Heart Failure With Preserved Ejection Fraction // Prog. Cardiovasc. Dis. 2016. Vol. 59, No 1. P. 52–58.
6. Guazzi M., Labate V. Pulmonary Hypertension in Heart Failure Patients: Pathophysiology and Prognostic Implications // Curr. Heart Fail. Rep. 2016. Vol. 13, No 6. P. 281–294.
7. Кирилова В.В. Ранняя ультразвуковая диагностика венозного застоя в малом круге кровообращения у пациентов с хронической сердечной недостаточностью // Сердечная недостаточность. 2017. Т. 18, No 3. С. 208–212. [Kirillova V.V. Early ultrasounds diagnostocs of the venous congestion in the pulmonary circulations in ratients with chronic left heart failure, Heart failure. 2017. Vol. 18, No 3. pp. 208–212]
8. Грицюк А.И. Пособие по кардиологии. Киев: Здоров'я, 1984. 560 с. [Gricuk A.I. Textbook of cardiology. Kiev: Zdorovia, 1984. 560 p.]
9. Гайтон А.К., Холл Дж.Э. Медицинская физиология / пер. с англ. под ред. В.И. Кобрин. М.: Логосфера, 2008. 1296 с. [Guyton A.K., Hall G.E. Medical Physiology / eng. transl. edited by V.I. Kobrin. Moscow: Logosphera, 2008. 1296 p.]
10. Berne R.M., Levy M.N. Cardiovascular Physiology. 6th ed. St. Louis: Mosby Inc. 2008. 600 p.
11. Ganong W.F. Review of Medical Physiology. 21st ed. New York: Mc Graw-Hill Companies, 2003. 624 p.
12. Hollander E.H., Dobson G.M., Wang J.J., Parker K.H., Tyberg J.V. Direct and series transmission of left atrial pressure perturbations to the pulmonary artery: a study using wave-intensity analysis // Am. Journ. Physiol. (Heart Circ. Physiol.). 2004. Vol. 286, No 2. P. H267–H275.
13. MacIver D.H., Adeniran I., MacIver I.R., Revell A., Zhang H. Physiological mechanisms of pulmonary hypertension // Am. Heart Journ. 2016. Vol. 180, No 1. P. 1–11.
14. Ткаченко Б.И. (ред.) Нормальная физиология человека: учебник для высших учебных заведений. 2-е изд., испр. и доп. М.: Медицина. 2005. 928 с. [Tkachenko B.I. (ed.) The human normal physiology: Textbook for medical universities. 2nd ed., corr. and compl. Moscow: Medicine, 2005. 928 p.]
15. Гриппи М. Патофизиология легких: пер. с англ. М.: Бином, 1997. 344 с. [Grippi M. Pulmonary pathophysiology: eng. Transl. Moscow: Binom, 1997. 344 p.]
16. Doutreleau S., Canuet M., Enache I., Di Marco P., Lonsdorfer E., Oswald-Mammoser M., Charloux A. Right Heart Hemodynamics in Pulmonary Hypertension — An Echocardiography and Catheterization Study // Circ. Journ. 2016. Vol. 80, No 9. P. 2019–2025.
17. Евлахов В.И., Поясов И.Э., Овсянников В.И., Шайдаков Е.В. Современные аспекты регуляции легочного кровообращения в норме и при экспериментальной патологии // Мед. акад. журнал. 2017. Т. 13, No 4. С. 54–65. [Evlakhov V.I., Poyassov I.Z., Ovsyannikov V.I., Shaidakov E.V. The modern aspects of the pulmonary circulation regulation in normal conditions and experimental pathology, Med. Acad. Journ. 2013. Vol. 13, No 4. pp. 54–65].
18. Евлахов В.И., Поясов И.Э., Овсянников В.И., Шайдаков Е.В. Легочная гемодинамика при хронической тромбоэмболической легочной гипертензии // Рос. физиол. журн. им. И.М. Сеченова. 2017. Т. 103, No 11. С. 1225–1240. [Evlakhov V.I., Poyassov I.Z., Ovsyannikov V.I., Shaidakov E.V. The pulmonary hemodynamics in chronic thromboembolic pulmonary hypertension // Ros. Fiziol. Journ. named I.M. Setchenov. 2017. Vol. 103, No 11. pp. 1225–1240].
19. Kasai H., Matsumura A., Sugiura T., Shigeta A., Tanabe N., Yamamoto K., Miwa H., Ema R., Sakao S., Tatsumi K. Mean Pulmonary Artery Pressure Using Echocardiography in Chronic Thromboembolic Pulmonary Hypertension // Circ. Journ. 2016. Vol. 80, No 5. P. 1259–1264.
20. Aduen J.F., Castello R., Daniels J.T., Diaz J.A., Safford R.E., Heckman M.G., Crook J.E., Burger C.D. Accuracy and precision of three echocardiographic methods for estimating mean pulmonary artery pressure // Chest. 2016. Vol. 139, No 2. P. 347–352.
21. Friedberg M.K., Feinstein J.A., Rosenthal D.N. A novel echocardiographic Doppler method for estimation of pulmonary arterial pressures // Journ. Amer. Soc. Echocardiogr. 2006. Vol. 19, No 5. P. 559–462.
22. Wang Z., Chesler N.C. Pulmonary vascular mechanics: important contributors to the increased right ventricular afterload of pulmonary hypertension // Exp. Physiol. 2013. Vol. 98, No 8. P. 1267–1273.

23. Кузнецов С.Л., Мушкамбаров Н.Н. Гистология, цитология и эмбриология: учебник для медицинских вузов. М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2007. 723 с. [Kuznetsov S.L., Mushkambarov N.N. Histology, cytology and embryology: textbook for medical universities. Moscow: ООО “Medical informational agency”, 2007. 723 p.]

24. Gao Y., Raj J.U. Role of veins in regulation of pulmonary circulation // Amer. Journ. Physiol. (Lung Cell Mol. Physiol.). 2005. Vol. 288, No 2. P. L213–L226.

25. Peng G., Li S., Hong W., Hu J., Jiang Y., Hu G., Zou Y., Zhou Y., Xu J., Ran P. Chronic Hypoxia Increases Intracellular Ca^{2+} Concentration via Enhanced Ca^{2+} Entry Through Receptor-Operated Ca^{2+} Channels in Pulmonary Venous Smooth Muscle // Cells. Circ. Journ. 2015. Vol. 79, No 9. P. 2058–2068.

26. Зефиоров А.Л., Ситдикова Г.Ф. Ионные каналы возбудимой клетки (структура, функция, патология). Казань: Арт-кафе, 2010. 271 с. [Zefirov A.L., Sitdikova G.F. Ion channels of the excitable cell (the structure, function, pathology). Kazan: Art-cafe, 2010. 271 p.]

27. Zhang Z., Wen Y., Du J., Yu Y., Liu S., Wu X., Zhao H. Effects of mechanical stretch on the functions of BK and L-type Ca^{2+} channels in vascular smooth muscle cells // Journ. Biomech. 2018. Vol. 67, No 1. P. 18–23.

28. Jairaman A., Prakriya M. Molecular pharmacology of store-operated CRAC channels // Channels (Austin). 2013. Vol. 7, No 5. P. 402–414.

29. Wang Q., Wang D., Yan G., Sun L., Tang C. TRPC6 is required for hypoxia-induced basal intracellular calcium concentration elevation, and for the proliferation and migration of rat distal pulmonary venous smooth muscle cells // Mol. Med. Rep. 2016. Vol. 13, No 2. P. 1577–1585.

30. Hussain A., Suleiman M.S., George S.J., Loubani M., Morice A. Hypoxic Pulmonary Vasoconstriction in Humans: Tale or Myth // Open Cardiovasc. Med. Journ. 2017. Vol. 11, No 1. P. 1–13.

31. Salman I.M. Major Autonomic Neuroregulatory Pathways Underlying Short- and Long-Term Control of Cardiovascular Function // Curr. Hypertens. Rep. 2016. Vol. 18, No 3. P. 18–27.

32. Vaillancourt M., Chia P., Sarji S., Nguyen J., Hoftman N., Ruffenach G., Eghbali M., Mahajan A., Umar S. Autonomic nervous system involvement in pulmonary arterial hypertension // Respir Res. 2017. Vol. 18, No 1. P. 201–216.

33. Wojtarowicz A., Podlasz P., Czaja K. Adrenergic and cholinergic innervation of pulmonary tissue in the pig // Folia Morphol. (Warsz.). 2003. Vol. 62, No 3. P. 215–218.

34. Gurnemann T., von Wenckstern H., Kleuser B., Villalyn C.M., Centuriyn D., Jahnichen S., Pertz H.H. Characterization of the postjunctional alpha 2C-adrenoceptor mediating vasoconstriction to UK14304 in porcine pulmonary veins // Br. Journ. of Pharmacol. 2007. Vol. 151, No 2. P. 186–194.

35. Gurnemann T., Villalyn C.M., Centuriyn D., Pertz H.H. Phenylephrine contracts porcine pulmonary veins via alpha(1B)-, alpha(1D)-, and alpha(2)-adrenoceptors // Eur. Journ. Pharmacol. 2009. Vol. 613, No 1–3. P. 86–92.

36. Rieg A.D., Rossaint R., Uhlig S., Martin C. Cardiovascular agents affect the tone of pulmonary arteries and veins in precision-cut lung slices // PLoS One. 2011. Vol. 6, No 12. P. 1–9.

37. Orii R., Sugawara Y., Sawamura S., Yamada Y. M3-muscarinic receptors mediate acetylcholine-induced pulmonary vasodilation in pulmonary hypertension // Biosci. Trends. 2010. Vol. 4, No 5. P. 260–266.

38. Ding X., Murray P.A. Regulation of pulmonary venous tone in response to muscarinic receptor activation // Am. Journ. Physiol. (Lung Cell Mol. Physiol.). 2005. Vol. 288, No 1. P. L131–L140.

39. Walch L., Gascard J.P., Dulmet E., Brink C., Norel X. Evidence for a M(1) muscarinic receptor on the endothelium of human pulmonary veins // Br. Journ. Pharmacol. 2000. Vol. 130, No 1. P. 73–78.

40. Cooke J.P. Imaging Vascular Nicotine Receptors A New Window Onto Vascular Disease // JACC: Cardiovascular imaging. 2012. Vol. 5, No 5. P. 537–539.

41. Li D.J., Huang F., Ni M., Fu H., Zhang L.S., Shen F.M. $\alpha 7$ Nicotinic Acetylcholine Receptor Relieves Angiotensin II-Induced Senescence in Vascular Smooth Muscle Cells by Raising Nicotinamide Adenine Dinucleotide-Dependent SIRT1 // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 2016. Vol. 36, No 8. P. 1566–1476.

42. Toda N., Okamura T. Recent advances in research on nitregeric nerve-mediated vasodilatation // Pflugers Arch. 2015. Vol. 467, No 6. P. 1165–1178.

43. Дворецкий Д.П., Ткаченко Б.И. Гемодинамика в легких. М.: Медицина, 1987. 288 с. [Dvoretzky D.P., Tkachenko B.I. Pulmonary hemodynamics. Moscow: Medicine, 1987. 288 p.]

44. Budhiraja R., Tuder R., Hassoun P. Endothelial dysfunction in pulmonary hypertension // Circulation. 2004. Vol. 109, No 1. P. 159–165.

45. Шайдаков Е.В., Евлахов В.И. Роль эндотелия в патогенезе хронической постэмболической легочной гипертензии // Ангиология и сосудистая хирургия. 2016. Т. 1, No 1. С. 22–26. [Shaidakov E.V., Evlakhov V.I. The role of the endothelium in the pathogenesis of the chronic thromboembolic pulmonary hypertension, Angiology and vascular surgery. 2016. Vol. 1, No 1. pp. 22–26].

46. Galie N., Manes A., Branzi A. The endothelin system in pulmonary arterial hypertension // *Cardiovasc. Res.* 2006. Vol. 61, No 1. P. 227–237.
47. Gao Y., Chen T., Raj J.U. Endothelial and Smooth Muscle Cell Interactions in the Pathobiology of Pulmonary Hypertension // *Am. Journ. Respir. Cell Mol. Biol.* 2016. Vol. 54, No 4. P. 451–460.
48. Fujimoto Y., Urashima T., Kawachi F., Akaike T., Kusakari Y., Ida H., Minamisawa S. Pulmonary hypertension due to left heart disease causes intrapulmonary venous arterialization in rats // *Journ. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2016. Vol. 154, No 5. P. 1742–1753.
49. Kato H., Fu Y.Y., Zhu J., Wang L., Aafaqi S., Rahkonen O., Slorach C., Traister A., Leung C.H., Chiasson D., Mertens L., Benson L., Weisel R.D., Hinz B., Maynes J.T., Coles J.G., Caldarone C.A. Pulmonary vein stenosis and the pathophysiology of "upstream" pulmonary veins // *Journ. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 2014. Vol. 148, No 1. P. 245–253.
50. Hunt J.M., Bethea B., Liu X., Gandjeva A., Mammen P.P., Stacher E., Gandjeva M.R., Parish E., Perez M., Smith L., Graham B.B., Kuebler W.M., Tuder R.M. Pulmonary veins in the normal lung and pulmonary hypertension due to left heart disease // *Am. Journ. Physiol. (Lung Cell Mol. Physiol.)* 2013. Vol. 305, No 3. P. L725–L736.
51. Dorfmueller P., Gønter S., Ghigna M.R., Thomas de Montpréville V., Boulate D., Paul J.F., Jans X., Decante B., Simonneau G., Darteville P., Humbert M., Fadel E., Mercier O. Microvascular disease in chronic thromboembolic pulmonary hypertension: a role for pulmonary veins and systemic vasculature // *Eur. Respir. Journ.* 2014. Vol. 44, No 5. P. 1275–1288.
52. Presson R.G. Jr., Baumgartner W.A. Jr., Peterson A.J., Glennly R.W., Wagner W.W. Jr. Pulmonary capillaries are recruited during pulsatile flow // *Journ. Appl. Physiol.* 2002. Vol. 92, No 3. P. 1183–1190.
53. Поясов И.Э. Функции органных сосудов при пульсирующем кровотоке // *Рос. Физиол. журн. им. И.М. Сеченова.* 2011. Т. 97, No 1. С. 35–46. [Poyassov I.Z. The functions of the organ vessels in the pulsatile flow conditions, *Ros. Fiziol. Journ. named I.M. Setchenov.* 2011. Vol. 97, No 1. pp. 35–46].
54. Dull R.O., Cluff M., Kingston J., Hill D., Chen H., Hoehne S., Malleske D.T., Kaur R. Lung heparin sulfates modulate K_(fc) during increased vascular pressure: evidence for glycocalyx-mediated mechanotransduction // *Am. Journ. Physiol. (Lung Cell Mol. Physiol.)* 2012. Vol. 302, No 9. P. L816–L828.
55. Ketabchi F., Ghofrani H.A., Schermuly R.T., Seeger W., Grimminger F., Egemnazarov B., Shid-Moosavi S.M., Dehghani G.A., Weissmann N., Sommer N. Effects of hypercapnia and NO synthase inhibition in sustained hypoxic pulmonary vasoconstriction // *Respir Res.* 2012. Vol. 31, No 1. P. 7–13.
56. Ketabchi F., Karimi Z., Shid-Moosavi S.M. Sustained Hypoxic Pulmonary Vasoconstriction in the Isolated Perfused Rat Lung: Effect of α_1 -adrenergic Receptor Agonist // *Iran Journ. Med.* 2014. Vol. 39, No 3. P. 277–281.
57. Евлахов В.И., Поясов И.Э., Шайдаков Е.В. Гемодинамика в легких при экспериментальной тромбоэмболии легочной артерии на фоне блокады альфа-адренорецепторов // *Рос. Физиол. журн. им. И.М. Сеченова.* 2016. Т. 102, No 7. С. 815–824. [Evlakhov V.I., Poyassov I.Z., Shaidakov E.V. The pulmonary hemodynamics after experimental pulmonary embolism and the blockade of alpha-adrenoceptors, *Ros. Fiziol. Journ. named I.M. Setchenov.* 2016. Vol. 102, No 7. pp. 815–824].

Поступила в редакцию: 26.04.2018 г.

Контакт: Евлахов Вадим Иванович, viespbu@mail.ru

Сведения об авторах:

Евлахов Вадим Иванович — доктор медицинских наук, заведующий лабораторией системного и регионарного кровообращения отдела физиологии висцеральных систем им. К.М. Быкова ФБГНУ «Институт экспериментальной медицины»; 197376, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, 12; доцент кафедры нормальной физиологии ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8; e-mail: viespbu@mail.ru;

Поясов Илья Залманович — доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории системного и регионарного кровообращения отдела физиологии висцеральных систем им. К.М. Быкова ФБГНУ «Институт экспериментальной медицины»; 197376, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 12; профессор кафедры медицинской радиоэлектроники Санкт-Петербургского государственного университета аэрокосмического приборостроения, Санкт-Петербург, ул. Большая Морская, д. 67; e-mail: ilroar@yandex.ru;

Овсянников Владимир Иванович — доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории адаптивной регуляции висцеральных функций отдела физиологии висцеральных систем им. К.М. Быкова ФБГНУ «Институт экспериментальной медицины»; 197376, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 12; e-mail: vladovs@mail.ru.

УДК 543.51:02.00.03(574:615.3)

ФУЛЛЕРЕНКАРБОНОВЫЕ КИСЛОТЫ И ПЕРСПЕКТИВЫ ИХ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В ХИМИИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ

Е.В. Литасова, Л.Б. Пиотровский

ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

FULLERENECARBOXYLIC ACIDS AND PROSPECTS FOR THEIR USE IN THE CHEMISTRY OF DRUGS

E.V. Litasova, L.B. Piotrovskiy

FSBSI "Institute of Experimental Medicine", St. Peterburg, Russia

© Е.В. Литасова, Л.Б. Пиотровский, 2018 г.

© E.V. Litasova, L.B. Piotrovskiy, 2018.

Среди различных производных фуллеренов заметное место занимают соединения, содержащие карбоксильные группы (карбоксифуллерены), так как введение карбоксильных групп позволяет получать водорастворимые производные высоколипофильных фуллеренов. В обзоре рассмотрены вопросы синтеза и строения карбоксифуллеренов, влияния количества и состава аддендов на растворимость всего соединения, различные аспекты использования этих соединений как самостоятельных биологически активных веществ, так и носителей для создания различных систем доставки.

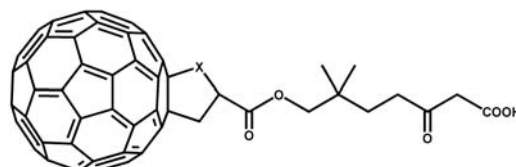
Ключевые слова: фуллерен C_{60} , фуллерен C_{70} , карбоксифуллерены, биологические свойства, системы доставки.

Among the various derivatives of fullerenes, compounds containing carboxyl groups (carboxyfullerenes) occupy a prominent place. The reason is that the introduction of carboxyl groups makes it possible to obtain water-soluble derivatives of highly lipophilic fullerenes. The review deals with matters of synthesis and structure of carboxyfullerenes, the influence of the amount and structure of the addends on the solubility of the entire compound, various aspects of the usage of these compounds as independent biologically active substances and carriers for creation of various delivery systems.

Key words: fullerene C_{60} , fullerene C_{70} , carboxyfullerenes, biological properties, delivery systems.

В любом классе органических соединений исходная структура выполняет лишь роль «скелета», к которому присоединены фармакофорные группы, определяющие собственно направленность и эффективность биологического действия. Однако в случае фуллеренов ситуация несколько иная. Уже первые представители ряда фуллеренов (C_{60} , C_{70} и т.д.) сами обладают достаточно ярко выраженными свойствами, имеющими значение для биологической активности. И поэтому необходимо установить фундаментальные характеристики этих необычных геодезических структур в биологических системах, тем более что даже к ним Природа способна создавать антитела [1]. В то же время высокая липофильность молекул фуллеренов затрудняет изучение биологической активности фуллеренов из-за их нерастворимости в воде и других полярных растворителях [1]. Один из путей увеличения растворимости — введение в исходную молекулу полярных ионогенных групп,

поэтому подавляющее большинство известных биологически активных производных фуллерена представляют собой карбоновые кислоты, хотя встречаются и другие классы органических соединений [1]. Карбоксильные группы содержались уже в первом «биологически активном» фуллерене — фотодинамическом агенте (**Ia**) [2, 3].



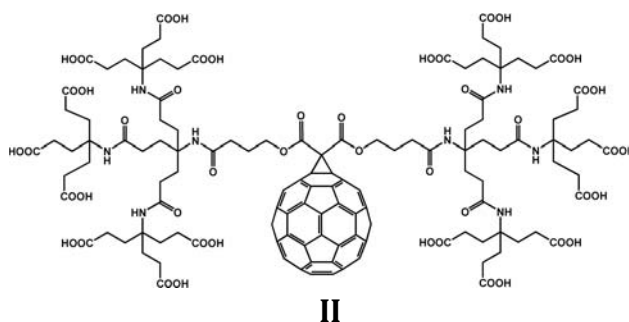
I (a $X=CH_2$; b $X=^{14}CH_2$)

Необходимо отметить, что в химии фуллеренов химики не всегда могут установить однозначно строение исследуемых соединений (а иногда, к сожалению, и не утруждают себя этим, считая, что метод синтеза уже служит доказательством стро-

ения). Например, были описаны водорастворимые монофункционализованные производные фуллерена C_{60} с аминокислотами, получаемые прямым взаимодействием с аминокислотами в щелочной среде. Этим водорастворимым производным фуллеренов посвящено много работ, хотя структура их не была точно установлена [4]. При этом хорошо известно, что моноаддукты фуллерена, содержащие небольшие по размеру заместители, содержащие в лучшем случае две ионогенные группы, не растворимы в воде [5]. А для приемлемой растворимости соединений в воде без использования сурфактантов необходимо наличие в молекуле минимум трех заряженных аддендов [6].

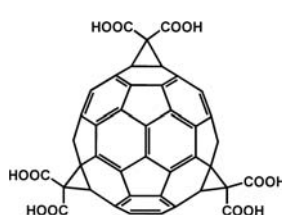
Получение моноаддуктов фуллерена C_{60} — задача совсем непростая [7]. Уже первый адденд нарушает единую π -электронную систему молекулы. Вся система становится более реакционной способной, в ней возникают сразу несколько новых реакционных центров, поэтому реакции трудно остановить на стадии моноаддукта, почти всегда образуется смесь моно-, ди- и более функционализированных производных. В дополнение к этому каждый полифункционализированный продукт может быть представлен несколькими региоизомерами [8]. Каждое из этих соединений необходимо выделить в чистом виде и охарактеризовать не только с точки зрения состава, но и стереохимически. Это более или менее удается в случае продуктов, полученных по реакциям Бингеля [9], Прато [10] и им подобных.

Особо сложная ситуация возникает при синтезе гидроксилсодержащих фуллеренов (фуллеренолов) в щелочной среде [11]. Это впервые отметила L. Dugan при изучении их действия на ЦНС, а именно что при одном и том же методе получения образцы фуллеренолов различаются как по растворимости в воде, так и по биологическим эффектам, что, вероятно, связано с неконтролируемыми при синтезе числом и количеством включающихся в кор C_{60} гидроксильных и гемикетальных остатков [12]. По данной причине эта группа перешла к работе с малонатными производными C_{60} , получаемыми по реакции Бингеля. Эта реакция, как уже указывалось выше, протекает достаточно специфично и приводит к хорошо характеризваемым продуктам [9]. Немаловажно и то, что в результате реакции Бингеля в фуллереновый кор вводятся заместители относительно небольшого размера. Тем самым появляется возможность оценивать вклад свойств самого кора, а не облака заместителей, практически блокирующих к нему доступ, как это, например, имеет место в дендримерном аддукте (II) [13].

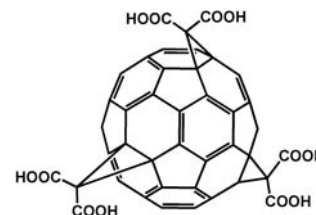


II

По этой реакции были получены соединения состава $(C_{63}((COOH)_2)_3)$, которые существуют в виде двух региоизомеров с симметрией $D3$ (III) и $C3$ (IV). Уже в первых работах было показано, что как в опытах *in vitro*, так и *in vivo* они проявляют свойства эффективных антиоксидантов-нейропротекторов [12].



III



IV

Существенным преимуществом этих соединений является относительно небольшое число заместителей, их размер и однозначность стерического строения. При этом остаются относительно сохранными основные биологические свойства самого незамещенного фуллерена, что позволяет оценивать их влияние на биологическую активность [1]. Именно поэтому трискарбоксивуллерены $C3$ и $D3$ широко используются в качестве фармакологических зондов для выяснения механизмов различных биологических эффектов.

В изомере $D3$ заместители расположены по экватору кора, тогда как в изомере $C3$ они расположены на одной полусфере. Эти отличия в положении заместителей на поверхности фуллеренового кора приводят к существенным различиям в их свойствах. Изомер $D3$ не имеет дипольного момента и в целом гидрофилен, тогда как изомер $C3$ имеет дипольный момент и представляет собой амфипатическое соединение, т.е. соединение, в молекуле которого существуют гидрофильная и липофильная области.

Различия в строении изомеров $C3$ и $D3$ выражаются в резких отличиях при их взаимодействии с биологическими мембранами [12]. Оказалось, что в культуре клеток изомер $C3$ более активен, так как амфифильный характер молекулы позволяет ей лучше проникать в биологические мембраны. Это хорошо видно из данных по противовирусному действию. Карбоксивуллерен $C3$ в концентрации 10 мкМ ингибирует вирус Dengue-2 при освещении, т.е. по фото-

химическому механизму, включающему в себя образование синглетного кислорода или других активных форм кислорода (АФК). Однако практически полное подавление репликации вируса наблюдается при концентрации 40 мкМ этого соединения даже в полной темноте [14]. Было предположено, что инактивация вируса Dengue-2 по светонезависимому механизму происходит через подавление стадии абсорбции вируса в результате гидрофобного взаимодействия **C3** с липидной оболочкой вируса. Для проверки было проведено сравнительное исследование противовирусной активности обоих изомеров — **C3** и **D3**. Оказалось, что более липофильный изомер **C3** в темноте значительно более активен, нежели изомер **D3**. Подавление изомером **C3** репликации преимущественно оболочечных вирусов свидетельствует о том, что светонезависимый механизм противовирусного действия связан с его воздействием на мембрану. Также было обнаружено, что **C3** эффективно ингибирует оболочечные вирусы Dengue-2 и вирус японского энцефалита (JEV) и не активен против двух безоболочечных вирусов (энтеровируса 71 (EV71) и вируса коксаки В3), что подтверждает вывод о том, что для инактивации вируса фуллерен должен связаться с его липидной оболочкой [14].

Как уже было отмечено, широкие исследования биологических свойств карбоксифуллеренов начались с исследований L. Dugan [12]. В первом приближении можно сказать, что уже в этой работе были установлены все основные эффекты **C3** и **D3** изомеров. Оказалось, что оба изомера **C3** и **D3** в растворе представляют собой, по данным ЭПР, эффективные ловушки для гидроксил-радикала $\text{OH}\cdot$ и супероксиданион-радикала $\text{O}_2^{\cdot-}$.

В опытах *in vitro* они предотвращали гибель нейронов, вызванную агонистами глутаматных рецепторов NMDA и AMPA (показательность этой модели обусловлена тем, что при гибели нейронов, вызванной гиперстимуляцией глутаматных рецепторов, основными повреждающими факторами являются различные АФК и оксид азота). При этом изомер **C3** оказался по эффективности сравним с антагонистами NMDA рецепторов (не проявляя при этом NMDA-антагонистических свойств). Он снижал и гибель нейронов в результате апоптоза [12].

В работе [15] описано действие фуллерена **C3** на ишемические поражения, вызванные проходящей фокальной реперфузией. Хотя никакого протективного действия на кору мозга после внутривенного введения не было обнаружено, введение **C3** в боковые желудочки мозга не только снижало поражения коры, но и предупреждало повышение уровня перекисного окисления липидов. Эти данные позволяют утверждать, что фуллерен **C3** может устранять окислительные поражения, вызванные реперфузионной ишемией [15].

Защитное действие **C3**, связанное с уменьшением окислительного стресса, показано *in vitro* на гранулярных клетках мозжечка на модели гибели нейронов от апоптоза в результате изменения концентрации K^+ с 25 до 5 мкМ [16]. В результате снижения концентрации K^+ нарушаются дыхательные функции митохондрий, происходит перестройка хроматина и фрагментация ДНК до апоптотических олигонуклеосом. Все эти процессы дозозависимо ингибируются **C3**, причем одновременно происходит существенное снижение мембранных и цитоплазматических пероксидов и других АФК. Это еще раз показывает, что механизм действия **C3** связан с его антиоксидантными свойствами.

При исследовании способности карбоксифуллеренов подавлять цитотоксичность акрилаида, было показано, что **C3** снижает уровень лактат дегидрогеназы и повышает выживаемость клеток SH-SY5Y. Цитотоксичность акрилаида тесно связана с уровнем глутатиона, а карбоксифуллерен **C3** подавляет токсичность, повышая этот уровень. Его действие является избирательным, так как различные другие поликислоты, не содержащие остаток фуллерена (именно малоновая кислота и 1,1-циклопропандикарбонат), и гидроксильированный фуллерен $\text{C}_{60}(\text{OH})_{24}$ подобным действием не обладают [17].

На модели ишемии мозга, вызванной окклюзией средней артерии, также показано, что **C3** обладает нейропротективным действием и в дозе 40 мг/кг на 75% снижает поражение мозга мышцей. Эффект дозо- и время-зависим, а существенное ингибирование проявляется и через 6 ч после окклюзии [18].

Трискарбоксифуллерены **C3** и **D3** способны предотвращать вызванные как MPP(+), (1-метил-4-фенилпиридиний), так и 6-гидроксидофамином дегенерации мезэнцефалических дофаминергических нейронов [19]. В экспериментах на приматах показано, что **C3** является перспективным соединением для разработки препаратов против болезни Паркинсона. При этом указывается, что за два месяца введения это соединение не проявило видимых токсических эффектов [20].

Карбоксифуллерены **C3** и **D3** могут найти применение и в исследованиях, связанных с проблемами нейродегенеративных поражений, например, болезни Альцгеймера [21]. Болезнь Альцгеймера, согласно гипотезе амилоидного каскада, связана с накоплением и олигомеризацией амилоидного пептида А β как начальной стадии болезни Альцгеймера [22]. И неоднократно показано, что роль фуллеренов как таковых, так и карбоксифуллеренов, во влиянии на развитие и патогенез фи-

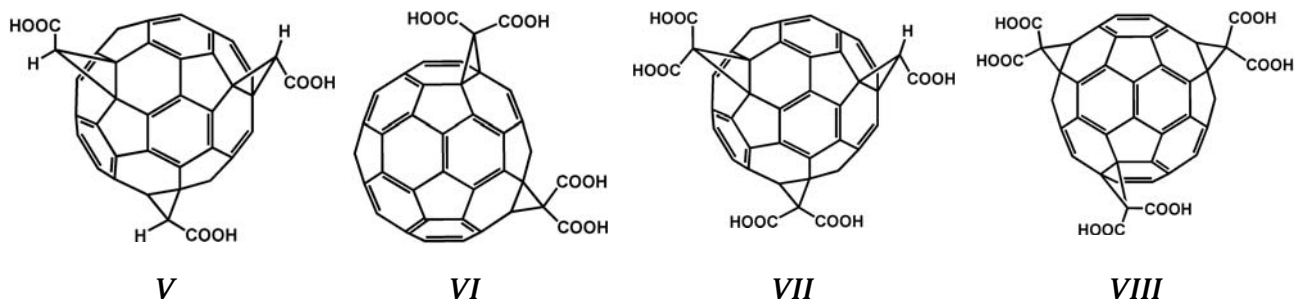
бриллизации амилоидов, достаточно заметна. На сегодняшний день рассматриваются несколько молекулярных терапевтических подходов к лечению болезни Альцгеймера, в том числе ингибирование образования пептида $A\beta$ и его олигомеризации [22]. Кроме того, важная роль отводится дизайну препаратов, способных проявлять нейропротективное и антиамилоидное действия, оказывая тем самым как профилактический, так и терапевтический эффект при нейродегенеративных заболеваниях типа болезни Альцгеймера [21].

Окислительный стресс и вызванная амилоидом токсичность являются двумя основными процессами в патогенезе болезни Альцгеймера и, соответственно, также основными мишенями для создания терапевтических агентов [23].

Среди прочих других свойств карбоксифуллеренов есть одно интересное — они сами могут выступать в роли ферментов, проявляя, в частности, свойства супероксиддисмутазы [24]. Карбоксифуллерен **C3** увеличивает выживаемость *Sod2*^{-/-} мышей, у которых отсутствует марганецзависимая супероксиддисмутаза, но при этом **C3** способствует большей выживаемости женских особей [25]. Хроническое введение **C3**, в качестве антиоксидантной

терапии мышам, в дозе 10 мг/кг в течение нескольких месяцев улучшает их когнитивные способности [26]. Как миметик супероксиддисмутазы, **C3** блокирует вызываемое кетамином у мышей стойкое повышение концентрации супероксида в мозге [27]. Реакция между **C3** и супероксиданион-радикалом не подчиняется, как ожидалось, правилам «стехиометрической ловушки» — в действительности происходит дисмутация этого радикала, так как не происходит структурных изменений самого **C3**, кислород регенерируется, образуется перекись водорода, отсутствуют парамагнитные продукты. Все это свидетельствует о каталитическом, ферментоподобном механизме действия. Предполагается, что электроно-дефицитные участки фуллеренового кора и связанные с ним остатки малоновой кислоты силами электростатического взаимодействия притягивают к себе супероксиданион-радикал, ускоряя тем самым его дисмутацию. При этом именно кристаллические агрегаты, содержащие $\sim 10^4$ – 10^5 молекул **C3**, превращают супероксид-анион в кислород и пероксид водорода.

Другие примеры, когда на основе фуллеренов могут быть созданы вещества, обладающие свойствами ферментов [28].



В работе [29] исследовалась связь структуры с СОД-миметической активностью шести производных фуллерена C_{60} , отличающихся числом и расположением карбоксильных групп — соединения **C3lite (V)**, **bisE (VI)**, **P2 (VII)** и **E (VIII)**. К этим соединениям необходимо добавить еще трикарбоксифуллерены **C3 (IV)** и **D3 (III)**. Из этого набора соединений можно составить два ряда — в первом увеличивается число групп $COOH$ от трех до шести в ряду **C3lite < bisE < P2 < E, C3, D3**, во втором — различается расположение фиксированного числа шести групп $COOH$ на поверхности кора: **C3, E** и **D3**. Основной моделью для оценки отношения структура-активность между реакционной способностью по отношению к супероксиду и защите нейронов была выбрана нейротоксичность, вызываемая NMDA и включающая в себя образование внутриклеточного супероксида. Наблюдалась значительная корреляция между нейропротективным действием и

способностью этих соединений взаимодействовать с супероксидным радикалом. Компьютерное моделирование показало, что реакционная способность по отношению к супероксиду чувствительна к изменениям дипольных моментов, зависящим от числа карбоксильных групп и их распределением на коре. То есть по оценке способности взаимодействовать с супероксид-радикалом можно предсказывать их нейропротективное действие [29].

Так как карбоксифуллерены являются миметиками пероксидазы, их предложено использовать в диагностикумах, например, для создания колориметрических сенсоров для количественного определения глюкозы [30].

В то же время показано, что основную роль в проявлении биологических свойств фуллеренов может играть степень агрегации частиц [31]. Исследования по влиянию различных производных фуллерена C_{60} , а именно комплекса C_{60} с циклодекстрином, гексааддукта $C_{60}[C(CO_2H)_2]_6$ (сим-

метрии T_H) и трис-аддукта **C3** на внутриклеточный окислительный стресс, некроз и апоптоз в моноцитах клеток ТНР-1 человека показали, что наличие карбоксильных групп является фактором, снижающим степень индукции апоптоза, а на окислительно-восстановительные функции больше влияет степень агрегированности [31].

О важности этого вывода свидетельствует и то, что, хотя и считалось, что трисмалонат **C3** в водных растворах существует в виде отдельных молекул, в действительности это не так. Способность молекул **C3** к агрегации в зависимости от концентрации, температуры и значений рН была изучена методом динамического светорассеяния. Оказалось, что в физиологических условиях **C3** образует полидисперсные агрегаты, размеры которых не сильно варьируются при изменениях концентрации или температуры, но имеют тенденцию к увеличению при низких значениях рН, причем за нейропротективное действие **C3** в клетках ответственны агрегаты размером 40–80 нм, а не индивидуальные молекулы. Данные электронной микроскопии показывают, что образуются гомогенно распределенные сферические и эллипсоидальные кластеры кристаллической природы размером 40–80 нм, содержащие от $\sim 6 \times 10^4$ до $\sim 5 \times 10^5$ молекул **C3** [31].

Интересно сравнить эффекты двух производных фуллерена — упомянутого выше трискарбоксифуллерена **C3** и дендримерного моноаддукта **II** [13]. По мнению авторов, значительные различия в их взаимодействии с мембранами вызваны отличиями в строении этих соединений. В обычных условиях, без влияния освещения, только дендример **II** заметно ингибировал рост клеток, т.е. обладал прямой цитотоксичностью. Однако фотоцитотоксичность изомера **C3** оказалась выше, нежели фотоцитотоксичность дендримера **II**, хотя у последнего квантовый выход синглетного кислорода выше. В дендримере **II** кор сильно экранирован заместителем, поэтому у образующегося синглетного кислорода не так уж много возможностей провзаимодействовать с какой-либо биологической структурой или молекулой. И поэтому при создании биологически активных веществ на основе фуллеренов следует четко представлять, как желательнее использовать сам кор — как источник биологической активности или же просто как скелет молекулы. В частности, у дендримера **II** в качестве основного фактора, определяющего его биологический эффект, выступают его мембранотропные свойства.

Способность производных фуллерена генерировать синглетный кислород определяется, как уже указывалось выше, не только типом и чис-

лом заместителей, но и склонностью их молекул к агрегации. Однако прямая экстраполяция данных фотофизических измерений на биологическую активность этих соединений не всегда правомочна, так как на биологическую активность функционализированных фуллеренов влияют как химические (строение поверхности, сродство к электрону), так и физические (в частности, степень агрегации) свойства [32]. Более того, проблема изучения биологической активности фуллеренов, в том числе и относительной токсичности фуллерена и его производных достаточно сложна, и из-за сложностей интерпретации и экстраполяции данных *in vitro* в опыты *in vivo* [33].

В работах группы исследователей из ИТЭБ РАН показаны и другие возможности применения фуллеренов для терапии амилоидогенезов. Так, нано**C60** *in vitro* и *in vivo* вызывает разрушение фибрилл, образованных фрагментом A β 25–35 [34].

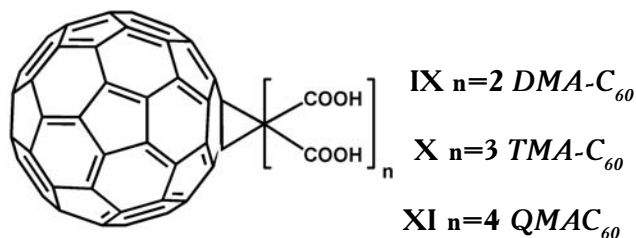
Среди других малонатных производных фуллерена C_{60} достаточное количество работ посвящено дималонатным производным. Так, было показано, что одно из дималонатных производных фуллерена C_{60} , а именно *trans-2* $C_{60}(C(COOH)_2)_2$, стабилизирует лизосомы [35] и ингибирует апоптоз, вызываемый фактором некроза опухоли [36]. Наноразмерные агрегаты производного фуллерена эндоцитируют в клетку и накапливаются в лизосомах. При интернационализации *trans-2* изомера существенно возрастает экспрессия белка Hsp 70, что способствует выживанию клеток в результате понижения проницаемости мембран. В дополнение к этому кислая среда внутри лизосом оказывает выраженный, но временный эффект на распределение частиц по размерам вплоть до диспергирования $C_{60}(C(COOH)_2)_2$ до индивидуальных молекул.

Наряду с карбоксифуллеренами C_{60} известны и карбоксифуллерены C_{70} . Один из них, $C_{70}(C(COOH)_2)_{2-4}$, получен взаимодействием фуллерена C_{70} с диэтилмалонатом в присутствии 1,8-диазобисцикло[5,4,0]ундецен-7-ена с последующим гидролизом эфирных групп [37]. По данным масс-спектров полученный продукт содержит 4–8 эфирных групп на один остаток фуллерена. В культуральной среде этот карбоксифуллерен обладает отрицательным потенциалом и имеет тенденцию к образованию агрегатов размером 100–200 нм. Его адсорбция *Nicotiana tabacum L. cv. Bright Yellow* приводила к разрушению клеточной стенки и мембран и ингибированию роста. На основании данных атомносиловой конфокальной микроскопии авторы сделали вывод, что этот эффект связан с время- и дозо-зависимым уве-

личением в стенке клетки гликозильных остатков и сопровождается повышением уровня активных форм кислорода [38].

Однако особое место в химии и биологии фуллеренов занимает их взаимодействие с белками, так как именно оно может определять многие биологические эффекты. Прямое образование комплексов белков и фуллеренов, в частности с карбоксифуллереном C_{60} , показано в работе [39]. Докинг самого фуллерена и карбоксифуллерена C_{60} с четырьмя белками (протеаза вируса ВИЧ, фуллерен-специфических антител, сывороточный альбумин человека и бычий сывороточный альбумин) посвящена работа [40].

Исследованиям связи структуры производных фуллеренов с биологическим действием посвящено относительно немного работ. Именно поэтому следует отметить работу [41], в которой исследовалась фотоиндуцированная цитотоксичность ряда карбоксифуллеренов: дималоновой кислоты C_{60} ($DMA-C_{60}$) (IX), трималоновой кислоты C_{60} ($TMA-C_{60}$) (X) и квадромалоновой кислоты C_{60} ($QMA-C_{60}$) (XI):



В культуре клеток *HeLa* в концентрации 40 мкМ все они проявляют фотоиндуцированную цитотоксичность, уменьшающуюся с увеличением числа остатков малоновой кислоты, присоединенных к молекуле фуллерена, тогда как в отсутствие освещения никаких эффектов не наблюдалось. $DMA-C_{60}$ проявила цитотоксическое действие на клетки *HeLa* уже в концентрации 32 мкМ, которое усиливалось с увеличением концентрации. Было отмечено, что в результате фотоиндуцированного воздействия $DMA-C_{60}$ происходит серьезное повреждение клеток. В отсутствие освещения цитотоксический эффект не наблюдался даже в концентрации 60 мкМ.

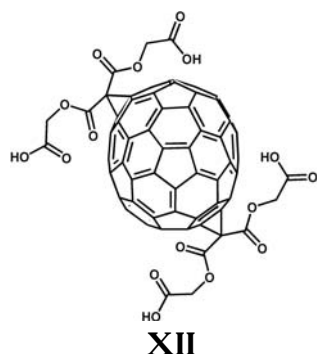
По способности к фотоиндуцированному ингибированию клеток три карбоксифуллерена можно расположить в следующем ряду: $DMA-C_{60}$ (63%) > $TMA-C_{60}$ (55%) > $QMA-C_{60}$ (31%). Этот факт опять-таки свидетельствует о том, что увеличение числа групп, присоединенных к фуллереновому кору, снижает способность соединений выступать в роли фотосенситизаторов. Однако ценность этой работы значительно снижена тем,

что в ней не приводится точная стереохимия исследованных соединений.

Хорошо известно, что фуллерен C_{70} является более сильным сенситизатором, нежели фуллерен C_{60} [1]. Это же относится и к его производным. При изучении эффективности действия различных водорастворимых карбоксифуллеренов как фотосенситизаторов было использовано шесть соединений: дималонаты C_{60} и C_{70} (DFs), трималонаты C_{60} и C_{70} (TFs), и квадромалонаты C_{60} и C_{70} (QFs). Оценка проводилась по их фотодинамическому действию на клетки *HeLa* [42]. Оказалось, что из шести карбоксифуллеренов наиболее эффективным оказался $TF70$, а общий ряд по способности вызывать фотодинамическое повреждение выглядит следующим образом: $TF70 > DF70 > QF70 > TF60 \approx DF60 > QF60$. Оказалось, что $TF70$ в клетках *HeLa* фагоцитирует в виде маленьких кластеров, накапливающихся преимущественно в эндосомо-подобных органеллах. Наблюдаемый в этих исследованиях высокий фотодинамический эффект связан, вероятно, с кислотностью окружающей среды в этих органеллах (например, лизосомах), способствующей дезагрегации наночастиц вплоть до отдельных молекул.

С использованием этих же соединений ($DF60$, $TF60$, $QF60$, $DF70$, $TF70$, и $QF70$) было проведено изучение влияния структурных эффектов на цитопротективное действие карбоксифуллеренов на клетках *C2C12* [43]. Прямые измерения размеров частиц трех карбоксифуллеренов C_{70} динамическим светорассеянием при концентрации 2,5 мкМ в культуральной среде показали, что $TF70$ образует частицы с гидродинамическим диаметром около 52 нм, т.е. меньше, чем $DF70$ и $QF70$. Следовательно, выраженный «размерный эффект» для $TF70$ может способствовать образованию АФК и ускорять фотоиндуцируемую гибель клеток (по сравнению с $DF70$ и $QF70$). Эти данные, конечно, очень интересны, однако, как уже отмечалось выше, нам неизвестна ни точная структура этих соединений, ни даже их индивидуальность, т.е. смесь это региоизомеров или нет.

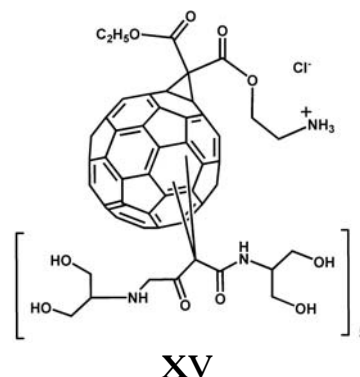
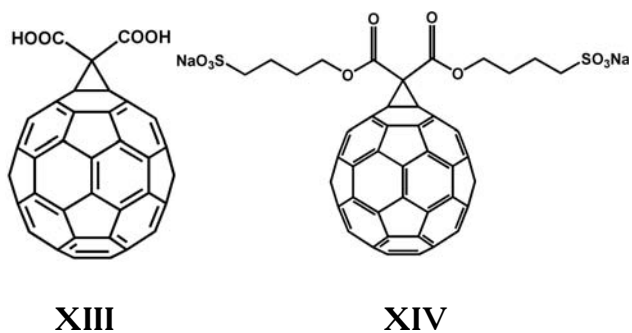
Однако есть и другие примеры. Так, на примере карбоксипроизводного фуллерена C_{70} (XII) [44] показано, что его интраназальное введение значительно уменьшает воспаление дыхательных путей, стимулируя образование в легких противовоспалительных метаболитов эйкозаноидов P-450 [45]. По мнению авторов, эти свойства карбоксифуллерена XII позволяют предлагать его для использования при разработке препаратов против астмы.



Многообещающее применение мембранотропных свойств фуллеренов для переноса различных веществ через мембрану открывают работы [46]. Было высказано предположение, что взаимодействие с противоионами, образование достаточно прочных комплексов может объяснить некоторые «загадочные» функции аргинин-богатых пептидов и белков (cell penetrating peptides, CPP) в мембранах.

Например, проникновение полиаргининов через двухслойную мембрану может объясняться неоднократным изменением их растворимости в результате замены противоиона, что позволяет им адаптироваться к среде [47]. Следовательно, CPP являются переносчиками ионов, проникновение которых через двухслойную мембрану может регулироваться амфифильными анионами [48]. В последнем случае комплекс CPP с гидрофильным анионом Z превращается в результате обмена гидрофильного аниона Z на амфифильный Y в комплекс $CPP(Z)_m(Y)_n$. Такой обмен приводит к повышению общей липофильности комплекса, в результате чего он может проникать в липидный слой сферической двухслойной мембраны и высвобождать CPP во внутреннее пространство липосомы [46]. В качестве амфифильных ионов, успешно переносящих через липидный бислой аргинин-богатые пептиды, могут использоваться анионы карбоновых кислот, содержащих остатки коронена, пирена, каликс[4]арена и фуллерена, в частности соединения XIII и XIV. Этот «активирующий» эффект противоионов наблюдается как в модельных везикулярных системах, так и на живых клетках и может быть использован для переноса через мембрану заряженных гидрофобных молекул (не только белков, но и олигонуклеотидов). Специально синтезу водорастворимых аддуктов фуллерена C_{60} , преимущественно карбоксипроизводных, для использования в качестве носителей при доставке генов посвящена работа [49].

В качестве водорастворимого неионного и нетоксичного нановектора для доставки различных веществ через биологические барьеры предложено производное фуллерена C_{60} (XV) [50].



На основе производных фуллерена возможно создание систем доставки через гематоэнцефалический барьер [51]. Авторами проведены исследования *in vivo* комплексов аддуктов фуллерена C_{60} с гексаметонием на двух моделях: «никотиновые судороги» и «двигательная активность». В первом случае комплекс снимал вызванные никотином судороги, а во втором снижал двигательную активность после введения никотина. Таким образом, показано усиление действия гексаметония на ЦНС в составе комплекса с производными фуллерена, содержащими остатки 6-аминогексановой кислоты.

Известны, правда, относительно в малом количестве, и «эндометаллокарбоксифуллерен»¹. С помощью карбоксифуллерена из ряда эндометаллофуллеренов $Gd@C_{60}[C(COOH)_2]_{10}$ было проведено изучение распределения *in vivo* и показано, что оно быстро оказывается в почках, причем его накопление в печени значительно меньше [52]. В этой же работе показано, что склонность к агрегации полигидроксилированных производных эндоэдральных гадолиний-содержащих фуллеренов $Gd@C_{60}(OH)_x$ и $Gd@C_{60}[C(COOH)_2]_{10}$ и величины релаксации протонов в них зависят от величины pH, что делает эти соединения первыми кандидатами на роль pH-чувствительных контрастирующих препаратов для магнитно-резонансных исследований.

¹ Для обозначения эндоэдральных фуллеренов используется формула $M_m@C_n$, где M — инкапсулированный атом или молекула, а нижние индексы m и n указывают на число таких атомов (или молекул) и атомов углерода в молекуле фуллерена соответственно.

Карбоксифуллерены являются первыми углеродными наноматериалами, для которых было исследовано биораспределение и показано, что возможно их проникновение в мозг *in vivo*. Для этого был синтезирован меченый ^{14}C -карбоксифуллерен (**Ib**) [3]. При пероральном введении, фуллерен (**Ib**) очень плохо абсорбируется, в печени и других органах наблюдаются только следы метки. Почти вся радиоактивность (до 97%) выводится с фекалиями через 48 часов. Однако при внутривенном введении через 160 ч выводится только около 5% радиоактивности. Исследования биораспределения после внутривенного введения показали, что метка быстро достигает различных органов, включая мозг. Это указывает на способность (**Ib**) проникать через гематоэнцефалический барьер.

Высокая липофильность фуллерена (**Ib**) приводит к медленной экскреции и его накоплению в определенных органах.

Таким образом, все приведенные выше данные указывают на широкое использование производных фуллеренов, содержащих карбоксильные группы, в биологических исследованиях. Имеющиеся данные, полученные на различных моделях патологических состояний, позволяют, в частности, предполагать, что антиоксиданты на основе фуллерена могут быть использованы в будущем в практике, в том числе и как нейропротекторы и при различных нейродегенеративных расстройствах. Следует особо подчеркнуть, что именно карбоксифуллерены представляют собой удобные и важные модели для исследования медико-биологических свойств фуллеренов.

Литература

1. Пиотровский Л.Б., Киселев О.И. Фуллерены в биологии. СПб.: Росток, 2006. 334 с. [Piotrovskiy L.B., Kiselev O.I. Fullerene in biology. St. Petersburg: Rostok, 2006. 334 p.]
2. Tokuyama H., Yamago S., Nakamura E., Shiraki T., Sugiura Y. Photoinduced biochemical activity of fullerene carbocyclic acid // J. Am. Chem. Soc. 1993. Vol. 115. P. 7918–7919.
3. Yamago S., Tokuyama H., Nakamura E., Kikuchi K., Kananishi S., Sueki K., Nakahara H., Enomoto S., Ambe F. In vivo biological behavior of a watermiscible fullerene: ^{14}C labeling, absorption, distribution, excretion and acute toxicity // Chem. Biol. 1995. Vol. 2. P. 385–389.
4. Станкевич И.В., Соколов В.И. Успехи химии фуллерена // Изв. АН. Сер. хим. 2004. No 9. С. 17491770. [Stankevich I.V., Sokolov V.I. Advances in fullerene chemistry, Russian Chem. Bull. 2004. Vol. 53 (9). P. 18241845.]
5. Beuerle F., Witte P., Hartnagel U., Lebovitz R., Parnig C., Hirsch A. Cytoprotective activities of watersoluble fullerenes in zebrafish models // J. Exper. Nanosci. 2007. Vol. 2. P. 147170.
6. Witte P., Beuerle F., Hartnagel U., Lebovitz R., Savouchkina A., Sali S., Guldi D., Chronakis N., Hirsch A. Water solubility, antioxidant activity and cytochrome C binding of four families of exohedral adducts of C_{60} and C_{70} // Org. Biomol. Chem. 2007. Vol. 5. P. 3599–3613. doi: 10.1039/B711912g.
7. Nikolaev D.N., Klimenicheva Yu.S., Davidovich P.B., Piotrovskii L.B. The use of solid phase synthesis for the preparation of monoadducts of fullerene C_{60} // Russian Chem. Bull., Internat. Ed. 2012. Vol. 61, No 4. P. 853–857.
8. Hirsch A., Lamparth I., Karfunkel H. Fullerene chemistry in three dimensions: isolation of seven regioisomeric bisadducts and chiral trisadducts of C_{60} and di(ethoxycarbonyl)methylene // Angew. Chem., Int. Ed. 1994. Vol. 33. P. 437–438.
9. Bingel C. Cyclopropanierung von Fullerenen // Chem. Ber. 1993. Vol. 126. P. 1957–1959.
10. Maggini M., Scorrano G., Prato M. Addition of azomethine ylides to C_{60} : synthesis, characterization, and functionalization of fullerene pyrrolidines // J. Am. Chem. Soc. 1993. Vol. 115, No 21. P. 9798–9799.
11. Li J., Takeuchi A., Ozawa M., Li X., Saigo K., Kitazawa K. C_{60} fullerol formation catalysed by quaternary ammonium hydroxides // J. Chem. Soc., Chem. Commun. 1993. P. 1784–1785.
12. Dugan L.L., Turetsky D.M., Du C., Lobner D., Wheeler M., Almlı C.R., Shen C.K.F., Luh T., Choi D.W., Lin T. Carboxyfullerenes as neuroprotective agents // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1997. Vol. 94. P. 9434–9439.
13. Rancan F., Rosan S., Boehm F., Cantrell A., Brellreich M., Schoenberger H., Hirsch A., Moussa F. Cytotoxicity and photocytotoxicity of a dendritic C_{60} monoadduct and a malonic acid C_{60} trisadduct on Jurkat cells // J. Photochem. Photobiol. B. Biol. 2002. Vol. 67. P. 157–162.
14. Lin Y., Lei H., Luh T., Chou C., Liu H. Lightindependent inactivation of dengue2 virus by carboxyfullerene C3 isomer // Virology. 2000. Vol. 275. P. 258–262.
15. Lin A., Fang S., Lin S., Chou C., Luh T., Ho L. Local carboxyfullerene protects cortical infarction in rat brain // Neurosci. Res. 2002. Vol. 43. P. 317321.

16. *Bisaglia M., Natalini B., Pellicciari R., Straface E., Malorni W., Monti D., Franceschi C., Schettini G.* C₃fullerotrismethanodicarboxylic acid protects cerebellar granule cells from apoptosis // *J. Neurochem.* 2000. Vol. 74. P. 1197–1204.
17. *Sumizawa T., Igisu H.* Suppression of acrylamide toxicity by carboxyfullerene in human neuroblastoma cells in vitro // *Arch. Toxicol.* 2009. Vol. 83. P. 817–824.
18. *Wang Y.H., Lee E.J., Wu C.M., Luh T.Y., Chou C.K., Lei H.Y.* Inhibition of middle cerebral artery occlusion-induced focal cerebral ischemia by carboxyfullerene // *J. Drug Del. Sci. Tech.* 2004. Vol. 14. P. 45–49.
19. *Dugan L.L., Lovett E.G., Quick K.L., Lotharius J., Lin T.T., O'Malley K.L.* Fullerene-based antioxidants and neurodegenerative disorders // *Parkinsonism Relat. Disord.* 2001. Vol. 7. P. 243–246.
20. *Dugan L.L., Tian L., Quick K.L., Hardt J.I., Karimi M., Brown C., Loftin S., Flores H., Moerlein S.M., Polich J., Tabbal S.D., Mink J.W., Perlmutter J.S.* Carboxyfullerene neuroprotection postinjury in parkinsonian nonhuman primates // *Ann. Neurol.* 2014. Vol. 76. P. 393–402.
21. *Nazem A., Mansoori G.A.* Nanotechnology solutions for Alzheimer's disease: advances in research tools, diagnostic methods and therapeutic agents // *J. Alzheim. Disease.* 2008. Vol. 13. P. 199–223.
22. *Hardy J.* Toward Alzheimer therapies based on genetic knowledge // *Annu. Rev. Med.* 2004. Vol. 55. P. 15–25.
23. *Zimmermann M., Gardoni F., Di Luca M.* Molecular rationale for the pharmacological treatment of Alzheimer's disease // *Drugs Aging.* 2005. Vol. 22, Suppl. 1. P. 27–37.
24. *Ali S., Hardt J., Quick K., Kim Han J., Erlanger B., Huang T., Epstein C., Dugan L.* A biologically effective fullerene (C₆₀) derivative with superoxide dismutase mimetic properties // *Free Rad. Biol. Med.* 2004. Vol. 37, No 8. P. 1191–1202.
25. *Ali S.S., Xiong C., Lucero J., Behrens M.M., Dugan L.L., Quick K.L.* Gender differences in free radical homeostasis during aging: shorter-lived female C57BL6 mice have increased oxidative stress // *Aging Cell.* 2006. Vol. 5, No 6. P. 565–574.
26. *Quick K.L., Ali S.S., Arch R., Xiong C., Wozniak D., Dugan L.L.* A carboxyfullerene SOD mimetic improves cognition and extends the lifespan of mice // *Neurobiol Aging.* 2008. Vol. 29, No 1. P. 117–128.
27. *Behrens M.M., Ali S.S., Dao D.N., Lucero J., Shekhtman G., Quick K.L., Dugan L.L.* Ketamine-induced loss of phenotype of fastspiking interneurons is mediated by NADPH oxidase // *Science.* 2007. Vol. 318, No 5856. P. 1645–1647.
28. *Karakoti A., Singh S., Dowding J.M., Seal S., Self W.T.* Redoxactive radical scavenging nanomaterials // *Chem. Soc. Rev.* 2010. Vol. 39. P. 4422–4432.
29. *Ali S.S., Hardt J., Dugan L.L.* SOD activity of carboxyfullerenes predicts their neuroprotective efficacy: A structure-activity study // *Nanomedicine.* 2008. Vol. 4, No 4. P. 283–294.
30. *Rauf S., Nawaz M.A.H., Badea M., Marty J.L., Hayat A.* Nanoengineered biomimetic optical sensors for glucose monitoring in diabetes // *Sensors.* 2016. Vol. 16. P. 1931.
31. *Rebecca M., HsingLin W., Jun G., Srinivas I., Gabriel M.A., Jennifer M., Andrew S.P., Yuping B., ChunChih W., Zhong C., Yuan G., Rashi I.* Impact of physicochemical properties of engineered fullerenes on key biological responses // *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 2009. Vol. 234. P. 58–67.
32. *Yin J.J., Lao F., Fu P.P., Wamer W.G., Zhao Y., Wang P.C., Qiu Y., Sun B., Xing G., Dong J., Liang X.J., Chen C.* The scavenging of reactive oxygen species and the potential for cell protection by functionalized fullerene materials // *Biomaterials.* 2009. Vol. 30. P. 611–621.
33. *Sayes C.M., Marchione A.A., Reed K.L., Warheit D.B.* Comparative pulmonary toxicity assessments of C₆₀ water suspensions in rats: few differences in fullerene toxicity in vivo in contrast to in vitro profiles // *Nano Lett.* 2007. Vol. 7, No 8. P. 2399–2406.
34. *Bobylev A.G., Shpagina M.D., Bobyleva L.G., Okuneva A.D., Podlubnaya Z.A., Piotrovsky L.B.* Anti-amyloid properties of fullerene C₆₀ derivatives // *Biophysics.* 2012. Vol. 57, No 3. P. 300–304.
35. *Li W., Chen C.Y., Ye C., Wei T.T., Zhao Y.L., Lao F., Chen Z., Meng H., Gao Y., Yuan H., Xing G., Zhao F., Chai Z., Zhang X., Yang F., Han D., Tang X., Zhang Y.* The translocation of fullerene nanoparticles into lysosome via the pathway of clathrin-mediated endocytosis // *Nanotechnology.* 2008. Vol. 19 (14). P. 145102–145113.
36. *Li W., Zhao L., Wei T., Zhao Y., Chen C.* The inhibition of death receptor mediated apoptosis through lysosome stabilization following internalization of carboxyfullerene nanoparticles // *Biomaterials.* 2011. Vol. 32. P. 4030–4041.

37. Liu Q., Zhao Y., Wan Y., Zheng J., Zhang X., Wang C., Fang X., Lin J. Study the inhibitory effect of water soluble fullerenes on plant growth at the cellular level // *ACS Nano*. 2010. Vol. 4. P. 5743–5748.
38. Liu Q., Zhang X., Zhao Y., Lin J., Shu C., Wang C., Fang X. Fullereneinduced increase of glycosyl residue on living plant cell wall // *Environ. Sci. Technol.* 2013. Vol. 47. P. 7490–7498.
39. Belgorodsky B., Fadeev L., Ittah V., Benyamini H., Zelner S., Huppert D., Kotlyar A.B., Gozin M. Formation and characterization of stable human serum albumin-trismalonic acid [C₆₀]fullerene complex // *Bioconjugate Chem.* 2005. Vol. 16. P. 1058–1062.
40. Benyamini H., ShulmanPeleg A., Wolfson H.J., Belgorodsky B., Fadeev L., Gozin M. Interaction of C₆₀ fullerene and carboxyfullerene with proteins: docking and binding site alignment // *Bioconjugate Chem.* 2006. Vol. 17, No 2. P. 378–386.
41. Yang X.L., Fan C.H., Zhu H.S. Photoinduced cytotoxicity of malonic acid [C₆₀]fullerene derivatives and its mechanism // *Toxicol. Vitro*. 2002. Vol. 16. P. 41–46.
42. Liu Q., Guan M., Xu L., Shu C., Jin C., Zheng J., Fang X., Yang Y., Wang C. Structural effect and mechanism of C₇₀-carboxyfullerenes as efficient sensitizers against cancer cells // *Small*. 2012. Vol. 8, No 13. P. 2070–2077.
43. Liu Q., Zheng J., Guan M., Fang X., Wang C., Shu C. Protective effect of C₇₀ carboxyfullerene against oxidativeinduced stress on postmitotic muscle cells // *ACS Appl. Mater. Interfaces*. 2013. Vol. 5. P. 4328–4333.
44. Norton S.K., Dellinger A., Zhou Z., Lenk R., Macfarland D., Vonakis B., Conrad D., Kepley C.L. A new class of human mast cell and peripheral blood basophil stabilizers that differentially control allergic mediator release // *Clin. Transl. Sci.* 2010. Vol. 3. P. 158–169.
45. Norton S.K., Wijesinghe D.S., Dellinger A., Sturgill J., Zhou Z., Barbour S., Chalfant C., Conrad D.H., Kepley C.L. Epoxyeicosatrienoic acids are involved in the C₇₀ fullerene derivative induced control of allergic asthma // *J. Allergy Clin. Immunol.* 2012. Vol. 130, No 3. P. 761–769.e2.
46. Nishihara M., Perret F., Takeuchi T., Futaki S., Lazar A.N., Coleman A.W., Sakai N., Matile S. Arginine magic with new counterions up the sleeve // *Org. Biomol. Chem.* 2005. Vol. 3. P. 1659–1669.
47. Sakai N., Takeuchi T., Futaki S., Matile S. Direct observation of anion-mediated translocation of fluorescent oligoarginine carriers into and across bulk liquid and anionic bilayer membranes // *Chem. BioChem.* 2005. Vol. 6. P. 114–122.
48. Sakai N., Matile S. Anionmediated transfer of polyarginine across liquid and bilayer membranes // *J. Am. Chem. Soc.* 2003. Vol. 125. P. 14348–14356.
49. Sitharaman B., Zakharian T.Y., Saraf A., Misra P., Ashcroft J., Pan S., Pham Q.P., Mikos A.G., Wilson L.J., Engler D.A. Watersoluble fullerene (C₆₀) derivatives as nonviral gene delivery vectors // *Mol. Pharm.* 2008. Vol. 5, No 4. P. 567–578.
50. Raoof M., Mackeyev Y., Cheney M.A., Wilson L.J., Curley S.A. Internalization of C₆₀ fullerenes into cancer cells with accumulation in the nucleus via the nuclear pore complex // *Biomaterials*. 2012. Vol. 33, No 10. P. 2952–2960.
51. Piotrovskiy L.B., Litasova E.V., Dumpis M.A., Nikolaev D.N., Yakovleva E.E., Dravolina O.A., Bespalov A.Yu. Enhanced brain penetration of hexametonium in complexes with derivatives of fullerene C₆₀ // *Doklady Biochem. Biophys.* 2016. Vol. 468. P. 173–175.
52. Toth E., Bolskar R.D., Borel A., Gonzalez G., Helm L., Merbach A.E., Sitharaman B., Wilson L.J. Watersoluble gadofullerenes: toward highrelaxivity, pH responsive MRI contrast agents // *J. Am. Chem. Soc.* 2005. Vol. 127. P. 799–805.

Поступила в редакцию: 03.05.2018 г.

Контакт: Литасова Елена Викторовна, llitasova@mail.ru

Сведения об авторах:

Литасова Елена Викторовна — кандидат биологических наук, ФБГНУ «Институт экспериментальной медицины», лаборатория синтеза и нанотехнологий лекарственных веществ отдела нейрофармакологии, старший научный сотрудник; 197376, Санкт-Петербург, ул. Акад. Павлова, д. 12; e-mail: llitasova@mail.ru;

Пiotrovский Левон Борисович — доктор биологических наук, ФБГНУ «Институт экспериментальной медицины», лаборатория синтеза и нанотехнологий лекарственных веществ отдела нейрофармакологии, руководитель лаборатории; 197376, Санкт-Петербург, ул. Акад. Павлова, д. 12; e-mail: levon-piotrovsky@yandex.ru.

УДК 616.13-004.6:616.132.2/5-004.6

МУЛЬТИФОКАЛЬНЫЙ АТЕРОСКЛЕРОЗ — ОДИН ИЗ ГЛАВНЫХ ФАКТОРОВ РИСКА, УСКОРЯЮЩИЙ РАЗВИТИЕ ОСТРЫХ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ СОБЫТИЙ

А.Р. Прудников, А.Н. Щупакова

УО «Витебский государственный медицинский университет», г. Витебск, Республика Беларусь

MULTIFOCAL ATHEROSCLEROSIS IS ONE OF THE MAJOR RISK FACTORS THAT ACCELERATES THE DEVELOPMENT OF ACUTE CARDIOVASCULAR EVENTS

A.R. Prudnikov, A.N. Shchupakova

EE "Vitebsk State Medical University", Vitebsk, Republic of Belarus

© А.Р. Прудников, А.Н. Щупакова, 2018 г.

© A.R. Prudnikov, A.N. Shchupakova, 2018.

Обзор посвящен роли мультифокального атеросклероза (МФА) в развитии острых сердечно-сосудистых событий. Приведены данные о распространенности, различных методах диагностики мультифокального атеросклероза. Представлена информация о существующих прогностических шкалах развития неблагоприятных коронарных событий на определенный срок. Предложено включать некоронарный атеросклероз в прогностические шкалы для увеличения их предсказательной мощности.

Ключевые слова: мультифокальный атеросклероз, методы диагностики, прогностические шкалы.

The literary review is devoted to the role of multifocal atherosclerosis (MFA) in the development of acute cardiovascular events. The data on prevalence and different methods of multifocal atherosclerosis diagnosis are presented. A piece of information about the existing prognostic scales of progress of adverse coronary events for a certain period of time is given. It is proposed to include non-coronary atherosclerosis in prognostic scales to increase their predictive power.

Key words: multifocal atherosclerosis, diagnostic methods, prognostic scales.

Введение. Известно, что атеросклероз является главной причиной развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий (внезапная сердечная смерть, инфаркт миокарда (ИМ), инсультов, тромбоэмболия легочной артерии (ТЭЛА), нестабильная стенокардия (НС)) [1]. Однако достаточно часто появление данных осложнений связывали лишь с развитием атеросклероза и дестабилизацией атеросклеротической бляшки (АСБ) только в районе симптом-связанной артерии и не уделялось пристального внимания пониманию атеросклероза как заболевания системного, а также влияния атеросклероза одних сосудистых областей на развитие тяжелой патологии в другом сосудистом регионе [2].

В ряде исследований была доказана концепция «нестабильного пациента», показывающая, что признаки нестабильной АСБ у пациентов с острым коронарным синдромом (ОКС) обнаруживаются достаточно часто и в других ко-

ронарных сосудах, а не только в симптом-связанной артерии [2]. По данным J.S. Berger и соавт. (2010) поражение атеросклерозом сосудов лишь одного анатомо-функционального артериального бассейна регистрировалось в 2 раза реже, нежели сочетанное поражение нескольких сосудистых областей [3]. Выступая на Европейском конгрессе кардиологов итальянский ученый, профессор V. Aboyans (2013) отмечал, что атеросклероз — безусловно системное заболевание, но влияние сочетанного атеросклеротического поражения других сосудистых регионов на клиническое течение, например, ИБС до настоящего времени не изучено [4].

На сегодняшний момент ни в одну из широко распространенных прогностических шкал не включен такой параметр, как некоронарный атеросклероз в качестве фактора риска неблагоприятного течения ИМ [5, 6].

В связи с этим необходимо определить, какой вклад вносит поражение некоронарных артерий в развитие осложнений сердечно-сосудистых заболеваний и определить значение других факторов риска (например, субклиническое воспаление, курение, сахарный диабет (СД) и др.) в прогнозировании неблагоприятных последствий корональной патологии при наличии некоронарного атеросклероза.

1. Мультифокальный атеросклероз: определение, распространенность и методы диагностики. МФА обозначается в литературе как «гемодинамически значимое атеросклеро-

тическое поражение нескольких сосудистых бассейнов, обуславливающее тяжесть заболевания и затрудняющее выбор оптимальной лечебной тактики и ставящее под сомнение оптимистичность прогноза» [7]. Также, по мнению Л.А. Бокерия, это заболевание следует рассматривать как самостоятельную нозологическую единицу.

Согласно результатам различных клинических исследований, встречаемость МФА среди пациентов с сердечно-сосудистыми заболеваниями находится в пределах от 13,5 до 94% (табл. 1) [8–12].

Таблица 1

**Встречаемость МФА в различных исследованиях
(адаптировано из источников [8–12])**

| Авторы/наименование исследования и год опубликования | Частота встречаемости МФА | Количество наблюдений | Возраст пациентов | Наиболее часто используемые в исследованиях | |
|---|---------------------------|-----------------------|-------------------|---|---|
| | | | | методы диагностики | критерии диагноза |
| CAPRIE (1996); REACH (2003); Aqel R.A. (2003); AGATHA (2004); Авалиани В.М. (2005); Spenser F.A. (2007); Calvet D. (2010); Слатова С.Н. (2017) | 13–40% | 90–67888 | 45–79 | Клинические, ангиография | Симптомы, стенозы различных артериальных бассейнов |
| AGATHA (2004); Коморовский Р.Р. (2006); Poredos P., Jug B. (2007); Mopopoli D.E. (2013) | 41–68% | 337–971 | 50–77 | УЗИ | Утолщение комплекса интима–медиа (КИМ), любые стенозы брахиоцефальных артерий (БЦА) и магистральных артерий нижних конечностей (МАНК) |
| Астанина И.А. (2004); Kablak-Ziembicka A. (2004); Рафеенкова В.С. (2005); Гараева Л.А., Маянская С.Д. (2013); Кашталап В.В. (2015) | 69–96% | 49–558 | 35–70 | УЗИ, ангиография | Утолщение КИМ, стенозы КА, БЦА, МАНК |

По данным таблицы 1 можно сделать вывод о необходимости унификации методов исследования для корректного сравнения данных разных авторов ввиду значительных различий в частоте встречаемости МФА. При этом стоит отметить, что в настоящее время достаточно мало данных об эпидемиологии и значимости субклинических вариантов МФА при различных формах ИБС, поэтому любая информация важна и полезна для решения новых научных и эпидемиологических задач [12].

На данный момент для выявления МФА используются различные методы диагностики: лабораторные — определение различных интерлейкинов (ИЛ), С-реактивного белка (СРБ), тропонинов (при ОКС); инструментальные — УЗИ, ангиография; клинические — опрос жалоб, осмотр и т.д. [12]. Однако мнения многочисленных авторов в отношении преимуществ и недостатков того или иного метода значительно разнятся, что, в свою очередь, ограничивает его применение [13] (табл. 2).

Таблица 2

**Краткая сравнительная характеристика методов диагностики атеросклероза
(в том числе начальные стадии заболевания и МФА)**

| Методы диагностики | | Позиция против | Позиция за | |
|--|------------------|---|--|--|
| Диагностика мультифокального атеросклероза | инструментальные | Рентгеноконтрастные инвазивные исследования (коронарография) | <ul style="list-style-type: none"> • Не позволяет выявить начальные атеросклеротические изменения | <ul style="list-style-type: none"> • Позволяет определить наличие бляшки, примерные ее размеры и распространенность атеросклероза |
| | | УЗИ различных сосудистых регионов, определение толщины КИМ | <ul style="list-style-type: none"> • Толщина КИМ не всегда коррелирует с выраженностью атеросклероза, особенно при наличии хронического воспаления у пациентов молодого возраста • Достаточное количество как ложноположительных, так и ложноотрицательных результатов по данным аутопсии бляшек | <ul style="list-style-type: none"> • Эффективный, относительно недорогой метод определения атеросклероза. • Толщина КИМ сонных артерий коррелирует с большинством факторов риска атеросклероза |
| | | Эндотелий-независимая вазодилатация плечевой артерии с помощью УЗИ | <ul style="list-style-type: none"> • Низкоспецифичный показатель, не применим для индивидуальной оценки состояния пациента в рутинной практике | <ul style="list-style-type: none"> • Используется как один из индикаторов доклинических стадий развития атеросклероза |
| | клинические | Опрос и осмотр пациента | <ul style="list-style-type: none"> • Приблизительная оценка самочувствия пациента | <ul style="list-style-type: none"> • Выявленные факторы риска (АГ, СД, курение и др.) включены в прогностические шкалы |
| | | Определение лодыжечно-плечевого индекса | <ul style="list-style-type: none"> • Неоднозначная роль для включения в прогностические шкалы | <ul style="list-style-type: none"> • Используется для диагностики начальных стадий атеросклероза |
| | лабораторные | Определение факторов субклинического воспаления (цитокины), биохимический анализ крови, коагулограмма | <ul style="list-style-type: none"> • Слабая корреляционная связь с существующими прогностическими шкалами. • Вариабельность значений при развитии инфекции, системных заболеваниях соединительной ткани, патологии щитовидной железы и других заболеваниях | <ul style="list-style-type: none"> • Позволяет проследить развитие реакций системного воспаления на всех этапах атерогенеза. • Целесообразно использовать некоторые цитокины в качестве маркеров атеросклероза |

При поступлении в стационар пациенту по экстренным показаниям (наличие подъема сегмента ST на ЭКГ, характерной клинической картины) с предварительным диагнозом ОКС, в первую очередь, выполняется коронарография (как «золотой стандарт» диагностики ОКС) и при необходимости — стентирование симптом-связанной артерии. Использование данного метода значительно увеличивает шансы пациента на получение минимально возможного повреждения миокарда и, соответственно, развитие сердечной недостаточности в дальнейшем. В данной ситуации коронарографии нет равных среди диагностических и лечебных методов, однако при выполнении этого исследования в плановом порядке существуют свои особенности. Ангиография превосходит УЗИ по диагностической ценности при выявлении степени стенозирования того или иного сосуда, приблизительном опре-

делении характера АСБ и распространенности атеросклероза. Также это возможность получать динамический рисунок сосудов сердца для более полной информации о состоянии кровотока в органе. При этом существует и ряд ограничений этого метода. Во-первых, это инвазивная процедура, требующая специальной подготовки пациента как до проведения, так и после проведения исследования: голодание в течение минимум 6–8 часов, лежачее положение без возможности сгибания конечности в течение 6 часов после коронарографии и т.д. Во-вторых, это возможная аллергическая реакция на контраст, воздействие рентгеновского облучения и риск развития тромботических осложнений, ввиду прокола крупного артериального сосуда и постановки внутрь его катетера. В-третьих, попадание рентгеноконтрастного вещества под кожу при неправильном введении может привести к появлению боли

в этой области. Если это окажется незамеченным, то высока вероятность развития воспалительных явлений и рубцевание тканей в этом месте. В-четвертых, если пациент страдает СД или другим заболеванием, сопровождающимся поражением почек, возможна декомпенсация функции почек при воздействии на них выводимого контраста. В-пятых, довольно редким осложнением ангиографии является повреждение с расслоением внутренней оболочки сосуда (диссекция), обычно заканчивающимся нарушением поступления крови к органу, кровоснабжаемому этим сосудом. И, наконец, данный метод не позволяет определять начальные признаки атеросклероза в виде утолщения КИМ и образования плоской АСБ [14].

С помощью опроса можно дать лишь приблизительную оценку картины заболевания, например, опрос не позволяет клинически диагностировать гемодинамически значимые стенозы, иногда более 70%, в различных сосудистых регионах. Это связано с тем, что пациенты либо не придают значения появившимся симптомам, либо не имеют их вообще [15]. В то же время выявленные при опросе и осмотре артериальная гипертензия (АГ), СД, курение, и в дальнейшем выявленный высокий уровень холестерина имеют сильную положительную связь с некоронарным атеросклерозом. Например, у 80% пациентов с ИБС отмечается как минимум один из вышеперечисленных признаков, а у пациентов с МФА частота достигает отметки в 95% [15]. Однако в исследовании J.S. Berger и соавт. (2010) и P. Greenland и соавт. (2010) были получены данные о бассейн-специфичном влиянии курения на развитие атеросклероза артерий нижних конечностей, что свидетельствует о наличии более тесной связи множественного поражения артерий с эндогенными причинами (холестерином, цитокинами и др.), чем с экзогенными [3].

Определение лодыжечно-плечевого индекса (ЛПИ) — довольно популярный метод диагностики начальных стадий атеросклероза на данный момент. Однако недостаточно изучена возможность использования только данного показателя как доказательства наличия атеросклероза коронарных артерий. Также не ясна его роль в качестве дополнительного фактора риска на фоне уже имеющихся традиционных факторов риска сердечно-сосудистых заболеваний у того или иного пациента [16–18]. Американская эпидемиологическая организация US Preventive Services Task Force в 2012 г. сочла данный метод нецелесообразным для улучшения Фрамингемской шкалы. В другом исследовании американских ученых было выявлено,

что ЛПИ также не подходит и для скрининга атеросклероза магистральных артерий нижних конечностей (МАНК) [17].

Определение относительного изменения диаметра плечевой артерии с помощью УЗИ также используется как индикатор доклинических стадий развития атеросклероза. Эндотелий-независимая вазодилатация плечевой артерии характеризует состояние гладкомышечных клеток сосудистой стенки в большей степени, чем нарушения функционирования эндотелия [19]. Однако многочисленные авторы отмечают изменение данного состояния практически при любой сосудистой патологии, поэтому они считают данный метод низкоспецифичным ввиду нескольких причин. Первая — из-за его лабильности, зависящей от множества сложно учитываемых и/или мало относящихся к атеросклерозу признаков (например, характера питания или фазы менструального цикла). Вторая — неудовлетворительная точность для индивидуальной диагностики. Например, при диаметре плечевой артерии в 3 мм отклонением от нормы будет считаться ее расширение менее чем на 10%, т.е. 0,3 мм. Разрешающая способность большинства линейных датчиков по данным Sorensen и соавт. (1995) составляет 0,1 мм, т.е. дилатация, например, на 0,24 мм может восприниматься и как норма, и как патология. Продольная же разрешающая способность при частоте 7,5 МГц составляет 0,4 мм, т.е. данный метод диагностики не применим для индивидуальной оценки состояния пациента в рутинной практике [19].

Одним из эффективных, максимально информативных, удобных в использовании и относительно недорогих и воспроизводимых методов определения атеросклероза (в том числе и МФА) является УЗИ сосудистой стенки тех или иных бассейнов [19]. В свою очередь, наиболее известным ранним маркером атеросклероза является толщина КИМ, измеренная в общей сонной артерии [19]. В многочисленных исследованиях доказана сильная корреляционная связь между утолщением КИМ в зоне БЦА и степенью тяжести атеросклероза коронарных артерий [20, 21]. Установлено, что толщина КИМ сонных артерий коррелирует с большинством факторов риска атеросклероза [22], такими как пол, уровень холестерина, курение, возраст, СД [23], риск развития инсульта и ИМ [24].

По результатам исследования Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) толщина КИМ брахиоцефальных артерий является предвестником повторных неблагоприятных сердечно-сосудистых событий, в большей степени для развития инсульта, нежели для ИМ [25]. Стоит отметить, что

старение организма способствует усилению связи между толщиной КИМ сонных артерий и факторами риска ИБС [26]. Соответственно, целесообразно использовать КИМ как фактор риска и включать данный параметр в состав прогностических моделей [26].

В то же время прогностическая значимость толщины КИМ для рискметрии сердечно-сосудистых катастроф поддерживается не всеми исследователями [27]. Существуют указания на недостаточно высокую диагностическую эффективность использования оценки толщины КИМ для обнаружения раннего развития атеросклероза, ввиду некоторых особенностей. Оказалось, что толщина КИМ не всегда коррелирует с выраженностью атеросклероза, например, у относительно молодых людей с хроническими воспалительными заболеваниями [28]. Также разнятся данные авторов на счет того, какую величину принимать за утолщение КИМ [19]. Некоторые авторы считают, что размер КИМ уже более 1 мм необходимо воспринимать как повышенный, другие считают, что цифра в 1,5 мм и более может рассматриваться как патология [19]. Следующий вопрос состоит в том, что считать утолщением интима-медиа, а что — малой АСБ. R. Salonen и соавт. предложили величину в 1,3 мм КИМ и/или 20–25% стеноза просвета артерии. Международный консенсус 2004 года предлагает считать бляшкой утолщение КИМ более 1,5 мм [19].

Стоит отметить, что самым прогностически точным является не размер КИМ, а скорость его увеличения. Так, рост этого показателя более 0,1 мм в год считается прогностически неблагоприятным и увеличивает риск фатального исхода (ИМ и/или инсульта) примерно на 10–18% [3, 19, 22]. Также было выявлено, что данный маркер может являться предиктором ИМ только при наличии АСБ в сонных артериях. Этот феномен связывают с опережающим ростом площади бляшки более чем в 2 раза, по сравнению с увеличением толщины КИМ [3].

Утолщение КИМ наряду с плоскими бляшками по сути дела является начинающимся гемодинамически незначимым стенозом сосудов. В связи с этим возникает следующий вопрос: обладают ли самостоятельным прогностическим эффектом данные изменения артериальной стенки или нет? Особенностью вновь образованных и нестенозирующих («незначимых») бляшек является нестабильность и, соответственно, развитие активного воспаления на их поверхности, что влечет за собой, в том числе, и их системное действие (так называемый метастатический атерогенез) [29]. И поэтому в последнее время [30] активно изуча-

ются различные факторы субклинического воспаления для более полного клинического понимания прогностической значимости мультифокального атеросклероза при ИБС.

Выявить данное субклиническое воспаление помогает лабораторная диагностика при определении многочисленных цитокинов. С помощью данных гуморальных факторов воспаления представляется возможным проследить развитие реакций системного воспаления на всех этапах атерогенеза [31]. Данный метод позволяет диагностировать патологию, когда клинически она никак не проявляется и АСБ сужают просвет артерий не более чем на 20%. Однако остается открытым вопрос, какой набор ИЛ необходимо определять, так как данные разных авторов в этом вопросе значительно разнятся [32–34].

В исследовании В.В. Кашталапа (2015) лишь СРБ, ИЛ-8, ИЛ-12 и ФНО- α сохраняли статистически значимые взаимосвязи с количеством пораженных коронарных артерий. Однако стоит отметить, что СРБ часто является неинформативным показателем, особенно при наличии гепатита, васкулита или сепсиса в анамнезе [31]. Что касается острых состояний, например ОКС, то в исследовании Л.Н. Слатовой (2016) была доказана целесообразность использования ИЛ-6, ИЛ-1 и ФНО- α в качестве маркеров данного процесса по сравнению с определением тропонинов, которые дают ложноположительную информацию на стадии ишемии (т.е. при отсутствии признаков повреждения — ИС, миокардитах, ТЭЛА и т.д.), и определением ЭКГ — при наличии на пленке рубцовых изменений и/или блокады левой ножки пучка Гиса. Это доказывает важность этих показателей на ранних этапах развития ОКС, т.е. в период клинических проявлений нестабильности АСБ [33].

Значительный вклад цитокинов в развитие атеросклероза послужил основой для выделения такого понятия, как «мультифокальная» ранимость АСБ. В качестве «распространителей нестабильности» выделяются следующие цитокины: ИЛ-6, ИЛ-18, СРБ, и ФНО- α . Они могут способствовать развитию сосудистого воспаления на значительном удалении от нестабильной бляшки и, соответственно, повышать риск развития атерогенеза и атеротромбоза других сосудистых регионов [34].

Стоит отметить, что по данным С.А. Бернса и соавт. (2010) множественность поражения коронарных артерий сочетается с изменением концентрации цитокинов. Так, при однососудистом поражении максимальные значения принимают противовоспалительные цитокины ИЛ-4 и ИЛ-10, при трех-

сосудистом поражении — соответственно, провоспалительные цитокины (ИЛ-6, ИЛ-8, СРБ), а их максимальные значения отмечаются при деструкции АСБ. Соответственно, большая степень поражения коронарных сосудов увеличивает объем поражения миокарда и увеличивает риск развития повторных неблагоприятных сердечно-сосудистых событий [35]. Доказательством служит более частое распространение МФА у пациентов с ОКС, нежели при стабильном течении ИБС [35].

Существует мнение о значительной роли иммунных комплексов в развитии нестабильности АСБ, которые обнаруживаются как в кровотоке, так и в атеросклеротической бляшке и, соответственно, вызывают развитие локального воспаления бляшки. Их образование связано с взаимодействием Т-лимфоцитов, например, с окисленными липопротеинами в виде реакции антиген-антитело. При дефиците Т-регуляторов количество иммунных комплексов становится значительным, и они не удаляются из сосудистого русла, оседая на поверхности сосудистой стенки, и способствуют активации, развитию и продолжению уже начавшегося сосудистого воспаления [36].

Кальциноз вносит, в целом, негативный вклад в формирование нестабильной АСБ. В работе А.Р. Вирке и соавт. (2000) была выявлена сопоставимость областей разрывов покрышки и кальциноза, а также формирование очагов диффузного кальциноза в местах предшествующих разрывов, как проявление процессов репарации [37]. Исследования MESA и EISNER показали, что распространенный кальциноз коронарных артерий является дополнительным фактором риска развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий [38].

Процедура чрескожного коронарного вмешательства (ЧКВ) значительно снижает концентрацию провоспалительных цитокинов. Так, по данным Л.Н. Слатовой (2016) уже к 10-м суткам их концентрация, кроме ФНО-альфа, находится в пределах референсных значений [39]. Стоит отметить, что после данной процедуры признаки субклинического воспаления сохраняются, доказательством служит исследование D.E. Moropoli и соавт. (2013), которое выявило значительное ухудшение самочувствия пациентов при наличии субклинической формы МФА перенесших ЧКВ [12]. Также высокий исходный уровень СРБ и ИЛ-6 значительно увеличивает шансы на развитие рестенозов и поздних тромбозов стентов [40]. Таким образом, сама процедура ЧКВ, конечно, улучшает состояние и значительно снижает степень воспаления, приведшего к возникновению острого состояния, но не способствует (это не входит в ее задачи) практически полному выздо-

влению пациента. И это еще раз доказывает необходимость определения цитокинов и выполнения УЗИ для недопущения повторных сердечно-сосудистых событий.

Необходимо подчеркнуть, что среди вышеперечисленных цитокинов нет какого-либо единственного, уникального, который вносил бы решающий вклад в качестве фактора риска развития сердечно-сосудистой патологии и ингибируя который мы могли бы предотвратить дальнейшее развитие атеросклероза (например, с помощью «точной» иммунотерапии) [41]. Это означает, что только определение большого числа разнонаправленных цитокинов в сочетании с другими показателями, не отражающими, собственно, субклиническое воспаление, сможет стать основой для создания новых прогностических моделей развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий. Например, выявлена положительная слабая корреляционная связь между баллами по шкалам CADILLAC и СРБ, ИЛ-8; GRACE и ИЛ-12; PAMI и ИЛ-12, СРБ. Такие слабые связи, возможно, объясняются участием цитокинов в формировании отдаленных неблагоприятных последствий за счет поддержания воспаления низкой интенсивности в тех или иных сосудистых регионах у пациентов с ИМ [42].

2. Прогностические модели, показывающие риск развития повторных сердечно-сосудистых событий у пациентов с различными формами ИБС. Эффективным этапом лечения различных форм ИБС является создание прогностических шкал для стратификации риска того или иного исхода данной группы заболеваний. Их дифференцированное применение определяет правильную стратегию терапии в ранний период патологии и значительно снижает смертность от острых форм ИБС и частоту повторных госпитализаций по поводу ИМ или НС [43, 44]. На данный момент отмечается наличие более 200 факторов риска развития и прогрессирования атеросклероза. Для учета влияния этих факторов и их взаимодействий между собой широко используются две прогностические шкалы: Фрамингемская шкала риска и европейская шкала риска SCORE [3]. Однако многочисленные публикации последних лет говорят об их недостаточной прогностической силе [3]. Это связано с выделением большого количества пациентов с промежуточным риском и ошибочным вхождением в эту группу пациентов высокого риска, которым требуются другие подходы к лечению. В табл. 3 приведены данные по основным прогностическим шкалам, показывающие риск развития повторных сердечно-сосудистых событий

Таблица 3

Прогностические модели, показывающие риск развития повторных сердечно-сосудистых событий у пациентов с различными формами ИБС

| Название модели и исследование, на основе которого она принята | Исследуемая патология, параметры | Что прогнозирует данная шкала | Литература |
|--|--|--|------------|
| TIMI-score-STEMI (2000); EARLY II | Исследуемая патология: ИМ с подъемом сегмента ST. Параметры: возраст старше 65 лет; наличие сахарного диабета (СД), АГ или стенокардии; систолическое артериальное давление <100 мм рт.ст.; ЧСС >100 уд./мин; симптомы ОСН (Killip II-IV кл.); масса тела <67 кг; передняя локализация ИМ / БЛНПГ; начало проведения реперфузионной терапии >4 ч | 30-дневная летальность от тромболитической терапии (AUC=0,78); смерть в стационаре (AUC=0,68); односторонняя смертность (AUC=0,69) | 43, 45, 46 |
| TIMI-score-non-STEMI (2000); ESSENCE и TIMI 11B | Исследуемая патология: ИМ без подъема сегмента ST. Параметры: возраст старше 65 лет; наличие как минимум трех факторов риска ИБС (гиперхолестеринемия, семейный анамнез ИБС, СД, АГ); ранее выявленный 50% и более стеноз коронарной артерии; отклонение сегмента ST; два приступа стенокардии и более в предыдущие 24 ч; прием аспирина в течение последних 7 сут; повышенный уровень кардиомаркеров в сыворотке крови | 30-суточная летальность (AUC=0,72); годовичная летальность (AUC=0,75); рецидив ИМ в течение 30 сут (AUC=0,61) | 43, 45, 46 |
| PURSUIT (2000) | Исследуемая патология: ОКС. Параметры: возраст; повышенная ЧСС; увеличенное систолическое АД; депрессия сегмента ST; признаки сердечной недостаточности; повышение кардиальных ферментов в сыворотке крови | Смерть в стационаре (AUC=0,8); одностороннюю смертность у пациентов с ОКС без подъема ST (AUC=0,77) | 43, 45, 46 |
| PAMI risk score (2004) | Исследуемая патология: ИМ. Параметры: возраст; ЧСС; класс ОСН по Killip; наличие ИМ или ЛНПГ, СД; информация о степени тяжести и времени ишемии исключается | 6-месячная летальность (AUC=0,78); 30-суточная летальность (AUC=0,74); годовичная летальность (AUC=0,77); рецидив ИМ за 30 сут (AUC=0,64); 3-летняя смертность (AUC=0,71) | 43, 46 |
| CADILLAC (2005); (Stent-PAMI) | Исследуемая патология: пациенты с ИМ подвергшиеся ЧКВ. Параметры: фракция выброса левого желудочка менее 40%; скорость клубочковой фильтрации менее 60 мл/мин, класс тяжести ИМ по Killip II-III, послеоперационный кровоток по шкале TIMI 0-2; возраст старше 65 лет; анемия; трехсосудистое поражение коронарных артерий | 30-суточная летальность (AUC=0,82); годовичная летальность (AUC=0,75); рецидив ИМ за 30 сут (AUC=0,68) | 43, 46, 47 |
| GRACE (2000); GRACE и GUSTO | Исследуемая патология: ОКС вне зависимости от способа ревааскуляризации. Параметры: возраст; класс острой сердечной недостаточности по Killip; повышенный уровень систолического АД; изменение сегмента ST; остановка сердца; увеличение концентрации креатинина сыворотки крови; положительные кардиальные биомаркеры; тахикардия | 30-суточная летальность (AUC=0,47); годовичная летальность (AUC=0,47); рецидив ИМ за 30 сут (AUC=0,47); 6-месячная летальность (AUC=0,81) и нефатальные рецидивы ИМ; смерть в стационаре (AUC=0,81); односторонняя смертность (AUC=0,79) у пациентов с ОКС без подъема ST. Применима для прогноза развития кровотечений у пациентов с ОКС: — для общей группы AUC=0,76; — для группы CRUSADE AUC=0,73 | 43, 48 |

Окончание таблицы 3

| | | | |
|--|---|---|---------------|
| РЕКОРД (2008) РЕКОРД 2 (2011) РЕКОРД 3 (2015); На основе одноименных регистров РФ | Изучаемая патология: ОКС. Параметры: класс острой сердечной недостаточности по Killip; СД в анамнезе; подъем сегмента ST на исходной ЭКГ; систолическое АД при поступлении; уровень гемоглобина при поступлении; возраст 65 лет и старше | Смерть или развитие инфаркта миокарда во время пребывания в стационаре (AUC=0,89). Применима для прогноза развития кровотоков у пациентов с ОКС | 43, 49 |
| CRUSADE (2006); на основе одноименного регистра | Изучаемая патология: ОКС без подъема сегмента ST. Параметры: гематокрит; уровень креатинина; ЧСС; систолическое АД; наличие СД; пол; стойкая СН; наличие сосудистого заболевания | Риск кровотоков: AUC=0,68 — для общей группы; AUC=0,76 — для группы CRUSADE (пациенты с ОКС без ST, только с диагностированным ИМ, не принимающие варфарин, а также не умершие и не переведенные в другие стационары в первые 48 ч после поступления) | 50 |
| SYNTAX score | Изучаемая патология: ИМ с подъемом сегмента ST (ИМпST) у пациентов, имеющих многосудистый коронарный атеросклероз. Параметры: определение типа коронарного кровоснабжения; сегментарное поражение коронарных артерий; оценка диаметра стеноза; оценка три- и бифуркационных стенозов; орто-остимальное поражение коронарных артерий; наличие сильных извитостей коронарных артерий; определение длины стеноза, кальцификации и наличия тромбоза; определение наличия диффузно пораженных и суженных сегментов дистальнее стеноза | Одногодичный риск развития хронической сердечной недостаточности и серьезных нежелательных кардиальных событий (AUC=0,76) | 51, 52 |
| BCIS-1 Myocardial Jeopardy score; APPROACH | Изучаемая патология: ИМпST у пациентов, имеющих многосудистый коронарный атеросклероз с планируемым ЧКВ. Параметры: определение типа повреждения миокарда; сужение нативных коронарных артерий; количество функционирующих коронарных шунтов; маркеры повреждения миокарда; креатинин и его клиренс по методике Cockcroft—Gault; АГ; дислипидемия; курение; отягощенная наследственность по сердечно-сосудистым заболеваниям, ожирение, СД | Достижение комбинации конечной точки MACE/ХСН без предшествующего коронарного анамнеза (серьезных нежелательных кардиальных событий через 12 мес после ИМпST) (AUC=0,82) | 53, 54 |
| KEMScore (2011) | Изучаемая патология: ИМ. Параметры: концентрация ИЛ-12, ФНО-альфа, стенозы более 30% в различных сосудистых регионах | Смерть или нефатальный ИМ в течение 12 мес (AUC=0,89) | 46 |
| Модель А.В. Паниной (2013) | Изучаемая патология: ОКС. Параметры: D-димеры; уровень глюкозы; BNP; лейкоциты; наличие СД | 12-месячная летальность. Чувствительность 73%, специфичность 68% | 54, 55, 56 |
| Модель А.В. Шмидта и соавт. (2014) | Изучаемая патология: ИМпST. Параметры: уровень TNF более 4,5 пг/мл в 1-е сутки заболевания; уровень Р-селектина более 152,8 нг/мл, класс ОСН по Killip III–IV; уровень ИЛ-1α более 0,69 нг/мл на 10-е сутки заболевания; курение в анамнезе | 12-месячная летальность (AUC=0,91) | 35 |
| Модель Л.Н. Слатовой (2016) | Изучаемая патология: ИМ. Параметры: возраст более 67 лет; наличие нестабильных АВ или стенозов БЦА более 50%; отсутствие реперфузии; наличие III и IV классов ОСН по Killip при поступлении; повышение концентрации VEGF более 364 пг/мл и ST2 более 34 нг/мл | Смерть или нефатальный ИМ в течение 12 мес (AUC=0,86) | 10 |

Примечание: составлено авторами на основе источников [10, 35, 43–56].

у пациентов с различными формами ИБС, известных ранее и появившихся в последнее время. Представленные шкалы демонстрируют различную прогностическую мощь при оценке риска развития фатальных событий и развития (нового или повторного) ИМ в разные сроки от момента госпитализации пациентов [55]. Диагностическая эффективность существующих

шкал и моделей колеблется в разных выборках в зависимости от популяции, региона проживания и ряда других причин [57]. И поэтому возникает необходимость дифференцировано подходить к стратификации риска у пациентов с сердечной патологией (в зависимости, например, от тяжелого коморбидного заболевания) (табл. 4) [43, 46].

Таблица 4

Преимущества тех или иных прогностических шкал развития повторных сердечно-сосудистых событий на примере ОКСБП ST (на основе источников [43, 45, 46, 48])

| Коморбидная патология | Наилучшая прогностическая шкала | Компонент шкалы, характеризующий коморбидную патологию |
|---|---------------------------------|--|
| Хроническая почечная недостаточность | GRACE | Уровень креатинина |
| Мультифокальный коронарный атеросклероз | TIMI | Ранее выявленный стеноз коронарных артерий, изменения сегмента ST на ЭКГ, повышение маркеров некроза миокарда и т.д. |
| Дисциркуляторная энцефалопатия | PIRSUIT | Наличие сердечной недостаточности и тяжелое течение стенокардии (депрессия сегмента ST) |

Данные табл. 3 свидетельствуют о наличии лишь трех прогностических шкал, учитывающих наличие тех или иных цитокинов, две из которых учитывают также наличие атеросклероза других сосудистых регионов организма. При этом необходимо отметить, что их диагностическая значимость является самой высокой среди всех остальных, так как специальный критерий ROC-анализа (программы математического моделирования) AUC был более 0,85 — что считается наилучшим результатом для статистического моделирования.

В связи с этим предлагается включать некоронарный атеросклероз во все модели для улучшения их прогностических возможностей. Однако в данной ситуации не существует однозначного мнения. С одной стороны, данные статистики говорят однозначно в пользу включения, с другой — будут ли эти шкалы намного эффективнее? Если мы «перегрузим» данными ту или иную шкалу она, возможно, будет с меньшей точностью прогнозировать то, что прогнозировала до включения в нее некоронарного атеросклероза.

Существует и другой вариант развития событий — создание «универсальной» шкалы со всеми возможными параметрами, отражающими ту или иную опасность для развития острых сердечно-сосудистых катастроф. Однако здесь невозможно спрогнозировать взаимодействие этих параметров при построении данной шкалы. Мы можем получить незначительную роль какого-либо фактора, который в реальной практике вносит исключительный вклад в прогноз развития событий. Также необходимо учитывать возможности

диагностических мощностей стационаров. Определение большого количества параметров занимает значительный промежуток времени и достаточно затратно по стоимости. Это будет вносить значительные ограничения в их применение.

По этой причине необходимо предложить альтернативный вариант — использование всех шкал, но определенной шкалы для определенного заболевания или группы заболеваний. Включить в большинство из них некоронарный атеросклероз и оценить, улучшает ли шкала прогноз, и если улучшает, то создать ее новую модификацию и внедрить в практическую медицину.

Заключение.

1. МФА вносит значительный вклад в развитие повторных эпизодов сердечно-сосудистой патологии.

2. Для диагностики МФА используются многочисленные методы, наиболее эффективными из которых являются УЗИ сосудов и определение параметров субклинического воспаления при стабильном течении заболевания и ангиография при развитии острых состояний (например, ОКС или инсульт).

3. Существует небольшое количество прогностических шкал, включающих некоронарогенный атеросклероз в качестве фактора риска развития неблагоприятного исхода через определенный промежуток времени.

4. Диагностические шкалы, включающие некоронарогенный атеросклероз, обладают более высокой прогностической значимостью, нежели остальные.

5. Нестенозирующие бляшки вносят существенный вклад в развитие атеросклероза посредством влияния различных цитокинов на данный процесс (в так называемой концепции метастатического атеросклероза).

6. После процедуры ЧКВ сохраняются признаки субклинического воспаления ввиду наличия атеросклероза других сосудистых областей, поэтому только определение большого числа разнонаправленных цитокинов в сочетании с другими показате-

лями, не отражающими собственно субклиническое воспаление, сможет стать основой для создания новых прогностических моделей развития неблагоприятных сердечно-сосудистых событий.

7. Возникает необходимость включения в существующие прогностические шкалы такого параметра, как наличие атеросклероза других сосудистых регионов, для возможного повышения их значимости. При удачном исходе — внедрение этих модификаций в практическую медицину.

Литература

1. Шаленкова М.А., Мухаметова Э.Т., Михайлова Э.Д. Роль маркеров некроза и воспаления в прогнозировании острых форм ишемической болезни сердца // Клиническая медицина. 2013. № 11. С. 14–20. [Shalenkova M.A., Muhametova E.T., Mihajlova Z.D. Rol' markerov nekroza i vospaleniya v prognozirovanii ostryh form ishemicheskoy bolezni serdca, Klinicheskaya medicina. 2013. No 11. pp. 14–20.]
2. Hong M., Mintz G., Lee C., Kim Y., Lee S., Song J., Han K., Kang D., Song J., Kim J., Park S., Park S. Comparison of coronary plaque rupture between stable angina and acute myocardial infarction: a 3-vessel intravascular ultrasound study in 235 patients // Circulation. 2004. Vol. 110. P. 928–933. doi: 10.1161/01.CIR.0000139858.69915.2E.
3. Найден Т.В., Бартош-Зеленая С.Ю., Плавинский С.Л., Евсикова И.А. Предикторы изолированных и сочетанных атеросклеротических поражений на субклинической стадии у мужчин среднего возраста и их взаимосвязь с метаболическим синдромом // Артериальная гипертензия. 2017. Т. 23, No 1. С. 56–68. [Najden T.V., Bartosh-Zelenaya S.Yu., Plavinskij S.L., Evsikova I.A. Prediktory izolirovannyh i sochetannyh ateroskleroticheskikh porazhenij na subklinicheskoy stadii u muzhchin srednego vozrasta i ih vzaimosvyaz' s metabolicheskim sindromom, Arterial'naya gipertenziya. 2017. Vol. 23, No 1. pp. 56–68.]
4. Peripheral arterial diseases are «a window into cardiovascular health» // European Society of Cardiology [Электронный ресурс]. 2017. Режим доступа: <https://www.escardio.org/Congresses-&-Events/ESC-Congress/Congress-resources/Congress-news/peripheral-arterial-diseases-are-a-window-into-cardiovascular-health>. Дата доступа: 02.03.2018.
5. Peterson E.D., Dai D., DeLong E.R. Contemporary mortality risk prediction for percutaneous coronary intervention // J. Am. Coll. Cardiol. 2010. Vol. 5. P. 304–309. doi: 10.1016/j.jacc.2010.02.005.
6. Kiani S., Aasen J.G., Holbrook M., Khemka A., Sharmeen F., LeLeiko R.M., Tabit C.E., Farber A., Eberhardt R.T., Gokce N., Vita J.A., Hamburg N.M. Peripheral artery disease is associated with severe impairment of vascular function // Vasc. Med. 2013. Vol. 18 (2). P. 72–78. doi: 10.1177/1358863X13480551.
7. Акберов Р.Ф., Шарафеев А.З., Михайлов М.К. и др. Прогрессирующий мультифокальный атеросклероз: этиология, клинико-лучевая диагностика, современные аспекты лечения. Казань: Идел-Пресс, 2008. 214 с. [Akberov R.F., Sharafeev A.Z., Mihajlov M.K. et al. Progressiruyushchij mul'tifokal'nyj ateroskleroz: ehtiologiya, kliniko-luchevaya diagnostika, sovremennyye aspekty lecheniya. Kazan': Idel-Press, 2008. 214 p.]
8. Kablak-Ziembicka A., Tracz W., Przewlocki T., Pieniazek P., Sokolowski A., Konieczynska M. Association of increased carotid intima-media thickness with the extent of coronary artery disease // Heart. 2004. Vol. 90. P. 1286–1290. doi: 10.1136/hrt.2003.025080.
9. Spencer F.A., Lessard D., Doubeni C., Yarzelski J., Gore J.M., Goldberg R.J. Treatment practices and outcomes of patients with established peripheral arterial disease hospitalized with acute myocardial infarction in a community setting // Am. Heart J. 2007. Vol. 153. P. 140–146. doi.org/10.1016/j.ahj.2006.09.009.
10. Способ прогнозирования риска неблагоприятного годового исхода у пациентов с инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST: патент РФ 2436501 МПК А61В5/02, G01N33/48 / Барбараш О.Л., Зыков М.В., Каушалап В.В., Тавлуева Е.В., Барбараш Л.С. No 2010110195/14; заявл. 17.03.2010; опубл. 20.12.2011, Бюл. 35. 6 с. [Sposob prognozirovaniya riska neblagopriyatnogo godovogo iskhoda u pacientov s infarktomiokarda s pod'emom segmenta ST: patent RF 2436501 МПК А61В5/02, G01N33/48

/ *Barbarash O.L., Zykov M.V., Kashtalap V.V., Taulueva E.V., Barbarash L.S.* No 2010110195/14; *zayavl. 17.03.2010; opubl. 20.12.2011, Byul. 35. 6 h.*]

11. Свидетельство о государственной регистрации программы для ЭВМ No 2016613771 Программа прогнозирования сердечно-сосудистых событий у пациентов с острым коронарным синдромом / *Слатова Л.Н. (РФ), Рубаненко А.О. (РФ), Шукин Ю.В. (РФ)*. Заявка No 2015662936, дата поступления 21 декабря 2015 г., дата государственной регистрации в Реестре программ для ЭВМ 06 апреля 2016 г. [Svidetel'stvo o gosudarstvennoj registracii programmy dlya EHVМ No 2016613771 Programma prognozirovaniya serdechno-sosudistykh sobytij u pacientov s ostrym koronarnym sindromom / *Slatova L.N. (RF), Rubanenko A.O. (RF), Shchukin Yu.V. (RF)*. Zayavka No 2015662936, data postupleniya 21 dekabrya 2015 g., data gosudarstvennoj registracii v Reestre programm dlya EHVМ 06 aprelya 2016 g.]

12. *Monopoli D.E., Bertelli L., Sgura F.A., Politi L., Becirovic M., Iaccarino D., Lattanzi A., Kampino K., Gorlato G., Menozzi M., Modena M.G., Zennaro R.G., Rossi R.* Long term prognostic value of subclinical carotid and femoral arterial wall lesions in patients with ST-elevation myocardial infarction having percutaneous coronary intervention // *Am. J. Cardiol.* 2013. Vol. 111. P. 649–656. doi: <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2012.11.014>.

13. *Nicolaidis A.N., Shifrin E.G., Bradbury A., Dhanjil S., Griffin M.* Angiographic and duplex grading of internal carotid stenosis: Can we overcome the confusion? // *J. Endovasc. Surg.* 1996. No 3. P. 158–163. doi: [10.1583/1074-6218\(1996\)003<0158:AADGIC>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1583/1074-6218(1996)003<0158:AADGIC>2.0.CO;2).

14. *Савченко А.П. и др.* Интервенционная кардиология. Коронарная ангиография и стентирование: руководство. М.: ГЭОТАР Медиа, 2010. 448 с. [*Savchenko A.P. et al.* Intervencionnaya kardiologiya. Koronarnaya angiografiya i stentirovanie : rukovodstvo. Moscow: GEOTAR Media, 2010. 448 p.]

15. *Joosten M.M., Pai J.K., Bertoia M.L., Rimm E.B., Spiegelman D., Mittleman M.A., Mukamal K.J.* Associations between conventional cardiovascular risk factors and risk of peripheral artery disease in men // *JAMA.* 2012. Vol. 308. P. 1660–1667. doi: [10.1001/jama.2012.13415](https://doi.org/10.1001/jama.2012.13415).

16. *McDermott M.M.* Ankle-brachial index screening to improve health outcomes: Where is the evidence? // *Ann. Intern. Med.* 2013. Vol. 159. P. 362–363. doi: [10.7326/0003-4819-159-5-201309030-00012](https://doi.org/10.7326/0003-4819-159-5-201309030-00012).

17. *Lin J.S., Olson C.M., Johnson E.S., Whitlock E.P.* The ankle-brachial index for peripheral artery disease screening and cardiovascular disease prediction among asymptomatic adults: a systematic evidence review for the US Preventive Services Task Force // *Ann. Intern. Med.* 2013. Vol. 159. P. 333–341. doi: [10.7326/0003-4819-159-5-201309030-00007](https://doi.org/10.7326/0003-4819-159-5-201309030-00007)

18. *Celermajer D.S., Sorensen K.E., Gooch V.M., Spiegelhalter D.J., Miller O.I., Sullivan I.D., Lloyd J.K., Deanfield J.E.* Non-invasive detection of endothelial dysfunction in children and adults at risk of atherosclerosis // *Lancet.* 1992. Vol. 340. P. 1111–1115.

19. *Ультразвуковая диагностика сосудистых заболеваний* / под ред. В.П. Куликова. М.: СТРОМ, 2007. 512 с. [*Ul'trazvukovaya diagnostika sosudistykh zabolevanij* / pod red. V.P. Kulikova. Moscow: STROM, 2007. 512 p.]

20. *Балахонова Т.В., Козлов С.Г., Махмудова Х.А.* Ультразвуковая оценка атеросклероза сонных артерий и функции эндотелия у мужчин молодого и среднего возраста с ишемической болезнью сердца // *Кардиоваскуляр. терапия и профилактика.* 2009. Т. 8, No 5. С. 11–15. [*Balahonova T.V., Kozlov S.G., Mahmudova H.A.* Ul'trazvukovaya ocenka ateroskleroza sonnykh arterij i funkcii ehndoteliya u muzhchin mladogo i srednego vozrasta s ishemicheskoy bolezn'yu serdca, Kardiovaskulyar. terapiya i profilaktika. 2009. Vol. 8, No 5, pp. 11–15.]

21. *Granür M., Varpula M., Kahri J., Salonen R.M., Nyüssunen K., Nieminen M.S., Taskinen M.-R., Mikko Sydänne M.* Association of carotid intima-media thickness with angiographic severity and extent of coronary artery disease // *Am. J. Cardiol.* 2006. Vol. 97, No 5. P. 624–629. doi: <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2005.09.098>.

22. *Baldassarre D., Bondioli A., Amato M., Sirtori C.R., Tremoli E.* Carotid artery intima-media thickness measured by ultrasonography in normal clinical practice correlates well with atherosclerosis risk factors // *Stroke.* 2000. Vol. 31, No 10. P. 2426–2430.

23. *Selvin E., Coresh J., Golden S.H., Brancati F.L., Folsom A.R., Steffes M.W.* Glycemic control, atherosclerosis, and risk factors for cardiovascular disease in individuals with diabetes: the atherosclerosis risk in communities study // *Diabetes Care.* 2005. Vol. 28, No 8. P. 1965–1973. doi: [10.1001/archinte.165.16.1910](https://doi.org/10.1001/archinte.165.16.1910).

24. *Dijk J.M., vd Graaf Y., Bots M.L., Grobbee D.E., Algra A.* Carotid intima-media thickness and the risk of new vascular events in patients with manifest atherosclerotic disease: the SMART study // *European Heart Journal.* 2006. Vol. 27, No 16. P. 1971–1978. doi: [10.1093/eurheartj/ehl136](https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehl136).

25. Yang E.Y., Chambless L., Sharrett A.R., Virani S.S., Liu X., Tang Z., Boerwinkle E., Ballantyne C.M., Nambi N. Carotid arterial wall characteristics are associated with incident ischemic stroke but not coronary heart disease in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study // *Stroke*. 2012. Vol. 43 (1). P. 103–108. doi.org/10.1161/STROKEAHA.111.626200.
26. Pursnani S., Diener-West M., Sharrett A.R. The effect of aging on the association between coronary heart disease risk factors and carotid intima media thickness: an analysis of the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) cohort // *Atherosclerosis*. 2014. Vol. 233 (2). P. 441–446. doi: https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2013.12.046.
27. Lorenz M.W., Schaefer C., Steinmetz H., Sitzer M. Is carotid intima-media thickness useful for individual prediction of cardiovascular risk? Ten-year results from the Carotid Atherosclerosis Progression Study (CAPS) // *Eur. Heart J.* 2010. Vol. 31, No 16. P. 2041–2048. doi.org/10.1093/eurheartj/ehq189.
28. Balci D.D., Balci A., Karazincir S., Ucar E., Iyigun U., Yalcin F., Seyfeli E., Inandi T., Egilmez E. Increased carotid artery intima-media thickness and impaired endothelial function in psoriasis // *Journal European Academy of Dermatology and Venereology*. 2009. Vol. 23, No 1. P. 1–6. doi: 10.1111/j.1468-3083.2008.02936.x.
29. Сарвилина И.В., Каркищенко В.Н., Горикова Ю.В. Междисциплинарные исследования в медицине. М.: Техносфера, 2007. 368 с. [Sarvilina I.V., Karkishchenko V.N., Gorshkova Yu.V. Mezhdisciplinarnye issledovaniya v medicine. Moscow: Tekhnosfera, 2007. 368 p.]
30. Система цитокинов: теоретические и клинические аспекты / под ред. В.А. Козлова, С.В. Сеникова. Новосибирск: Наука, 2004. 324 с. [Sistema citokinov: teoreticheskie i klinicheskie aspekty / pod red. V.A. Kozlova, S.V. Sennikova. Novosibirsk: Nauka, 2004. 324 p.]
31. Manginas A., Bei E., Chaidaroglou A., Degiannis D., Koniavitou K., Voudris V., Pavlides G., Panagiotakos D., Cokkinos D.V. Peripheral levels of matrix metalloproteinase-9, interleukin-6, and C-reactive protein are elevated in patients with acute coronary syndromes: correlations with serum troponin I // *Clin. Cardiol.* 2005. Vol. 28. P. 182–186. doi: 10.1002/clc.4960280405.
32. Зыков М.В., Кашталап В.В., Зыкова Д.С., Каретникова В.Н., Тавлуева Е.В., Коломыцева И.С., Барбараш О.Л. Прогрессирование мультифокального атеросклероза после инфаркта миокарда // *Кардиология и сердечно-сосудистая хирургия*. 2013. No 3. С. 23–28. [Zykov M.V., Kashtalap V.V., Zyкова D.S., Karetnikova V.N., Tavluева E.V., Kolomyceva I.S., Barbarash O.L. Progressirovanie mul'tifokal'nogo ateroskleroza posle infarkta miokarda, Kardiologiya i serdechno-sosudistaya hirurgiya. 2013. No 3, pp. 23–28.]
33. Слатова Л.Н., Бойцова Е.Я. Значение маркеров субклинического воспаления, эндотелиальной дисфункции и фиброза миокарда в оценке прогноза у пациентов с инфарктом миокарда // *Материалы V Всероссийской конференции «Противоречия современной кардиологии: спорные и нерешенные вопросы» (21-22 октября 2016 года)*. Самара, 2016. С. 109–110. [Slatova L.N., Bojцова E.Ya. Znachenie markerov subklinicheskogo vospaleniya, ehndotelial'noj disfunkcii i fibroza miokarda v ocenke prognoza u pacientov s infarktom miokarda // Materialy V Vserossijskoj konferencii «Protivorechiya sovremennoj kardiologii: spornye i nereshennye voprosy» (21-22 oktyabrya 2016 goda). Samara, 2016. pp. 109–110.]
34. Шевченко О.П., Мишнев О.Д., Шевченко А.О., Трусов О.А., Слостникова И.Д. Ишемическая болезнь сердца. М.: Реафарм, 2005. 416 с. [Shevchenko O.P., Mishnev O.D., Shevchenko A.O., Trusov O.A., Slastnikova I.D. Ishemicheskaya bolezni' serdca. Moscow: Reafarm, 2005. 416 p.]
35. Бернс С.А., Зыкова Д.С., Шмидт Е.А., Юхно Е.С., Чувичкина О.В., Зыков М.В., Барбараш О.Л. Клиническая и прогностическая значимость мультифокального атеросклероза у больных с острым коронарным синдромом без подъема сегмента ST // *Кардиология*. 2012. No 7. С. 4–8. [Berns S.A., Zyкова D.S., Shmidt E.A., Yuhno E.S., Chuvichkina O.V., Zykov M.V., Barbarash O.L. Klinicheskaya i prognosticheskaya znachimost' mul'tifokal'nogo ateroskleroza u bol'nyh s ostrym koronarnym sindromom bez pod"ema segmenta ST, Kardiologiya. 2012. No 7. pp. 4–8.]
36. Kolodgie F.D., Gold H.K., Burke A.P., Fowler D.R., Kruth H.S., Weber D.K., Farb A., Guerrero L.J., Hayase M., Kutys R., Narula J., Finn A.V., Virmani R. Intraplaque hemorrhage and progression of coronary atheroma // *N. Engl. J. Med.* 2003. Vol. 349. P. 2316–2325. doi: 10.1056/NEJMoa035655.
37. Burke A.P., Taylor A., Farb A., Malcolm G.T., Virmani R. Coronary calcification: insights from sudden coronary death victims // *Z. Kardiol.* 2000. Vol. 89 (Suppl. 2). P. 49–53. doi.org/10.1007/s003920070099.
38. Grayburn P.A. Interpreting the coronary-artery calcium score // *N. Engl. J. Med.* 2012. Vol. 366 (4). P. 294–296. doi: 10.1056/NEJMp1110647.

39. Слатова Л.Н., Бойцова Е.Я. Динамика содержания провоспалительных цитокинов, маркеров эндотелиальной дисфункции и фиброза миокарда у пациентов с инфарктом миокарда и проведением первичного чрезкожного коронарного вмешательства // Российский национальный конгресс кардиологов: материалы конгресса. Екатеринбург, 2016. С. 447–448. [Slatova L.N., Bojtcova E.Ya. Dinamika sodержaniya provospalitel'nyh citokinov, markerov ehndotelial'noj disfunkcii i fibroza miokarda u pacien-tov s infarktom miokarda i provedeniem pervichnogo chrezkozhnogo koronarnogo vmeshatel'stva, Rossijskij nacional'nyj kongress kardiologov. Materialy kongressa. Ekaterinburg, 2016. pp. 447–448.]

40. Ridker P.M., Cook N.R. Statins: new American guidelines for prevention of cardiovascular disease // Lancet. 2013. Vol. 382, No 9907. P. 1762–1765. doi: 10.1016/S0140-6736(13)62388-0.

41. Бoleвич С.Б., Войнов В.А. Молекулярные механизмы в патологии человека: руководство для врачей. М.: МИА, 2012. 208 с. [Bolevich S.B., Vojnov V.A. Molekulyarnye mekhanizmy v patologii cheloveka: rukovodstvo dlya vrachej. Moscow: MIA, 2012. 208 p.]

42. Шахнович Р.М., Басинкевич А.Б., Руда М.Я. Роль инфекционного и воспалительного факторов в развитии острого коронарного синдрома // Сердечно-сосудистая патология. Современное состояние проблемы: сб. тр. к 80-летию акад. Е.И. Чазова. М., 2009. С. 343–363. [Shahnovich R.M., Basinkevich A.B., Ruda M.Ya. Rol' infekcionnogo i vospalitel'nogo faktorov v razvitii ostrogo koronarnogo sindroma // Serdechno-sosudistaya patologiya. Sovremennoe sostoyanie problemy: sb. tr. k 80-letiyu akad. E.I. Chazova. M., 2009. pp. 343–363.]

43. Панина А.В., Довгалевский Я.П., Пучиньян Н.Ф., Фурман Н.В. Обзор прогностических шкал оценки риска при ОКС [Электронный ресурс]. 2012. Режим доступа: <http://www.ambu03.ru/obzor-prognosticheskix-shkal-ocenki-riska-pri-oks>. Дата доступа: 02.03.2018. [Panina A.V., Dovgalevskij Ya.P., Puchin'yan N.F., Furman N.V. Obzor prognosticheskix shkal ocenki riska pri OKS [Ehlektronnyj resurs]. 2012. Rezhim dostupa: <http://www.ambu03.ru/obzor-prognosticheskix-shkal-ocenki-riska-pri-oks>. Data dostupa: 02.03.2018.]

44. Мальцева О.В., Сафиуллина З.М., Шалаев С.В. Прогностическая мощность различных моделей в определении уровня коронарного риска у больных с острым коронарным синдромом без стойких подъемов сегмента ST // Кардиология. 2012. No 4. С. 4–9. [Mal'ceva O.V., Safiullina Z.M., Shalaev S.V. Prognosticheskaya moshchnost' razlichnyh modelej v opredelenii urovnya koronarnogo riska u bol'nyh s ostrym koronarnym sindromom bez stojkih pod'emov segmenta ST, Kardiologiya. 2012. No 4. pp. 4–9.]

45. Lev E.I., Kornowski R., Vaknin-Assa H., Porter A. Comparison of the Predictive Value of Four Different Risk Scores for Outcomes of Patients With ST-Elevation Acute Myocardial Infarction Undergoing Primary Percutaneous Coronary Intervention. // Am. J. Cardiol. 2008. Vol. 102. P. 6–11. doi: <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2008.02.08>.

46. Зыков М.В., Кашталап В.В., Зыкова Д.С., Каретникова В.Н., Тавлуева Е.В., Коломыцева И.С., Барбараш О.Л. Прогнозирование осложнений инфаркта миокарда в течение одного года наблюдения // Сибирский медицинский журнал (Томск). 2011. Т. 26, No 4. С. 41–46. [Zykov M.V., Kashtalap V.V., Zyкова D.S., Karetnikova V.N., Tavluева E.V., Kolomyceva I.S., Barbarash O.L. Prognozirovaniye oslozhnenij infarkta miokarda v techenie odnogo goda nablyudeniya, Sibirskij medicinskij zhurnal (Tomsk). 2011. Vol. 26, No 4. pp. 41–46.]

47. Halkin A., Singh M., Nikolsky Eu., Grines C.L., Tchong J.E., Garcia E., Cox D.A., Turco M., Stuckey T.D., Lansky A.J., Gersh B.J., O'Neill W.W., Mehran R., Stone G.W. Prediction of Mortality After Primary Percutaneous Coronary Intervention for Acute Myocardial Infarction: The CADILLAC Risk Score // J. Am. Coll. Cardiol. 2005. Vol. 45, No 9. P. 1397–1405. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2005.01.041>.

48. Yan A.T., Yan R.T., Tan M., Casanova A., Labinaz M., Sridhar K., Fitchett D.H., Langer A., Goodman S.G. Risk scores for risk stratification in acute coronary syndromes: useful but simpler is not necessarily better // Eur. Heart. J. 2007. Vol. 28 (9). P. 1072–1078. DOI: 10.1093/eurheartj/ehm004.

49. Российский регистр острых коронарных синдромов (РЕКОРД) [Электронный ресурс]. 2011. Режим доступа: <http://www.acs-registry.ru/rekord2.html>. Дата доступа: 02.03.2018.

50. Subherwal S., Bach R.G., Chen A.Y., Gage B.F., Rao S.V., Newby L.K., Wang T.Y., Gibler W.B., Ohman E.M., Roe M.T., Pollack C.V., Peterson E.D., Alexander K.P. Baseline Risk of Major Bleeding in Non-ST-Segment-Elevation Myocardial Infarction // Circulation. 2009. Vol. 119. P. 1873–1882. doi: [10.1161/CIRCULATIONAHA.108.828541](https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.108.828541).

51. Новикова Е.С., Комаров А.А., Гуськова Е.В. Достаточно ли шкалы syntax для оценки риска больных, подвергаемых плановым чрескожным // Атеротромбоз. 2017. No 1. С. 80–93. [Novikova E.S.,

Komarov A.L., Gus'kova E.V. Dostatochno li shkaly syntax dlya ocenki riska bol'nyh, podvergaemyh planovym chreskozhnym, Aterotromboz. 2017. No 1. pp. 80–93.]

52. SYNTAX score [Электронный ресурс]. 2018. Режим доступа: <http://www.syntaxscore.com/>. Дата доступа: 02.03.2018.

53. *Фролов А.А., Шарабрин Е.Г., Фомин И.В., Починка И.Г.* Прогностическая ценность Шкал Myocardial Jeopardy Score и Syntax Score в отношении исходов чрезокожных коронарных вмешательств у пациентов с инфарктом миокарда с подъемом сегмента St // Медицинский альманах. 2016. No 4 (44). С. 127–130. [*Frolov A.A., Sharabrin E.G., Fomin I.V., Pochinka I.G.* Prognosticheskaya cennost' Shkal Myocardial Jeopardy Score i Syntax Score v otnoshenii iskhodov chrezkozhnyh koronarnyh vmeshatel'stv u pacientov s infarktom miokarda s pod'emom segmenta St, Medicinskij al'manah. 2016. No 4 (44). pp. 127–130.]

54. *De Silva K., Morton G., Sicard P., Chong E., Indermeuhle A., Clapp B., Thomas M., Redwood S., Perera D.* Jeopardy Score coronary intervention: utility of the BCIS-1 predicts mortality following percutaneous 33 Completeness of revascularisation // Heart. 2011. Vol. 97. A24. doi: 10.1136/heartjnl-2011-300198.33.

55. *Панина А.В., Довгалецкий Я.П., Долотовская П.В., Фурман Н.В., Пучиньян Н.Ф.* Прогностическое значение уровня гликемии у больных инфарктом миокарда с подъемом сегмента ST, Кардиология: от науки — к практике: Материалы Российского национального конгресса кардиологов. СПб., 2013. С. 420. [*Panina A.V., Dovgalevskij YA.P., Dolotovskaya P.V., Furman N.V., Puchin'yan N.F.* Prognosticheskoe znachenie urovnya glikemii u bol'nyh infarktom miokarda s pod'emom segmenta ST // Kardiologiya: ot nauki — k praktike: Materialy Rossijskogo nacional'nogo kongressa kardiologov. St. Petersburg, 2013. 420 p.]

56. *Панина А.В., Пучиньян Н.Ф., Довгалецкий Я.П., Фурман Н.В., Долотовская П.В., Малинова Л.И.* Риск развития повторных тромботических событий у больных острым коронарным синдромом с высоким уровнем D-димера в плазме крови // Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2013. No 4. С. 26–31. doi: <http://dx.doi.org/10.15829/1728-8800-2013-4-26-31>. [*Panina A.V., Puchin'yan N.F., Dovgalevskij YA.P., Furman N.V., Dolotovskaya P.V., Malinova L.I.* Risk razvitiya povtornyh tromboticheskikh sobytij u bol'nyh ostrym koronarnym sindromom s vysokim urovnem D-dimera v plazme krovi, Kardiovaskulyarnaya terapiya i profilaktika. 2013. No 4. pp. 26–31. doi: <http://dx.doi.org/10.15829/1728-8800-2013-4-26-31>.]

57. *Михайлова Э.Д., Шаленкова М.А., Манюкова Э.Т.* Острый коронарный синдром без подъема сегмента ST: возможности прогнозирования течения на госпитальном этапе // Лечение и профилактика. 2015. No 3 (15). С. 17–22. [*Mihajlova Z.D., Shalenkova M.A., Manyukova Eh.T.* Ostryj koronarnyj sindrom bez pod'ema segmenta ST: vozmozhnosti prognozirovaniya techeniya na gospital'nom ehtape, Lechenie i profilaktika. 2015. No 3 (15). pp. 17–22.]

Поступила в редакцию: 28.04.2018 г.

Контакт: Прудников Александр Русланович, prudnikov92@yandex.ru

Сведения об авторах:

Прудников Александр Русланович — аспирант кафедры внутренних болезней, магистр медицинских наук УО «Витебский государственный медицинский университет», г. Витебск; 210023, Республика Беларусь, г. Витебск, пр-т Фрунзе, д. 27; e-mail: prudnikov92@yandex.ru;

Шупакова Алина Николаевна — доктор медицинских наук, профессор, проректор по лечебно-фармацевтической и работе и последипломному образованию, профессор кафедры внутренних болезней УО «Витебский государственный медицинский университет»; 210023, Республика Беларусь, г. Витебск, пр-т Фрунзе, д. 27.

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК 616.891.6:534.75

БИОАКУСТИЧЕСКОЕ ПРЕКОНДИЦИОНИРОВАНИЕ ТЯЖЕЛОЙ ПСИХОГЕННОЙ ТРАВМЫ

Т.В. Авалиани, А.В. Быкова, Н.Н. Ключева, Н.К. Апраксина, С.Г. Цикунов
ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

BIOACOUSTIC PRECONDITIONING OF SEVERE PSYCHOGENIC TRAUMA

T.V. Avaliani, A.V. Bykova, N.N. Klyueva, N.K. Apraksina, S.G. Tsikunov
FSBSI «Institute of Experimental Medicine», St. Petersburg, Russia

© Коллектив авторов, 2018 г.
© A team of authors, 2018.

У крыс витальный стресс вызывает грубые нарушения поведения и изменения липидного спектра плазмы крови. Цель данного исследования: разработать способ прекондиционирования для снижения постстрессовых расстройств. Суть данного метода заключается в прослушивании животным электрокортикограммы сородича, записанной во время переживания витального стресса и преобразованной в звуки музыкального диапазона. Сеансы биоакустического воздействия достоверно снижают грубые нарушения поведения и предотвращают изменения липидного спектра при последующем витальном стрессе.

Ключевые слова: психогенная травма, биоакустическое воздействие, прекондиционирование, стресс-музыка, крысы.

Rat vital stress causes severe behavioral disorders and changes in the lipid spectrum of blood serum. The purpose of this study is to develop a method of preconditioning to reduce post-stress disorders. The essence of this method consists in listening by an animal to an electrocorticoogram of a congener recorded during the experience of vital stress and converted into sounds of the musical range. Sessions of bioacoustic exposure significantly reduce gross behavioral disorders and prevent changes in the lipid spectrum with subsequent vital stress.

Key words: psychogenic trauma, bioacoustic influence, preconditioning, stress music, rats.

Введение. Посттравматическое стрессовое расстройство (ПТСР) — это тревожная патология, отсроченная затяжная реакция на переживание чрезмерных по силе эмоционально травмирующих обстоятельств, ассоциирующихся с угрозой жизни. В экспериментах на животных показано, что стресс, вызванный переживанием обстоятельств гибели партнера от действий хищника, приводит к длительно сохраняющимся нарушениям поведения и изменениям спектра липидов плазмы крови по атерогенному типу, что рассматривается как модель ПТСР [1, 2]. В условиях индуцированной ПТСР было выявлено, что биоакустическое воздействие нормализует поведенческие проявления и спектр липидов в крови и печени крыс [3, 4]. Следовательно, звуковая стимуляция является значимой и влияет на поведение и обменные процессы у стрессированных животных.

Цель исследования: анализ влияния биоакустических воздействий, предваряющих витальный стресс, на поведенческие проявления и спектр липидов плазмы крови у крыс.

Материалы и методы исследования. Исследования проведены на крысах-самках породы Вистар (n=45): крысы, подвергнутые витальному стрессу, связанному с угрозой жизни, крысы после сеансов биоакустического воздействия (S-музыка) и крысы, которые после сеансов S-музыки переживали витальный стресс. Контролем служили интактные животные (n=10). Витальный стресс моделировали помещением животных в террариум с питоном, где крысы наблюдали гибель одной из особей. S-музыка представляла собой запись электрокортикограммы (ЭКoГ) крысы через 2 часа после витального стресса от правой затылочной области, когда в ЭКoГ наблюдались наиболее выраженные изменения. Регистрацию

и преобразование ЭКоГ в звуки музыкального диапазона проводили с помощью компьютерного комплекса «Синхро-С» («СинКор», Россия).

Преобразование ЭКоГ в акустический образ осуществлялось на основе операции согласования значений периодов колебаний ЭКоГ со множеством звуковых аудиофрагментов в цифровом формате, где каждому периоду колебания в диапазоне от 1 до 30 Гц соответствовал звуковой фрагмент с определенной частотой основного тона. Этот аудиофрагмент записывался в виде файла на компьютер [5]. Интактным крысам давали прослушивать эту запись в течение 20 мин ежедневно (курс 5 дней). Через 10 дней после курса пре кондиционирования (сеансы S-музыки) крысы подвергали витальному стрессу.

За 2 недели до и через 3–4 дня после стрессорных воздействий крыс тестировали в «Открытом поле». Оценивали эмоциональное поведение — акты «груминг», «вертикальная стойка»; двигательное поведение — акты «локомоция», «сидит», «движение на месте», «фризинг»; исследовательское поведение — акты «норка», «стойка с упором», «обнюхивание» и суммарное количество актов. За сутки до забора крови у крыс забирали корм. Анализ липидного спектра в сыворотке крови проводился до и после воздействий. Холестерин (ХС), триглицериды (ТГ) и холестерин липопротеидов высокой плотности (ХС ЛПВП) определяли ферментативным методом, используя наборы фирмы Randox (Англия). При анализе поведения и уровня липидов использовали непараметрический тест Манна–Уитни с уровнем надежности $p \leq 0,05$.

Животных содержали в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных целей (European Communities Council Directives of 24 November, 1986, 86/609/ЕЕС).

Результаты. Общее количество поведенческих актов в тесте «Открытое поле» у контрольных крыс составляло 198 ± 20 , а у крыс после витального стресса — 130 ± 27 , т.е. было достоверно ниже контроля ($p \leq 0,01$). После биоакустических сеансов общая активность у крыс была выше контрольных показателей и составляла в среднем 232 ± 13 актов за 3-минутный период регистрации ($p \leq 0,05$). У этих же крыс, подвергнутых в дальнейшем витальному стрессу, общее количество актов достоверно не отличалось от контроля (175 ± 21 актов).

Витальный стресс приводил к изменению структуры поведения (рис. 1). Уменьшалась доля исследовательского и активного двигательного поведения, увеличилась доля актов, характеризующих пассивное поведение. Сеансы S-музыки привели к увеличению актов, характеризующих эмоциональное поведение — прежде всего это акты «груминг», и снижению локомоторной активности. У этих крыс последующий витальный стресс в меньшей степени влиял на структуру поведения, чем у животных, переживающих стресс впервые.

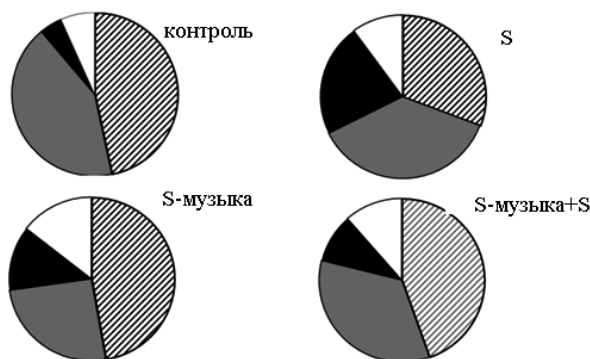


Рис. 1. Структура поведения в тесте «Открытое поле» у контрольных и экспериментальных крыс. S — витальный стресс; S-музыка — акустическое воздействие; белый сектор — эмоциональное поведение, серый — активное двигательное, черный — пассивное двигательное, заштрихованный — исследовательское поведение.

Количество и длительность актов животных в тесте «Открытое поле» представлены в табл. 1 и 2.

Таблица 1

Количество актов поведения в тесте «Открытое поле» у контрольных и экспериментальных крыс

| Группа | Исследовательское поведение | Двигательное поведение | | Эмоциональное поведение |
|-------------------|-----------------------------|------------------------|-----------------|-------------------------|
| | | активное | пассивное | |
| Контроль | 84 ± 4 | 76 ± 5 | 8 ± 1 | 12 ± 6 |
| S-музыка | 85 ± 7 | $36 \pm 21^*$ | $23 \pm 4^*$ | 26 ± 8 |
| Стресс | $55 \pm 9^{**}$ | 66 ± 17 | $40 \pm 6^{**}$ | 18 ± 3 |
| S-музыка + стресс | 78 ± 9 | 60 ± 9 | 17 ± 9 | 20 ± 5 |

Уровень значимости по сравнению с контролем: * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$.

Таблица 2

Общая длительность актов поведения в тесте «Открытое поле» у контрольных и экспериментальных крыс

| Группа | Исследовательское поведение, с | Двигательное поведение, с | | Эмоциональное поведение, с |
|-------------------|--------------------------------|---------------------------|------------|----------------------------|
| | | активное | пассивное | |
| Контроль | 75,6±8,4 | 85,8±5,1 | 9,1±1,5 | 15,4±2,6 |
| S-музыка | 82,2 ±2,2 | 72,5±9,8* | 13,6±2,2* | 20,2±2,2** |
| Стресс | 80,9±2,4 | 54,7±9,6** | 15,9±3,4** | 21,1±1,9** |
| S-музыка + стресс | 80,3±5,2 | 58,8±16,0* | 11,6±1,7 | 22,8 ±4,6* |

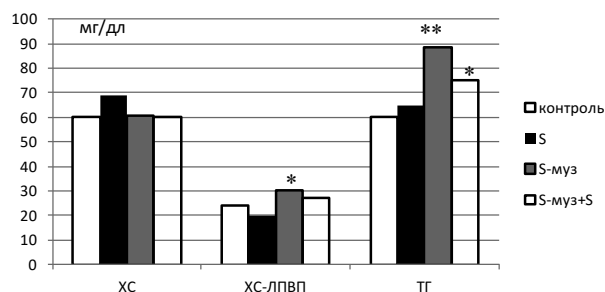
Уровень значимости по сравнению с контролем: * $p \leq 0,05$; ** $p < 0,01$.

Количество актов исследовательского поведения было снижено по сравнению с контролем только после витального стресса (табл. 1). После сеансов звукового воздействия и при последующем витальном стрессе исследовательское поведение по сравнению с контрольными показателями достоверно не изменено. У крыс в модели витального стресса выявлено уменьшение времени, которое крысы затрачивали на активные двигательные акты и увеличено время пассивного двигательного поведения (табл. 2).

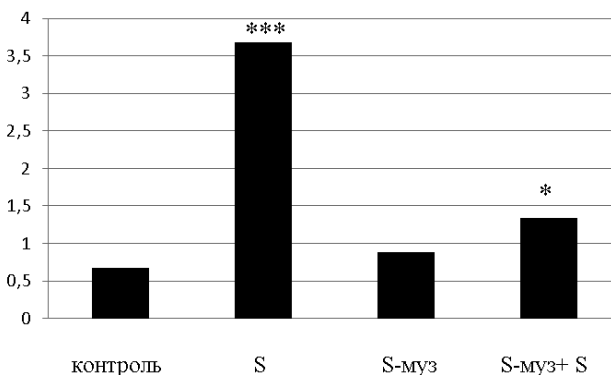
При этом количество актов, характеризующих локомоторную активность, достоверно не отличалось от контроля (см. табл. 1). Показатели пассивного двигательного поведения у экспериментальных крыс были также выше контроля при прослушивании S-музыки, но в меньшей степени ($p \leq 0,05$), чем при витальном стрессе.

Общий холестерин по сравнению с контролем увеличивался у крыс только после витального стресса. Сеансы S-музыки приводили к увеличению триглицеридов в плазме крови, и их высокий уровень сохранялся после последующего витального стресса (рис. 2, а). Для крыс, переживших витальный стресс, характерно снижение ХС-ЛПВП, что отражалось в увеличении коэффициента атерогенности (рис. 2, б).

Сеансы S-музыки не вызывали увеличения коэффициента атерогенности. Данный показатель после последующего витального стресса был выше контроля, но более чем в два раза ниже, чем у крыс, которые пережили только витальный стресс (см. рис. 2, б).



а



б

Рис. 2. Липидный спектр плазмы крови у крыс в моделях экспериментального стресса (а) и коэффициент атерогенности (б). S — витальный стресс, S-муз — акустическое воздействие; Кат=(ХСобщ - ХСлпвп)/ХСлпвп; уровень значимости по сравнению с контролем: * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$; *** $p \leq 0,001$.

Заключение. Функциональная пластичность механизма отрицательных эмоций при стресс-зависимых формах поведения является фундаментальным свойством центральной нервной системы, лежащим в основе нейрофизиологических процессов, обеспечивающих индивидуальную адаптацию [6, 7]. У здоровых крыс любое биоакустическое воздействие изменяет двигательное и эмоциональное поведение [3]. Музыкальное или музыкоподобное воздействие, организуемое в строгом соответствии с динамическими характеристиками мозга, способно индуцировать в мозге нейропластические перестройки [8]. Особенно выраженные эффекты отмечаются при увеличении музыкальности воздействий за счет придания им свойства ритмичности [9]. В нашем исследовании животные прослушивали преобразованную в звуки музыкального диапазона электрокортикограмму пережившего витальный стресс сородича. Преобразование ЭКГ осуществлялось на основе операции согласования колебаний ЭКГ, где каждому периоду колебания соответствовал звуковой фрагмент с определенной частотой ос-

новного тона. Запись ЭКГ проводили через два часа после витального стресса. В этот период выявлялись наиболее выраженные нарушения в биоэлектрической активности мозга: увеличение индекса дельта-ритма в обеих затылочных и в правой лобной областях, а также нарушение межструктурных связей между затылочными и лобными областями мозга [10, 11].

Акустическое воздействие может вызывать у животных «звуковое возбуждение», которое через ряд подкорковых образований достигает коркового конца слухового анализатора, в котором звуковое

раздражение создает патологический очаг возбуждения. Однако, как отмечается, при систематическом воздействии звуком аудиогенная судорожная чувствительность снижается [12]. По всей видимости, в нашем исследовании умеренная стрессорная нагрузка активизирует стресс-лимитирующие системы и подготавливает животных к переживанию последующего витального стресса. Для повышения устойчивости особей к воздействию стресса, связанного с угрозой жизни, целесообразно использовать предварительные сеансы стресс-музыки, как способ прекондиционирования.

Литература

1. Цикун С.Г., Ключева Н.Н., Кусов А.Г., Виноградова Т.В., Клименко В.М., Денисенко А.Д. Изменение липидного спектра сыворотки крови и печени крыс, вызванные тяжелой психогенной травмой // Бюлл. экпер. биол. и мед. 2006. Т. 141, No 5. С. 575–578. [Tsikunov S.G., Klyueva N.N., Kusov A.G., Vinogradova T.V., Klimenko V.M., Denisenko A.D. The change in the lipid spectrum of blood serum and liver of rats caused by severe psychogenic trauma, Bull. exper. biologist. and medicine, 2006, Vol. 141, No 5, pp. 575–578].
2. Цикун С.Г., Пшеничная А.Г., Ключева Н.Н., Виноградова А.Д., Денисенко А.Д. Витальный стресс вызывает длительные расстройства поведения и обмена липидов у самок крыс // Обзоры по клин. фармакол. и лекарств. терапии. 2016. Т. 14, No 4. С. 32–41. [Tsikunov S.G., Pshenichnaya A.G., Klyueva N.N., Vinogradova T.V., Denisenko A.D. Vital stress causes long-lasting disturbances of behavior and lipid metabolism in female rats, Reviews on clinical pharmacology and drug therapy, 2016, Vol. 14, No 4, pp. 32–41].
3. Авалиани Т.В., Константинов К.В., Быкова А.В., Апраксина Н.К., Цикун С.Г. Коррекция функционального состояния самок крыс методом ЭЭГ-зависимого акустического воздействия в модели витального стресса // Нейрокомпьютеры. 2014. No 7. С. 5–11. [Avaliani T.V., Konstantinov K.V., Bykova A.V., Apraksina N.K., Tsikunov S.G. Correction of the functional state of female rats by the method of EEG-dependent acoustic impact in the model of the vital stress. Neurocomputers, 2014, No 7, pp. 5–11].
4. Ключева Н.Н., Апраксина Н.К., Авалиани Т.В., Парфенова Н.С., Никулечева Н.Г. Поведение и липидные показатели у крыс самок при биоакустической коррекции // Биомед. радиоэлектроника. 2015. No 4. С. 42–44. [Klyueva N.N., Apraksina N.K., Avaliani T.V., Parfenova N.S., Nikulicheva N.D. Behavior and lipid parameters in female rats with bioacoustic correction, Biomed. radio electronics, 2015, No 4, pp. 42–44].
5. Константинов К.В. Способ нормализации психофизиологического состояния. Патент No 2410025 от 17.02.2009 [Konstantinov K.V. Method of normalization of psychophysiological state. Patent No 2410025 from 17.02.2009].
6. Маслова Л.Н., Булыгина В.В., Амстиславская Т.Г. Длительная социальная изоляция и социальная нестабильность в подростковом возрасте у крыс: непосредственные и отдаленные физиологические и поведенческие эффекты // Журнал высшей нервной деятельности. 2009. Т. 59. No 5. С. 598–609. [Maslova L.N., Bulygina V.V., Amstislavskaya T.G. Chronic social isolation and social instability in pubertate period in rats: direct and delayed physiological and behavioral effects. Zhurnal vysshei nervnoi deyatelnosti, 2009, Vol. 59, No 5, pp. 598–609].
7. Amiri S, Haj-Mirzaian A, Rahimi-Balaei M, Razmi A, Kordjazy N. Cooccurrence of anxiety and depressive-like behaviors following adolescent social isolation in male mice; possible role of nitrgicsystem // Physiol Behav. 2015. Vol. 145. P. 38–44.
8. Koob G.F. Dynamics of neuronal circuits in addiction: reward, antireward and emotional memory // Pharmacopsychiatry. 2009. Vol. 42, Suppl. 1. P. 32–41.
9. Федотчев А.И., Бондарь А.Т., Бахчина А.В., Парин С.Б., Полевая С.А., Радченко Г.С. Эффекты музыкально-акустических воздействий, управляемых ЭЭГ осцилляторами субъекта // Росс. физиолог. журн. им. И.М. Сеченова. 2015. Т. 101, No 8. С. 970–977. [Fedotchev A.I., Bondar A.T., Bajcina A.V., Parin S.B., Polevaya S.A., Radchenko G.S. Effects of musical-acoustic influences, man-

aged EEG oscillators of the subject, *Ross. physiologist. Journ. Sechenov's name*, 2015, Vol. 101, No 8, pp. 970–977].

10. *Апраксина Н.К., Авалиани Т.В., Цикунов С.Г.* Динамика ЭКоГ-показателей самок крыс во время и после витального стресса // *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. 2018. Т. 16. Спецвыпуск 1. С. 14–15 [*Apraksina N.K., Avaliani T.V., Tsikunov S.G.* Dynamics of ECoG-indices of female rats during and after vital stress. *Clinical pharmacist reviews and medicine therapies*, 2018, Vol. 16, special issue 1, pp. 14–15].

11. *Авалиани Т.В., Апраксина Н.К., Константинов К.В., Цикунов С.Г.* Пространственно-временная организация биоэлектрической активности мозга у потомства от крыс, переживших витальный стресс // *Росс. физиол. журнал им. И.М. Сеченова*. 2016. Т. 102, No 12. С. 1433–1443 [*Avaliani T.V., Apraksina N.K., Konstantinov K.V., Tsikunov S.G.* Spatio-temporal organization of brain bioelectrical activity in offspring from rats that survived vital stress, *Ross. physiologist. Journ. I.M. Sechenov's name*, 2016, Vol. 102, No 12, pp. 1433–1443].

12. *Батуев А.С., Брагина Т.А., Александров А.С., Рябинская Е.А.* Аудиогенная эпилепсия: морфофункциональный анализ // *Журнал высшей нервной деятельности*. 1997. Т. 47, вып. 2. С. 431–438. [*Batuev A.S., Bragina T.A., Alexandrov A.S., Ryabinskaya E.A.* Audiogenic epilepsy: morphofunctional analysis. *Zhurnal vysshei nervnoi deyatelnosti*, 1997, Vol. 47, issue 2, pp. 431–438].

Поступила в редакцию: 28.04.2018 г.

Контакт: *Авалиани Татьяна Варламовна*, tanaavaleeani@mail.ru

Сведения об авторах:

Авалиани Татьяна Варламовна — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, Физиологический отдел им. И.П. Павлова, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»; 197376, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 12; e-mail: tanaavaleeani@mail.ru;

Быкова Алина Владимировна — лаборант-исследователь, Физиологический отдел им. И.П. Павлова, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»; 197376, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 12;

Клюева Наталья Николаевна — кандидат биологических наук, научный сотрудник отдела биохимии, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»; 197376, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 12; e-mail: nnklyueva@gmail.com;

Апраксина Наталия Константиновна — кандидат биологических наук, научный сотрудник, Физиологический отдел им. И.П. Павлова, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»; 197376, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 12; e-mail: natalapraksina@mail.ru;

Цикунов Сергей Георгиевич — доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией психофизиологии эмоций, Физиологический отдел им. И.П. Павлова, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»; 197376, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 12; e-mail: secikunov@yandex.ru.

УДК 616.895; 577.25; 57.017.32; 616-092.9

ДИСТАНТНОЕ ИШЕМИЧЕСКОЕ ПРЕ- И ПОСТКОНДИЦИОНИРОВАНИЕ НИВЕЛИРУЕТ ОТСРОЧЕННУЮ ЭКСПРЕССИЮ HIF-1 α В ГИППОКАМПЕ КРЫС ПРИ КОРРЕКЦИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ПОСТТРАВМАТИЧЕСКОГО СТРЕССОВОГО РАССТРОЙСТВА

К.А. Баранова, Е.А. Рыбникова

ФГБУН «Институт физиологии им. И.П. Павлова» РАН, Санкт-Петербург, Россия

REMOTE ISCHEMIC PRE- AND POSTCONDITIONING ABOLISHED DELAYED HIF-1 α EXPRESSION IN THE RAT HIPPOCAMPUS ALONGSIDE WITH THE CORRECTION OF EXPERIMENTAL POST-TRAUMATIC STRESS DISORDER

К.А. Baranova, E.A. Rybnikova

FSBSI "Pavlov Institute of Physiology of the Russian Academy of Sciences", St. Petersburg, Russia

© К.А. Баранова, Е.А. Рыбникова, 2018 г.

© К.А. Baranova, E.A. Rybnikova, 2018.

Цель работы. Исследовать эффект дистантного ишемического пре- и посткондиционирования, предотвращающего формирование экспериментального посттравматического стрессорного расстройства (ПТСР) у крыс, на динамику экспрессии регуляторной α -субъединицы гипоксия-индуцибельного фактора HIF-1 в гиппокампе. **Материалы и методы.** Иммуногистохимическим методом количественно оценивали уровень иммунореактивного HIF-1 α в гиппокампе животных, подвергшихся стрессированию в парадигме «травматический стресс-рестресс», и при применении трехкратной дистантной ишемии конечности, предотвращающей формирование тревожной патологии в данной модели. **Результаты.** Формирование ПТСР-подобного состояния у крыс сопровождалось значительным и устойчивым (до 10 сут после рестресса) повышением уровня иммунореактивного HIF-1 α в области CA1 и в зубчатой извилине гиппокампа. Дистантная кондиционирующая ишемия, применяемая перед травматическим стрессом (прекондиционирование) или после рестресса (посткондиционирование), не влияла на индукцию HIF-1 α в ранний период (1-е сутки), однако нивелировала сверхэкспрессию данного фактора в отдаленные сроки (5–10-е сутки). **Заключение.** Полученные факты подтверждают выдвинутую нами ранее гипотезу о патогенетической роли повышенной активности фактора HIF-1 в отсроченный период формирования постстрессорных тревожно-депрессивных состояний, а также свидетельствуют о том, что нормализация отдаленных нарушений экспрессии HIF-1 α , очевидно, является ключевым звеном стресс-протективных эффектов дистантного ишемического кондиционирования.

Ключевые слова: HIF-1 α , посттравматическое стрессовое расстройство, ПТСР, дистантное ишемическое пре- и посткондиционирование, анксиолитический эффект, стресс-протективное действие.

Aims of the study. To examine effects of remote ischemic pre- and postconditioning which prevents development of the experimental post-traumatic stress disorder (PTSD) in rats on the dynamics of expression of regulatory α -subunit of hypoxia-inducible factor (HIF-1 α) in hippocampus. **Materials and methods.** Using immunohistochemistry method, the level of HIF-1 α immunoreactivity has been quantitatively assessed in the hippocampus of animals exposed to stressors in the "traumatic stress-restress" paradigm, and by using the three-time remote limb ischemia which prevented the formation of anxiety pathology in this model. **Results.** Development of the PTSD-like pathology in rats was accompanied by considerable and persistent (up to 10 days after restress) up-regulation of HIF-1 α immunoreactivity level in the CA1 field and dentate gyrus of hippocampus. Conditioning remote ischemia applied before traumatic stress (preconditioning) or following restress (postconditioning) did not affect early post-stress induction of HIF-1 α (the first day) but abolished the delayed overexpression of this factor (5–10 days). **Conclusions.** The data obtained support our recent hypothesis on the pathogenic role of increased HIF-1 factor activity for the development of stress-related anxiety and depressive disorders within the delayed time-period. This also gives evidence to the fact that normalization of delayed violations of HIF-1 α expression is obviously the key link of stress-protective effects of remote ischemic conditioning.

Key words: HIF-1 α , post-traumatic stress disorder, PTSD, remote ischemic preconditioning and postconditioning, anxiolytic effect, stress-protective action.

Введение. Посттравматическое стрессовое расстройство (ПТСР) — это тревожная патология, развивающаяся как затяжная реакция на переживание сверхинтенсивных стрессовых событий, связанных с реальной или воспринимаемой угрозой жизни. Одной из наиболее общепринятых и этиологически-обоснованных экспериментальных моделей ПТСР на животных является парадигма «травматический стресс-рестресс» [1], в которой ПТСР-подобное состояние у крыс возникает в результате последовательного действия двух стрессов. Первый — тяжелый комбинированный («травматический») стресс (ТС), за которым спустя 7 сут с целью напоминания о психотравмирующем воздействии предъясняется мягкий стресс («рестресс»). Согласно современным представлениям, ТС является патогенным фактором, повышающим реактивность нервной и нейроэндокринной системы на последующий рестресс, тогда как последний выполняет роль триггера для проявления характерной для ПТСР симптоматики, в том числе повышения уровня тревожности и специфических гормональных нарушений (снижение базального уровня глюкокортикоидных гормонов в крови и включение «быстрой» обратной связи — феномен *fast feedback*) [1–3]. В связи с постоянно возрастающей распространенностью ПТСР и высокими рисками его возникновения в современном мире, полном экстремальных воздействий различной природы, раскрытие патогенетических механизмов ПТСР и разработка эффективных способов и средств его терапии представляют собой крайне актуальную проблему для медицины и биомедицинских исследований. В этом отношении исследования в экспериментальных моделях на животных открывают широкие возможности и перспективы.

В течение ряда лет нами проводятся исследования по поиску эффективных немедикаментозных способов коррекции ПТСР-подобного состояния в моделях на крысах и выявлению церебральных и нейроэндокринных механизмов данных протективных воздействий. Было впервые показано, что гипоксия-индуцибельный фактор HIF-1 способен активироваться не только в гипоксических условиях, как полагали ранее, но и в ответ на такие негипоксические воздействия, как психоэмоциональные стрессы, причем стойкая ап-регуляция регуляторной субъединицы HIF-1 α в гиппокампе и неокортексе в отдаленный постстрессовый период сопровождала формирование тревожно-депрессивных состояний в моделях депрессии и ПТСР у крыс. Более того, коррекция этих

патологических состояний путем применения гипоксии-гипобарического кондиционирования приводила к нормализации отдаленной сверхэкспрессии HIF-1 α [4, 5]. Являясь эффективным нейропротективным воздействием, гипоксии-гипобарическое кондиционирование тем не менее представляет собой не очень удобный с точки зрения внедрения в широкую медицинскую практику способ, поскольку требует проведения достаточно интенсивных гипоксических сеансов в барокамере («подъемы» на условную высоту 5 км). Более перспективным в этом отношении считается создание дистантной ишемии конечности, также оказывающей значительное нейропротективное действие при ишемических, травматических и других нарушениях [6–8].

В наших работах недавно было обнаружено, что интервальная дистантная ишемия конечности в режиме пре- и посткондиционирования оказывает выраженный стресс-протективный эффект в модели «травматический стресс-рестресс», предотвращая формирование экспериментального ПТСР [9].

Цель исследования: анализ возможного участия фактора HIF-1 в механизмах формирования адаптивных реакций при дистантном кондиционировании в экспериментальной модели ПТСР. Оценивали динамику экспрессии HIF-1 α в разных областях гиппокампа (поле CA1 и зубчатая извилина) при коррекции ПТСР-подобного состояния применением дистантного ишемического пре- и посткондиционирования у крыс.

Материалы и методы исследования. Исследование выполнено на 60 взрослых самцах крыс линии Вистар массой около 200 г из Биокolleкции «Коллекция лабораторных млекопитающих разной таксономической принадлежности» ИФ РАН, поддержанной программой биоресурсных коллекций ФАНО России. При проведении экспериментов соблюдались требования, сформулированные в Директиве 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета ЕС по охране животных, используемых в научных целях. Крыс разделили на контрольную (6 животных) и три экспериментальных группы по 18 животных в каждой. У животных группы «ТС-Р» индуцировали аналог посттравматического стрессового расстройства (ПТСР), используя модель «травматический стресс — рестресс» [1], которая включала тяжелый патогенный травматический стресс (2 ч иммобилизации, 20 мин вынужденного плавания и после 15-минутного перерыва — воздействие эфиром до обездвиживания) и через 7 суток — напоминающий рестресс (30 мин иммобилиза-

ции), запускающий проявление симптоматики тревожного патологического состояния. Крыс 2-й и 3-й экспериментальных групп дополнительно подвергали воздействию дистантной ишемии конечности — трехкратному пятиминутному пережатию задней конечности на уровне верхней трети бедра с помощью нейлоновых жгутов с реперфузионными перерывами в 15 мин. Животным группы «дпТС-Р» трехкратную ишемизацию конечности осуществляли в режиме прекондиционирования перед стрессированием в модели ПТСП, последний сеанс за 15 мин до начала ТС. Крысы из группы «ТС-Рдп» подвергались действию дистантного ишемического посткондиционирования, в этом случае первый из трех ишемических эпизодов следовал через 15 мин после рестресса. В обоих случаях дистантное ишемическое кондиционирование предотвращало формирование экспериментального ПТСП у крыс [9].

Спустя 1, 5 и 10 сут после рестресса (ранний, промежуточный и отсроченный постстрессовый период соответственно) по 6 крыс из каждой экспериментальной группы декапитировали, затем, после извлечения мозга и фиксации в Immunofix (BioOptica, Italy) в течение 24–48 ч, стандартных процедур обезвоживания и заливки в парафиновую среду, изготавливали срезы во фронтальной плоскости толщиной 7 мкм на координатных уровнях около $-2,8$ от брегмы.

Для иммуногистохимической оценки содержания HIF-1 α в нейронах гиппокампа контрольных, стрессированных (ТС-Р), прекондиционированных перед стрессированием (дпТС-Р), и посткондиционированных (ТС-Рдп) крыс срезы инкубировали с поликлональными антителами к HIF-1 α (Santa Cruz, USA), в разведении 1:100, далее обрабатывали с использованием наборов для детекции фирмы Vector Labs, USA и проводили оценку иммунореактивности к HIF-1 α на основании компьютерного анализа микроизображений поля CA1 и зубчатой извилины гиппокампа крыс. Используя программу ВидеоТест Мастер Морфология (ООО «ВидеоТест», СПб), производили подсчет числа иммунопозитивных клеток, с их автоматическим разделением на слабо- и интенсивно-иммунопозитивные по величине оптической плотности в условных единицах по сравнению с фоном. Для каждого животного анализировали 2–3 среза, подсчет производили в поле длиной 500 мкм, использовали усредненные значения по каждой области мозга у конкретного животного. Эти данные обрабатывали, вычисляя среднюю арифметическую

величину и стандартную ошибку среднего в исследуемых подгруппах животных (6 крыс для каждой точки забора материала), сравнивали средние значения выборок. Статистическую обработку проводили средствами однофакторного дисперсионного анализа ANOVA (Statistica 7.0, Statsoft Inc., USA), с достоверностью различий при $p < 0,05$.

Результаты представлены в виде среднего арифметического значения, выраженного в процентах от среднего значения соответствующей контрольной группы, принятой за 100%, \pm стандартная ошибка среднего, выраженная в процентах.

Результаты и их обсуждение. В гиппокампе животных, подвергнутых стрессированию в модели ПТСП «травматический стресс-рестресс» (ТС-Р), по сравнению с контрольной группой, выявлялось значительное и устойчивое (до 10 дней после рестресса) увеличение как общего количества иммунопозитивных к регуляторной α -субъединице фактора HIF-1 (HIF-1 α) нейронов, так и иммунореактивных нейронов с интенсивной окраской. Число последних в области CA1 в ранний постстрессорный период возрастало в ответ на рестресс до 502% от контроля, оставаясь значительно повышенным (600% на 10-е сутки) в течение всего периода наблюдения (рисунок б, черные столбики). В зубчатой извилине гиппокампа существенный рост интенсивности экспрессии HIF-1 α также сохранялся до 10 дней (571%) после рестресса (рисунок, г).

Животные, перенесшие 3 сеанса дистантной ишемии конечности перед ТС, демонстрировали возрастание общего числа HIF-1 α -содержащих нейронов (рисунок, а и в, белые столбики) и числа интенсивно иммунопозитивных клеток (рисунок, б и г) в гиппокампе исключительно в ранний постстрессорный период (1-е сутки после рестресса). В промежуточный и отсроченный периоды уровень данного фактора возвращался к контрольным значениям, оказываясь достоверно ниже показателей группы ТС-Р. Сходный временной паттерн экспрессии HIF-1 α наблюдался и у ТС-Рдп животных, которым дистантная ишемия предъявлялась в режиме посткондиционирования, после рестресса. В гиппокампе таких крыс через 24 ч после рестресса количество интенсивно иммунореактивных к HIF-1 α нейронов достигало 859% в области CA1 (рисунок, б, штрихованные столбики) и 543% в зубчатой извилине (рисунок, г) гиппокампа, при этом отсроченная свехэкспрессия данного фактора в гиппокампе полностью нивелировалась.

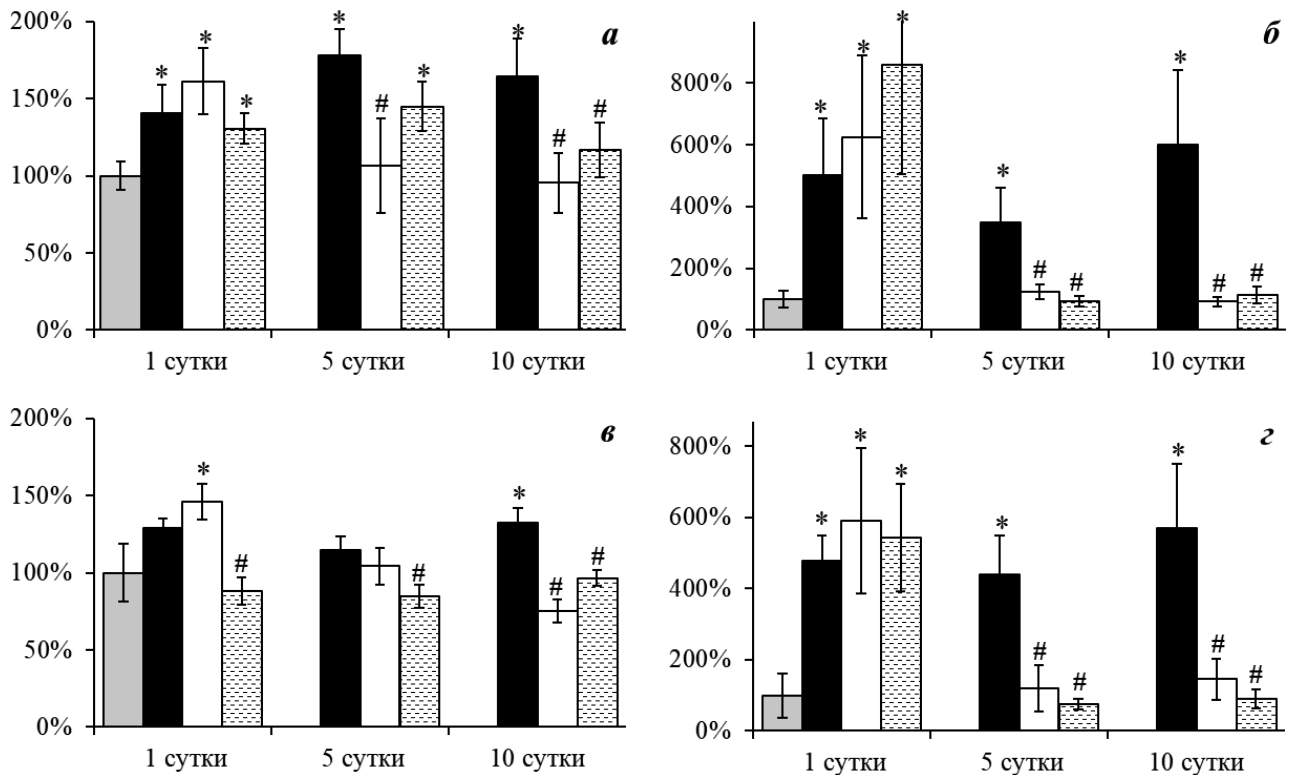


Рисунок. Изменения иммунореактивности к HIF-1 α в области CA1 (а, б) и зубчатой извилине (в, г) гиппокампа крыс в процессе формирования и коррекции экспериментального ПТСР. По оси абсцисс — дни после рестресса; по оси ординат — общее количество HIF-1 α -позитивных клеток (а, в) либо число интенсивно-иммунореактивных клеток (б, г) в % от значений контрольной группы. Серые столбики — интактный контроль, принятый за 100%; черные столбики — группа ТС-Р, у которой развивается экспериментальное ПТСР; белые столбики — группа дПТС-Р, в которой дистантное прекодиционирование применялось перед травматическим стрессом; штрихованные столбики — группа ТС-Рдп, которой дистантное посткодиционирование предьявлялось после рестресса. * Различия достоверны по отношению к контролю; # достоверные различия относительно группы ТС-Р, $p \leq 0,05$.

Согласно традиционным представлениям, HIF-1 считается ключевым фактором клеточной адаптации к гипоксии. В условиях нормоксии α -субъединица HIF-1 (HIF-1 α) подвергается деградации путем пролил-гидроксилазной реакции, тогда как при гипоксии происходит инактивация фермента пролил-гидроксилазы и стабилизация HIF-1 α , что приводит к образованию активного HIF-1 [10]. В связи с этим HIF-1 α является регуляторной субъединицей, и ее уровень коррелирует с транскрипционной активностью HIF-1. Таким образом, долгое время полагали, что накопление HIF-1 в нейронах происходит только в условиях гипоксии. Однако в последнее время внимание исследователей все больше привлекается к негипоксическим способам активации HIF-1. В частности, накапливаются сведения, что на повышение содержания HIF-1 α могут влиять возрастающие количества активных форм кислорода [11], недостаточные уровни глюкокортикоидных гормонов крови, подавляющих его синтез [12], активация протеинкиназных каскадов [13] в различных областях мозга и др.

Факты, полученные в наших последних исследованиях, позволяют уверенно говорить о том, что мощным негипоксическим стимулом, вызывающим активацию HIF-1 в нейронах мозга, является психоэмоциональный стресс, причем, в отличие от общепринятых представлений, в данных условиях HIF-1 очевидно является фактором патологии, нежели адаптации. В частности, в настоящей работе развитие ПТСР-подобного расстройства у крыс сопровождалось значительной и пролонгированной индукцией HIF-1 α в гиппокампе, что также подтверждает полученные ранее данные. При анализе «скрытого периода» (периода между ТС и рестрессом) было выявлено, что патогенный ТС не приводит к индукции HIF-1 α [4]. Это позволяет предположить, что устойчивую ап-регуляцию данного фактора вызывает именно рестресс. При этом следует отметить, что субъединица HIF-1 α — продукт раннего гена *hif*, для которого, как и для других ранних генов, характерны волновая динамика, быстрая и непродолжительная индукция [14]. По этой причине длительное поддержание повышенной экспрессии HIF-1 α при формировании экспериментального ПТСР отража-

ет нарушение волновой динамики. Представляется важным, что аналогичные нарушения, в частности устойчивая ап-регуляция в отдаленный период, отмечены и для другого продукта раннего гена — транскрипционного фактора *c-Fos* [15]. По литературным данным, подобная отсроченная экспрессия ранних генов связана с развитием патологического процесса после повреждающих и стрессорных воздействий [14]. На этом основании можно предположить, что стойкая сверхэкспрессия ранних генов, и в первую очередь *HIF-1α*, составляет один из важных компонентов патогенетического процесса при ПТСР. Более того, отсроченная индукция *HIF-1α* наблюдалась также и после острого психоэмоционального стресса в модели депрессии [5], поэтому возможно, что длительно поддерживающаяся активация *HIF-1* носит дезадаптивный характер и является механизмом патогенеза не только ПТСР, но и других постстрессорных расстройств, в том числе депрессии.

У животных, подвергнутых дистантному ишемическому пре- либо посткондиционированию, одновременно с коррекцией ПТСР-подобной симптоматики нивелируется отсроченная экспрессия *HIF-1α*. Как уже отмечалось выше, применение другого способа пре- и посткондиционирования — гипоксического (трехкратная умеренная гипобарическая гипоксия) проводило к сходным результатам [4]. В частности, в гиппокампе животных, получивших сеансы умеренной гипоксии, наряду с коррекцией поведенческих и гормональных нарушений также полностью предотвращалась длительная сверхиндукция *HIF-1α*. При этом особенностью применения кондиционирования дистантной ишемией конечности является сохранение так называемой «ранней волны» экспрессии данного фактора после стрессирования, тогда как гипоксическое кондиционирование полностью предотвращало индукцию *HIF-1α* в гиппокампе после рестресса [4].

Известно, что *HIF-1* в мозге может играть роль патогенного или протективного фактора.

Он является ведущим регулятором транскрипции генов, ответственных за реакцию на недостаток кислорода, а также генов, связанных либо с адаптивными реакциями, пластичностью и обучением, либо с дегенерацией нейронов и развитием патологий. С одной стороны, как транскрипционный фактор, *HIF-1* активирует экспрессию цитокина эритропоэтина, оказывающего широкий спектр нейропротективных эффектов, включая стимуляцию процессов нейропластичности [16]. С другой стороны, он может быть связан с расстройством механизмов адаптации к стрессу, влияя на регуляцию гипоталамо-гипофизарно-адренкортикальной системы (ГАС). *HIF-1* модифицирует экстрагипоталамические влияния на центры гипоталамуса, участвует в регуляции транскрипции глюкокортикоидных рецепторов [17], поэтому его чрезмерная активация может приводить к нарушениям контуров саморегуляции нейроэндокринной системы, дисбалансу нейрогормонов ГАС и стероид-рецептирующих механизмов. Возможно, именно нормализация уровня *HIF-1α* в зубчатой извилине гиппокампа — структуре, известной своим ключевым участием в нейроэндокринной регуляции ГАС по механизму обратной связи, у кондиционированных гипоксией или ишемией животных предотвращает в дальнейшем характерную для ПТСР дисрегуляцию ГАС.

Заключение. Результаты настоящего исследования свидетельствуют о том, что стресс-протективный и анксиолитический эффект дистантного ишемического пре- и посткондиционирования в модели ПТСР сопровождается нивелированием пролонгированной сверхиндукции *HIF-1* и сохранением его ранней постстрессорной активации в нейронах гиппокампа крыс.

Работа поддержана грантом РФФИ 16-34-60095 и Программой ПФНИ ГАН ГП-14 (направление 65).

Литература

1. Liberzon I., Krstov M., Young E.A. Stress restrest: effects on ACTH and fast feedback // *Psychoneuroendocrinology*. 1997. Vol. 22 (6). P. 443–453.
2. Рыбникова Е.А., Миронова В.И., Тюлькова Е.И., Самойлов М.О. Анксиолитический эффект умеренной гипобарической гипоксии у крыс в модели посттравматического стрессового расстройства // *ЖВНД им. И.П. Павлова*. 2008. Т. 58, № 4. С. 486–492. [Rybnikova E.A., Mironova V.I., Tiul'kova E.I., Samoilov M.O. The anxyolytic effect of mild hypobaric hypoxia in a model of post-traumatic stress disorder in rats, *Zh. Vyssh. Nerv. Deiat. Im I.P. Pavlova*. 2008. Vol. 58 (4). P. 486–492].
3. Рыбникова Е.А., Воробьев М.Г., Самойлов М.О. Гипоксическое посткондиционирование корректирует нарушения поведения крыс в модели посттравматического стрессового расстройства // *ЖВНД им. И.П. Павлова*. 2012. Т. 62, № 3. С. 364–371. [Rybnikova E.A., Vorob'ev M.G., Samoilov M.O.

Hypoxic postconditioning corrects behavioral abnormalities in a model of post-traumatic stress disorder in rats, *Zh Vyssh Nerv Deiat Im I.P. Pavlova*. 2012. Vol. 62, No 3. pp. 364–371].

4. *Baranova K.A., Rybnikova E.A., Samoilo M.O.* The Dynamics of HIF-1 α Expression in the Rat Brain at Different Stages of Experimental Posttraumatic Stress Disorder and its Correction with Moderate Hypoxia // *Neurochemical Journal*. 2017. Vol. 11, No 2. P. 149–156.

5. *Baranova K.A., Mironova V.I., Rybnikova E.A., Samoilo M.O.* Characteristics of the Transcription Factor HIF-1 Expression in the Rat Brain during the Development of a Depressive State and the Antidepressive Effects of Hypoxic Preconditioning // *Neurochemical Journal*. 2010. Vol. 4, No 1. P. 35–40.

6. *Ren C., Gao M., Dornbos D. 3rd, Ding Y., Zeng X., Luo Y., Ji X.* Remote ischemic post-conditioning reduced brain damage in experimental ischemia/reperfusion injury // *Neurol. Res.* 2011. Vol. 33. P. 514–519.

7. *Joseph B., Pandit V., Zangbar B., Kulvatunyou N., Khalil M., Tang A., O'Keeffe T., Gries L., Ver-cruyse G., Friese R.S., Rhee P.* Secondary brain injury in trauma patients: the effects of remote ischemic conditioning // *J. Trauma Acute Care Surg.* 2015. Vol. 78. P. 698–703.

8. *Li S., Hu X., Zhang M., Zhou F., Lin N., Xia Q., Zhou Y., Qi W., Zong Y., Yang H., Wang T.* Remote ischemic post-conditioning improves neurological function by AQP4 down-regulation in astrocytes // *Behav. Brain Res.* 2015. Vol. 289. P. 1–8.

9. *Baranova K.A.* Mild hypoxic and remote ischemic preconditioning in the prevention and correction of anxiety and depressive disorders in animal models // *Official J. of the Internat. Stress and Behavior Society*. 2016. Vol. 5. P. 17.

10. *Wang G.L., Jiang B.H., Rue E.A., Semenza G.L.* Hypoxia-inducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O₂ tension // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 1995. Vol. 92. P. 5510–5514.

11. *Bell E.L., Chandel N.S.* Mitochondrial oxygen sensing: regulation of hypoxia-inducible factor by mitochondrial generated reactive oxygen species // *Essays Biochem.* 2007. Vol. 43. P. 17–27.

12. *Wagner A.E., Huck G., Stiehl D.P., Jelkmann W., Hellwig-Bürge T.* Dexamethasone impairs hypoxia-inducible factor-1 function // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2008. Vol. 372, No 2. P. 336–340.

13. *Richard D.E., Berra E., Pouyssegur J.* Nonhypoxic pathway mediates the induction of hypoxia-inducible factor 1 α in vascular smooth muscle cells // *J. Biol. Chem.* 2000. Vol. 275. P. 26765–26771.

14. *Senba E., Ueyama T.* Stress-induced expression of immediate early genes in the brain and peripheral organs of the rat // *Neurosci. Res.* 1997. Vol. 29 (3). P. 183–207.

15. *Baranova K.A., Rybnikova E.A., Samoilo M.O.* Involvement of the Transcription Factor c-Fos in the Protective Effect of Hypoxic Preconditioning in a Model of Post-Traumatic Stress Disorder in Rats // *Neurochemical Journal*. 2011. Vol. 5, No 4. P. 257–262.

16. *Paschos N., Lykissas M.G., Beris A.E.* The role of erythropoietin as an inhibitor of tissue ischemia // *Int. J. Biol. Sci.* 2008. Vol. 10, No 4 (3). P. 161–168.

17. *Leonard M.O., Godson C., Brady H.R., Taylor C.T.* Potentiation of glucocorticoid activity in hypoxia through induction of the glucocorticoid receptor // *J. Immunol.* 2005. Vol. 174, No 4. P. 2250–2257.

Поступила в редакцию: 15.04.2018 г.

Контакт: Баранова Ксения Александровна, ksentipra@mail.ru

Сведения об авторах:

Баранова Ксения Александровна — кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории регуляции функций нейронов мозга ФГБУН «Институт физиологии им. И.П. Павлова» РАН; 199034, Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6; e-mail: ksentipra@mail.ru;

Рыбникова Елена Александровна — доктор биологических наук, заведующий лабораторией регуляции функций нейронов мозга ФГБУН «Институт физиологии им. И.П. Павлова» РАН; 199034, Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6; e-mail: rybnikova1@rambler.ru.

УДК 578.832.1:578.53].083.2:615.371.012.6

ОСОБЕННОСТИ ПОДГОТОВКИ РЕАССОРТАНТНЫХ ШТАММОВ ЖИВОЙ ГРИППОЗНОЙ ВАКЦИНЫ НА ОСНОВЕ ВИРУСОВ, ОБЛАДАЮЩИХ ПАНДЕМИЧЕСКИМ ПОТЕНЦИАЛОМ

Н.В. Ларионова, И.В. Киселева, Е.М. Дорошенко, Л.Г. Руденко
ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия

PECULARITIES OF DEVELOPMENT OF REASSORTANT STRAINS FOR LIVE INFLUENZA VACCINE BASED ON VIRUSES WITH PANDEMIC POTENTIAL

N.V. Larionova, I.V. Kiseleva, E.M. Doroshenko, L.G. Rudenko
FSBSI «Institute of Experimental Medicine», St. Petersburg, Russia

© Коллектив авторов, 2018 г.
© A team of authors, 2018.

Цель исследования: характеристика эффективности получения реассортантных штаммов живой гриппозной вакцины на основе новых для человека пандемического и потенциально пандемических вирусов гриппа. **Материалы и методы исследования:** вирус гриппа A(H1N1)pdm09, потенциально пандемические вирусы гриппа A(H3N2)v и A(H5N1), донор аттенуации для российской живой гриппозной вакцины. Вирусологические и молекулярно-генетические методы исследования. **Результаты:** успешно получены штаммы с формулой генома 6:2 для живой гриппозной реассортантной вакцины на основе возбудителя пандемии A(H1N1)pdm09 и вируса свиного гриппа A(H3N2)v. Реассортация вирусов птиц A(H5N1) и донора аттенуации на основе вируса человека A(H2N2) осложнена особенностями констелляции их генов. Подготовлены H5N2 реассортанты, унаследовавшие от высоковирулентных вирусов гриппа птиц единственный ген HA. Несмотря на невозможность получения 6:2 реассортантов, фенотипические, доклинические характеристики реассортантов с формулой генома 7:1 и их дальнейшие исследования на добровольцах показали, что такие вакцинные штаммы могут успешно использоваться для профилактики заболеваний, вызванных вирусами птичьего гриппа. **Заключение.** При получении вакцинных штаммов к потенциально пандемическим вирусам гриппа методом классической реассортации успех зависит от взаимной констелляции генов филогенетически далеко отстоящих друг от друга родительских вирусов. В некоторых случаях компромиссом может быть наследование штаммом ЖГВ от антигенно актуального вируса единственного гена HA.

Ключевые слова: живая аттенуированная гриппозная вакцина (ЖГВ), донор аттенуации для ЖГВ, пандемические и потенциально пандемические вирусы гриппа, высоковирулентные вирусы гриппа птиц (HPAI), температурочувствительный фенотип, холодадаптированный фенотип, аттенуация.

Objective of the research: to characterize the effectiveness of obtaining reassortant strains for live influenza vaccine based on pandemic and potentially pandemic influenza viruses which are new for humans. **Materials and methods of the research:** influenza virus A(H1N1)pdm09, potentially pandemic A(H3N2)v and A(H5N1) influenza viruses, a master donor virus for the Russian live influenza vaccine. Virological and molecular genetics methods of research. **Results:** strains with a 6:2 genome composition for live influenza reassortant vaccine based on the pandemic A(H1N1)pdm09 virus and swine influenza A(H3N2)v virus have been successfully obtained. The reassortment of highly pathogenic avian influenza (HPAI) viruses A(H5N1) and human A(H2N2) master donor virus for live attenuated influenza vaccine is complicated by the features of the constellation of their genes. H5N2 reassortants which inherited only HA gene from HPAI viruses of avian influenza were obtained. Despite the impossibility of development of 6:2 reassortants, the phenotypic, preclinical characteristics of the reassortants with the 7:1 genome composition, and their further clinical studies on volunteers have shown that such vaccine strains can be successfully used to prevent diseases caused by avian influenza viruses. **Conclusion.** When vaccine strains against potentially pandemic influenza viruses are obtained by the classical reassortment technique then the success depends on the mutual constellation of genes of phylogenetically distant far apart parental viruses. In some cases the inheritance by the reassortant of a single HA gene from the antigenic actual virus can be a compromise for LAIV development.

Key words: live attenuated influenza vaccine (LAIV), master donor virus for LAIV, pandemic and potentially pandemic influenza viruses, highly pathogenic avian influenza (HPAI) viruses, temperature sensitive phenotype, cold adapted phenotype, attenuation.

Введение. Грипп, как одна из самых массовых вирусных инфекций, справедливо считается значимым фактором, губительно влияющим на здоровье людей. Заболеваемость, вызванная регулярно обновляющимися сезонными вирусами, периодически возникающими пандемическими и спорадически передающимися людям зоонозными вирусами гриппа, сопровождается общей интоксикацией организма, бактериальными осложнениями, высокой избыточной заболеваемостью и смертностью от вирусных пневмоний и сопутствующих соматических заболеваний.

Профилактика с помощью живых вакцин рассматривается как наиболее перспективная мера борьбы с гриппом. Живая гриппозная вакцина (ЖГВ) имеет существенное преимущество перед инактивированным вакцинным препаратом, поскольку ее действующим началом является аттенуированный вирус, интенсивность репродукции которого в дыхательных путях определяется уровнем иммунитета. В этом проявляется избирательность действия ЖГВ, которая не приживается у человека с высоким уровнем иммунитета, но у неиммунных восприимчивых лиц активирует те же звенья иммунитета (клеточный, мукозальный и гуморальный), что и патогенный вирус [1].

Живые аттенуированные реассортантные гриппозные вакцины впервые разработаны в отделе вирусологии им. академика А.А. Смородинцева Института экспериментальной медицины (ФГБНУ «ИЭМ»). С 1987 г. реассортантная ЖГВ применяется в России для всех возрастных групп населения, начиная с 3-летнего возраста [2].

Штаммы ЖГВ получают в развивающихся куриных эмбрионах (РКЭ) методом классической реассортации эпидемически актуальных вирусов и доноров аттенуации.

Созданные в лаборатории доноры аттенуации для вирусов гриппа А и В характеризуются температурочувствительностью (*ts*), холодоустойчивостью (*ca*) репродукции и аттенуацией (*att*) для лабораторных животных и человека. Вместе с шестью генами, кодирующими внутренние белки вириона, доноры аттенуации передают вакцинным штаммам *ts/ca/att* фенотип. Антигенная актуальность вакцинного реассортанта обеспечивается наследованием от эпидемического вируса генов, кодирующих белки HA и NA, так называемая формула генома 6:2.

Метод реассортации, разработанный для получения штаммов ЖГВ, предусматривает фенотипические различия между созданными в лаборатории *ts/ca/att* донорами аттенуации и естественно циркулирующими *non-ts/non-ca* па-

тогенными вирусами гриппа. Противоположность фенотипических признаков дает возможность успешно использовать селективные факторы — пониженную до 25–26° С температуру репродукции, что обеспечивает преимущество в реассортации генам донора, кодирующим внутренние белки вириона, и гипериммунную сыворотку против донора аттенуации, что способствует встраиванию в геном HA и NA эпидемического вируса [3].

До представленных в настоящей работе исследований опыт использования метода классической реассортации в РКЭ с целью получения вакцинных реассортантов сводился к разработке 6:2 штаммов ЖГВ на основе дрейфовых сезонных вирусов гриппа человека.

Пандемия гриппа A(H1N1)pdm09 [4] и вспышка заболеваемости людей, вызванной вирусом гриппа свиней A(H3N2)v в 2011–2012 гг. [5], стали проверкой эффективности классического метода подготовки реассортантных ЖГВ на основе хоть и известных человеку серотипов гемагглютинина, но, в сущности, абсолютно новых для популяции возбудителей.

В связи с возникновением новых пандемических угроз, в частности таких, как высоковирулентные вирусы гриппа птиц A(H5N1), причастные на сегодняшний день к 454 случаям летальных инфекций людей [6], ВОЗ разработала глобальную стратегию обеспечения готовности к пандемии [7]. Основная цель подготовки вакцин к вирусам гриппа с высоким пандемическим потенциалом заключается в подборе оптимального метода разработки эффективной вакцины, широкого тестирования ее в доклинических и клинических исследованиях и создания коллекции вакцин, которые могут быть использованы в условиях экстренной необходимости.

В настоящей работе представлены результаты исследований эффективности реассортации донора аттенуации с незнакомыми прежде человеку вирусами гриппа.

Материалы и методы исследования. В исследовании были использованы:

- донор аттенуации для отечественной ЖГВ: А/Ленинград/134/17/57 (H2N2) (A17), являющийся собственностью ФГБНУ «ИЭМ» (Санкт-Петербург);
- вирус гриппа А/Калифорния/07/2009 (H1N1) pdm, возбудитель пандемии 2009 года, рекомендованный ВОЗ для получения вакцины, полученный из Центра по контролю и предупреждению заболеваемости (CDC, США);
- вирус гриппа свиней А/Индиана/10/2011 (H3N2)v, полученный из CDC (США);

— реассортанты для инактивированных вакцин с формулой генома A/H5N1/PR8-RG: VN/1203/PR8-IBCDC-RG (VN-PR), Indo/05/PR8-IBCDC-RG (INDO-PR), NIBRG-23 (Turkey-PR) из коллекций NIBSC (Великобритания) и CDC (США), которые были получены методами обратной генетики (RG) на основе 6 генов, кодирующих внутренние белки, от вируса A/Puerto Rico/8/34 (H1N1)

(A/PR/8/34) и генов HA и NA — от высоко-вирулентных (HPAI) вирусов гриппа птиц H5N1: A/Вьетнам/1203/2004 (клайд 1), A/Индонезия/05/2005 (клайд 2.1) и A/индок/Турция/1/2005 (клайд 2.2) соответственно.

Для снижения вирулентности область рестрикции гена HA у вирусов A/H5N1/PR8-RG была генетически модифицирована: сайт-специфическим мутагенозом удален полиосновный мотив из 4 аминокислот:

| | | | | |
|----------------|-------------------|-------------|---|-----------|
| A/VN/1203/2004 | G L R N S P Q R E | R R R K K R | ↓ | G L F G A |
| VN-PR8 | G L R N S P Q R E | - - - - T R | | G L F G A |
| | | | ↓ | |
| A/Indo/5/2005 | G L R N S P Q R E | S R R K K R | | G L F G A |
| INDO-PR8 | G L R N S P Q R E | S - - - - R | | G L F G A |
| | | | ↓ | |
| A/т/Т/1/2005 | G L R N S P Q R E | R R R K K R | | G L F G A |
| NIBRG-23 | G L R N S P Q R E | R - - - - R | | G L F G A |

Культивирование вирусов в развивающихся куриных эмбрионах. Для накопления вирусы инкубировали в 10–11-дневных РКЭ при 32–33° С. В зависимости от задач исследования инфицированные эмбрионы инкубировали также при пониженной температуре 25–26° С (5–6 суток) и повышенных температурах 38, 39 и 40° С (2 суток).

Температурочувствительность вирусов гриппа оценивали в РКЭ по разности инфекционных титров (RCT, reproductive capacity at different temperatures) при оптимальной (32–33° С) и повышенной до 38, 39 или 40° С температуре инкубации. Вирусы считали температурочувствительными при RCT не менее 4,5 lg ЭИД₅₀/мл, температуроустойчивыми — при RCT не более 3,5 lg ЭИД₅₀/мл. Вирусы оценивали как «± са» при RCT₂₅ в пределах 3,5–4,5 lg ЭИД₅₀/мл.

Получение реассортантных штаммов. С целью получения вакцинных штаммов для ЖГВ реассортацию вирусов с пандемическим потенциалом и донора аттенуации проводили в 10–11-дневных РКЭ по стандартной методике [1]. В зависимости от фенотипических характеристик и биологических особенностей пандемического компонента скрещивания в схему реассортации вводились модификации. В частности, для получения реассортантов с вакцинной формулой генома на основе вирусов гриппа птиц A(H5N1), проводили частичную инактивацию родительского вируса светом ультрафиолетового спектра согласно методу [8].

Серологические методы исследований. Реакцию торможения гемагглютинации (РТГА) для определения антигенной принадлежности HA штаммов вируса гриппа со специфическими им-

мунными крысиными сыворотками проводили с использованием 1% взвеси эритроцитов кур или человека в соответствии с Методическими рекомендациями [9].

Чувствительность вирусов гриппа к неспецифическим термостабильным ингибиторам сыворотки крови проверяли в РТГА, используя в качестве источника ингибиторов прогретую неиммунную сыворотку крови лошади (ООО «БиолоГ», Санкт-Петербург), морской свинки и кролика. Вирусы считали ингибитороустойчивыми при титре сыворотки в РТГА ≤ 1:40 и ингибиторочувствительными при титре ≥ 1:80.

Определение состава генома реассортантных штаммов вирусов гриппа проводили с помощью метода мультиплекс-ПЦР, отработанного для специфических задач исследования [10], и секвенирования ДНК-копий генов.

Статистическую достоверность результатов исследований оценивали при помощи t-критерия Стьюдента. Расчеты производили с помощью программы «MS Office Excel», версия 7,0. Различия считали достоверными при уровне статистической значимости $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Вирусы гриппа А человека, характеризующиеся *non-ts/non-ca* фенотипом, легко вступают в реассортацию с *ts/ca* донором аттенуации и под давлением факторов селекции успешно формируются реассортанты с вакцинной формулой генома. Поскольку одним из селективных факторов является гипериммунная сыворотка против донора аттенуации, успеху реассортации также способствует устойчивость эпидемических вирусов к неспецифическим ингибиторам сыворотки крови.

При получении вакцинных штаммов к потенциально пандемическим вирусам гриппа успех реассортации прогнозировать сложно, так как, помимо соответствия селективным факторам, он зависит от взаимной констелляции генов филогенетически далеко отстоящих друг от друга вирусов-участников скрещивания.

В соответствии с глобальным планом ВОЗ по подготовке к пандемии гриппа и в рамках утвержденного Правительством РФ плана мероприятий на 2009 год по предупреждению распространения заболеваний, вызванных высокопатогенным вирусом гриппа [11], нами был подготовлен аттенуированный штамм ЖГВ на основе возбудителя пандемии 2009 года вируса гриппа А/Калифорния/07/2009 (H1N1)_{pdm} [12]. Следует отметить, что получение вакцинного штамма А/17/Калифорния/2009/38 (H1N1) с формулой генома 6:2, где гены, кодирующие поверхностные негликозилированные белки HA и NA, принадлежат пандемическому вирусу А/Калифорния/07/2009 (H1N1), а гены, кодирующие внутренние белки (PB2, PB1, PA, NP, M, NS), принадлежат донору аттенуации А/Ленинград/134/17/57 (H2N2), не вызвало затруднений.

Возбудитель пандемии А/Калифорния/07/09 (H1N1)_{pdm} обладает типичными характеристиками вирулентного штамма — *non-ts/non-ca* фенотипом: он хорошо размножается при повышенной до 40° С температуре (RCT_{40} составила всего $1,2 \pm 0,1 \lg ЭИД_{50}/мл$) и слабо реплицируется при 25° С ($RCT_{25} = 6,0 \pm 0,4 \lg ЭИД_{50}/мл$) (табл. 1).

Вирус также устойчив к богатым неспецифическими термостабильными ингибиторами сывороткам крови лошади, морской свинки и ингибиторам

используемой в реассортации сыворотки крови кролика (табл. 2) [12, 13]. Это значит, что реассортация происходила в условиях, благоприятных для активности всех селективных факторов, что способствовало успеху получения вакцинного штамма. Между пандемическим вирусом сероподтипа H1N1_{pdm09} и донором аттенуации сероподтипа H2N2 наблюдалась полная комплементарность генов.

Другой пример успешного взаимодействия генов неспецифического для людей возбудителя гриппа с генами донора аттенуации продемонстрирован при получении реассортантного штамма ЖГВ к вирусу гриппа свиней А/Индиана/10/2011 (H3N2)_v. Этот тройной реассортант, в составе которого, наряду с генами вирусов свиней, обнаружены также гены вируса птиц (PB2 и PA), вируса H3N2 человека (PB1) и М-ген от пандемического вируса А (H1N1)_{pdm09}, вызвал заболевания людей в США. В разгар вспышки 2012 года зарегистрировано 309 случаев заболеваний, один человек погиб [5]. Вирусы гриппа свиней всегда вызывают настороженность из-за тесного контакта свиней с человеком и наличия на клетках верхних дыхательных путей свиней двух типов рецепторов, распознаваемых вирусами гриппа человека и вирусами гриппа птиц, что делает свиней инкубатором генов вирусов разных хозяев и потенциальными производителями новых возбудителей гриппа.

Вирус А/Индиана/10/2011 (H3N2)_v обладает выраженным *non-ts/non-ca* фенотипом. Разницы в титрах репродукции вируса при повышенной до 40° С температуре в сравнении с оптимальной не наблюдалось. При 25° С редукция титра составила $5,7 \lg ЭИД_{50}/мл$ по сравнению с титром при оптимальной температуре (табл. 1).

Таблица 1

Фенотипические свойства вакцинных штаммов на основе пандемического (H1N1)_{pdm09} или потенциально пандемического (H3N2)_v вирусов гриппа и их родительских вирусов при репродукции в развивающихся куриных эмбрионах

| Вирус | Титр вируса при 33° С | Редукция титра вируса ($\lg ЭИД_{50}/мл$) | | Фенотип |
|---|-----------------------|---|------------|-----------------------|
| | | RCT_{25} | RCT_{40} | |
| <i>Пандемический, потенциально пандемический родительский вирус</i> | | | | |
| А/Калифорния/07/2009 (H1N1) _{pdm} | 8,7±0,2 | 6,0±0,4 | 1,2±0,1 | <i>non-ts, non-ca</i> |
| А/Индиана/10/2011 (H3N2) _v | 9,2±0,3 | 5,7±0,2 | 0±0,3 | <i>non-ts, non-ca</i> |
| <i>Донор аттенуации</i> | | | | |
| А/Ленинград/134/17/57 (H2N2) | 8,9±0,3 | 1,7±0,2 | 6,2±0,2 | <i>ts, ca</i> |
| <i>Реассортант с вакцинной формулой генома 6:2</i> | | | | |
| А/17/Калифорния/2009/38 (H1N1) _{pdm} | 8,3±0,2 | 1,3±0,1 | 6,1±0,4 | <i>ts, ca</i> |
| А/17/Индиана/2011/72 (H3N2) _v | 9,8±0,2 | 1,6±0,4 | 8,4±0,3 | <i>ts, ca</i> |

Анализ чувствительности к термостабильным ингибиторам неиммунных сывороток крови лошади, морской свинки и кролика свидетельствует, что вирус свиного гриппа чувствителен к ингибиторам всех исследованных видов сывороток, сохраняющимся после прогревания при 80° С. Однако, как видно из результатов, представленных в табл. 2, обработка сывороток разрушающим рецептором ферментом нехолерного вибриона

(RDE, Receptor destroying enzyme Denka Seiken, UK) эффективно удаляет неспецифические ингибиторы вируса А/Индиана/10/2011 (H3N2)v. Таким образом, вирус А/Индиана/10/2011 (H3N2)v полностью соответствует критериям (*ts/ca* фенотип, отсутствие после обработки RDE ингибиторов сыворотки крови), которые способствуют эффективному получению вакцинного 6:2 реассортанта.

Таблица 2

Чувствительность вирусов гриппа к термостабильным ингибиторам неиммунной сыворотки крови животных в РТГА с куриными эритроцитами

| Вирус | РТГА ¹ с нормальной сывороткой крови, обработанной | | | | | | Фенотип |
|--|---|-------------------|---------|------|--------|------|--------------|
| | морской свинки | | кролика | | лошади | | |
| | 80° | RDE | 80° | RDE | 80° | RDE | |
| А/Ленинград/134/17/57 | <10 | <10 | <10 | <10 | <10 | <10 | Устойчив |
| А/Калифорния/07/2009 (H1N1) _{pdm} | <10 | н.и. ² | <10 | н.и. | <10 | н.и. | Устойчив |
| А/Индиана/10/2011 | 2560 | <10 | 269 | <10 | 4305 | <10 | Чувствителен |

¹Средний геометрический титр антител; ²не исследовали.

Вакцинный штамм на основе вируса гриппа свиней А(H3N2)v без осложнений был получен классическими приемами реассортации. Штаммы ЖГВ А/17/Калифорния/09/38 и А17/Индиана/2011/72 (H3N2)v характеризуются *ts/ca* фенотипом, как и донор аттенуации А/Ленинград/134/17/57 (H2N2) (табл. 1), и сохранностью специфичных для донора аттенуирующих мутаций в генах внутренних белков (см. табл. 3).

ЖГВ на основе пандемического штамма А/Калифорния/07/2009 (H1N1)_{pdm} в доклинических испытаниях на хорьках [14] и в клинических исследованиях на добровольцах проявила себя аттенуированной и иммуногенной [13].

Успешное скрещивание новых для человеческой популяции пандемического А(H1N1)_{pdm09} или свиного А(H3N2)v вирусов гриппа с донором аттенуации, полученным на основе вируса гриппа человека А(H2N2), является хорошим примером эффективности метода классической реассортации для сероподтипов вирусов гриппа А, которые уже доказывали свою способность вызывать пандемии и циркулируют среди людей. Между скрещиваемыми вирусами наблюдалась полная генетическая совместимость, что свидетельствует об универсальности донора аттенуации А/Ленинград/134/17/57 (H2N2) для реассортации с известными человеческой популяции сероподтипами вирусов.

Таблица 3

Сохранность кодирующих мутаций, специфичных для донора аттенуации А/Ленинград/134/17/57 (H2N2), у вакцинных реассортантов А/17(H1N1)_{pdm09}, А17(H3N2)v, А17(H5N2) (по данным ПЦР-рестрикционного анализа)

| Ген | Нуклеотид | Позиция аминокислоты | <i>non-ts/non-ca</i> вирус Лен/wt ¹ | Аминокислотные замены во внутренних генах <i>ts/ca</i> вирусов по сравнению с вирусом «дикого» типа | | |
|-----|---|----------------------|--|---|---|-----|
| | | | | <i>ts/ca</i> А17 | № пассажа вакцинного реассортанта при 32° С | |
| | | | | | 0 | 5 |
| PB2 | 1459 | 478 | Val | Leu | Leu | Leu |
| PB1 | 819 | 265 | Lys | Asn | Asn | Asn |
| | 1795 | 591 | Val | Ile | Ile | Ile |
| PA | 107 | 28 | Leu | Pro | Pro | Pro |
| | 1045 | 341 | Val | Leu | Leu | Leu |
| NP | ген NP донора аттенуации А17 не содержит кодирующих мутаций | | | | | |
| M1 | 68 | 15 | Ile | Val | Val | Val |
| M2 | 969 | 86 ² | Ala | Thr | Thr | Thr |
| NS2 | 798 | 100 | Met | Ile | Ile | Ile |

¹Эпидемический вирус А/Ленинград/134/57 (H2N2) является «диким» предшественником донора аттенуации А17.

²Популяция донора аттенуации А17 гетерогенна по этой позиции, часть ее не содержит мутацию Ala-86-Thr.

Однако при реассортации вирусов гриппа животных других серотипов, обладающих пандемическим потенциалом, с донором аттенуации А/Ленинград/134/17/57 (H2N2), который является вирусом гриппа человека, могут возникать проблемы.

С такой сложностью в реассортации мы столкнулись при разработке штаммов ЖГВ на основе высокопатогенных вирусов гриппа птиц А(H5N1).

Прежде всего, задача подготовки вакцинных штаммов на основе HPAI вирусов А(H5N1) потребовала разработки метода, позволяющего преодолеть патогенность вирусов для куриных эмбрионов и персонала. Использование в качестве источника поверхностных антигенов вирусов гриппа птиц реассортантных штаммов для инактивированных вакцин А/H5N1/PR8-RG с генами HA и NA от вирусов А(H5N1) и генами внутренних белков от вируса А/PR8/34 (H1N1), сконструированных генно-инженерными методами, и аттенуированных за счет удаления полиосновного сайта рестрикции, позволило приемами классической реассортации провести замену внутренних генов штаммов А/H5N1/PR8-RG на гены донора аттенуации для ЖГВ.

Вирусы А/H5N1/PR8-RG характеризуются благоприятными для реассортации с использованием селективных факторов характеристиками: *non-ts/non-ca* фенотипом и устойчивостью к неспеци-

фическим ингибиторам сыворотки крови лошади (табл. 4). Однако все вакцинные штаммы на основе трех вирусов гриппа птиц: А/Вьетнам/1203/2004 (VN-PR), А/Индонезия/05/2005 (INDO-PR) и А/индюк/Турция/1/2005 (NIBRG-23) наследовали от вируса гриппа птиц единственный ген HA (H5), а остальные гены, включая ген NA, — от донора аттенуации (7:1 реассортанты). Многочисленные попытки получить штамм, содержащий не только гемагглютинин, но и нейраминидазу вируса птичьего происхождения, были безрезультатны (табл. 5).

В случае разработки ЖГВ к вирусу А/индюк/Турция/01/05 (H5N1), единственной возможностью получить даже 7:1 вакцинные реассортанты оказалось поэтапное скрещивание предварительно инактивированного ультрафиолетом штамма NIBRG-23, несущего поверхностные антигены птичьего происхождения, с донором аттенуации. В результате скрещивания были получены «тройные реассортанты» с генами от вирусов А(H5N1), А/PR8 и А/Ленинград/134/17/57 (H2N2). Последующее скрещивание «тройных реассортантов» с донором аттенуации привело к получению штаммов, у которых все внутренние гены вируса А/PR8 и NA птичьего гриппа были замещены на соответствующие гены донора аттенуации. Подробно процесс получения вакцинного штамма А/17/индюк Турция/05/133 (H5N2) описан нами ранее [15].

Таблица 4

Фенотипические свойства родительских вирусов и вакцинных реассортантов с формулой генома 7:1 на основе штаммов А/H5N1/RG-PR8 при репродукции в развивающихся куриных эмбрионах

| Родительские вирусы и 7:1 клоны А(H5N2) | Титр вируса при 33°C | Редукция титра вируса, lg ЭИД ₅₀ /мл | | | | Чувствительность к ингибиторам ¹ | Фенотип |
|---|----------------------|---|-------------------|-------------------|-------------------|---|------------------------------|
| | | RCT ₂₅ | RCT ₃₈ | RCT ₃₉ | RCT ₄₀ | | |
| A17(H2N2) | 9,2±0,1 | 2,5±0,4 | 6,0±0,2 | 7,0±0,2 | 7,5±0,3 | < 10 | <i>ts/ca/ИУ</i> ² |
| NIBRG-23 (H5N1) | 6,2±0,2 | 4,0±0,1 | 0±0,2 | 4,7±0,2 | 6,2±0 | < 10 | <i>non-ts/non-ca/ИУ</i> |
| Клон 133 | 10,5±0,9 | 2,4±0,6 | 5,6±0,1 | 9,2±0,4 | 10,1±0,7 | < 10 | <i>ts/ca/ИУ</i> |
| VN-PR (H5N1) | 7,7±0,4 | 4,0±0,2 | 1,0±0,2 | 7,7±0,1 | 7,7±0,1 | < 10 | <i>non-ts/non-ca/ИУ</i> |
| Клон 65107 | 8,9±0,4 | 1,7±0,2 | 6,9±0,2 | 8,8±0,3 | 8,9±0,4 | < 10 | <i>ts/ca/ИУ</i> |
| INDO-PR (H5N1) | 8,2±0,3 | 4,5±0,1 | 0±0,3 | 0±0,3 | 0±0,3 | < 10 | <i>non-ts/non-ca/ИУ</i> |
| Клон 4241 | 9,0±0,8 | 2,7±0,2 | 6,7±0,6 | 5,0±0 | 8,9±0,6 | < 10 | <i>ts/ca/ИУ</i> |

¹Взаимодействие вирусов с термостабильными ингибиторами неиммунной сыворотки крови лошади в РТГА с куриными эритроцитами; ²ингибитороустойчив.

Таблица 5

Результаты классической реассортации в куриных эмбрионах вирусов VN-PR и INDO-PR (H5N1) с донором аттенуации A17

| Вирус/клон | PB2 | PB1 | PA | HA | NP | NA | M | NS |
|------------|-----|-----|-----|------|-----|------|-----|-----|
| A17 | A17 | A17 | A17 | A17 | A17 | A17 | A17 | A17 |
| VN-PR | PR8 | PR8 | PR8 | VN | PR8 | VN | PR8 | PR8 |
| INDO-PR | PR8 | PR8 | PR8 | INDO | PR8 | INDO | PR8 | PR8 |
| 8 клонов | A17 | A17 | A17 | INDO | A17 | A17 | A17 | A17 |
| 10 клонов | A17 | A17 | A17 | VN | A17 | A17 | A17 | A17 |
| 3 клона | A17 | A17 | PR8 | VN | A17 | A17 | A17 | A17 |
| 1 клон | A17 | A17 | A17 | VN | A17 | A17 | A17 | PR8 |

Все 7:1 реассортанты характеризовались *ts/ca* фенотипом, как и донор аттенуации А/Ленинград/134/17/57 (H2N2), и отличались по этим характеристикам от *non-ts/non-ca* родительских вирусов гриппа птиц (табл. 4). Все кодирующие нуклеотидные замены, охарактеризованные для донора аттенуации А/Ленинград/134/17/57 (H2N2), сохранены в генах внутренних и неструктурных белков реассортантных штаммов H5N2 (см. табл. 3).

Безуспешность получения реассортантов с формулой генома 6:2 может объясняться особенностями констелляции генов вирусов H5N1-PR8. Обнаружилась прочная взаимосвязь между генами PB2/PR8 и NA/N1 птичьего гриппа, которые всегда наследовались реассортантами вместе. В тех случаях, когда в геном реассортантного вируса включался ген PB2 донора аттенуации, NA наследовалась также от донора аттенуации, и наоборот, включение в геном NA вируса гриппа

птиц сопровождалось наследованием гена PB2 от А/PR8, что неприемлемо для ЖГВ (табл. 6).

Следует отметить, что с трудностями получения штаммов ЖГВ на основе высоко- и низковирулентных вирусов гриппа птиц А(H5N1) методом классической реассортации столкнулись и другие исследователи [16, 17]. Им также удавалось получить реассортанты с формулой генома 7:1, унаследовавшие от донора аттенуации единственный ген NA, тогда как ген NA в состав реассортанта не переходил. В то же время сконструированный генно-инженерным путем 6:2 реассортант для ЖГВ на основе вируса А/Вьетнам/1203/2004 (H5N1), был жизнеспособен и высокорепродуктивен, не отличался от 7:1 реассортантов по фенотипическим характеристикам [15].

Примечательно, что HPAI вирусы гриппа птиц сероподтипа А(H7N9), в отличие от вирусов А(H5N1), вступали в реассортацию с донором аттенуации А/Ленинград/134/17/57 (H2N2) с формированием 6:2 реассортантов без ограничений [19, 20].

Таблица 6

Принадлежность генов NA и PB2 у реассортантов, полученных при скрещивании донора аттенуации А/Ленинград/134/17/57 (H2N2) с штаммами А/H5N1/PR8-RG

| Вирус А/H5N1/PR8-RG ² с генами внутренних белков от вируса А/PR8 | Реассортанты, полученные при скрещивании донора аттенуации А17 (H2N2) с А/H5N1/PR8-RG реассортантами ¹ | | | | |
|---|---|---|----------------------|-----------|-----------|
| | всего | число (%) реассортантов, унаследовавших указанный ген от того или иного родительского вируса ² | | | |
| | | PB2-PR8 | PB2-A17 ³ | NA-wt N1 | NA-A17 N2 |
| NIBRG-23 ³ | 17 | 0 | 17 (100%) | 0 | 17 (100%) |
| | 20 | 20 (100%) | 0 | 20 (100%) | 0 |
| INDO-PR | 11 | 0 | 11 (100%) | 0 | 11 (100%) |
| VN-PR | 28 | 0 | 28 (100%) | 0 | 28 (100%) |
| | 14 | 14 (100%) | 0 | 14 (100%) | 0 |

¹NA реассортантов всегда наследовался от дикого родительского вируса. Принадлежность генов PB1, PA, NP, M и NS варьировала; ²вакцинный штамм для инактивированной гриппозной вакцины, подготовленный на основе высокопатогенных вирусов гриппа птиц А(H5N1) и донора высокой урожайности А/PR/8/34; ³в таблице суммированы результаты, полученные при скрещивании с донором аттенуации нативного и инактивированного ультрафиолетовым облучением вируса.

В доклинических испытаниях полученные нами штаммы 7:1 ЖГВ были аттенуированы для лабораторных животных (хорьков, цыплят), демонстрировали высокую иммуногенность и протективную активность для хорьков [15]. В клинических исследованиях вакцина А/17/инддок/Турция/133 (H5N2) характеризовалась высокой репродуктивностью у привитых добровольцев, отсутствием трансмиссивности непривитым лицам группы плацебо, сохранностью *ts/ca* фенотипа и генетической стабильностью аттенуирующих мутаций в реизолатах вакцинного вируса от привитых [18].

Заключение. При получении вакцинных реассортантов к вирусам гриппа с пандемическим

потенциалом успех зависит от взаимной констелляции генов, филогенетически далеко отстоящих друг от друга родительских вирусов.

Успешное скрещивание новых для человеческой популяции пандемического А(H1N1)pdm2009 и свиного А(H3N2)v вирусов гриппа с донором аттенуации, который получен на основе вируса гриппа человека А(H2N2), является хорошим примером эффективности метода классической реассортации для сероподтипов вирусов гриппа А, которые уже доказывали свою способность вызывать пандемии и циркулируют среди людей. Между скрещиваемыми вирусами наблюдалась полная генетическая совместимость, что свиде-

тельствует об универсальности донора аттенуации А/Ленинград/134/17/57 (H2N2) для реассортации с известными человеческой популяции сероподтипами вирусов.

Отсутствие полноценной констелляции генов между вирусами гриппа птиц сероподтипа H5N1 и донором аттенуации сероподтипа H2N2 приводит к возможности передачи в состав реассортанта на основе донора аттенуации единственного гена HA.

Выводы. Новые возбудители гриппа с пандемическим потенциалом, перешедшие к челове-

ку от животных либо появившиеся в результате реассортации вирусов человека и животных и таксономически относящиеся к спектру знакомых человечеству сероподтипов A(H1N1) и A(H3N2), легко вступают в реассортацию с донором аттенуации сероподтипа A(H2N2), изначально также происходящим от возбудителя гриппа человека. Реассортация вирусов птиц A(H5N1) и человека A(H2N2) затруднена. В таких случаях компромиссом может быть наследование штаммом ЖГВ от антигенно актуального вируса единственного гена HA.

Литература

1. Александрова Г.И. Применение метода генетической рекомбинации для получения вакцинных штаммов вируса гриппа // Вопр. вирусол. 1977. № 4. С. 387–395. [Alexandrova G.I. Application of the genetic recombination method to obtain vaccine strains of the influenza virus, *Voпр. virusol.*, 1977, No 4, pp. 387–395].
2. Руденко Л.Г., Ларионова Н.В., Киселева И.В., Исакова-Сивак И.Н. Живая гриппозная вакцина, итоги разработок и перспективы применения // Медицинский академический журнал. 2010. No 10 (4). С. 235–239. [Rudenko L.G., Larionova N.V., Kiseleva I.V., Isakova-Sivak I.N. Live influenza vaccine, the results of development and the prospects for use, *Medical Academic Journal*, 2010, No 10 (4), pp. 235–239].
3. Александрова Г.И., Климов А.И. Живая вакцина против гриппа. СПб.: Наука, 1994. 152 с. [Alexandrova G.I., Klimov A.I. Live vaccine against influenza. St. Petersburg: Science, 1994, 152 p.].
4. WHO. Characteristics of the emergent influenza A (H1N1) viruses and recommendations for vaccine development [Электронный ресурс]. Режим доступа: http://www.who.int/csr/resources/publications/swine-flu/vaccine_recommendations/en/index.html.
5. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Influenza A (H3N2) variant virus. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://www.cdc.gov/flu/swineflu/h3n2v-cases.htm>.
6. WHO. Cumulative number of confirmed human cases for avian influenza A(H5N1) reported to WHO, 2003–2018 [Электронный ресурс] // March, 2. 2018. Режим доступа: http://www.who.int/influenza/human_animal_interface/H5N1_cumulative_table_archives/en/.
7. WHO. Antigenic and genetic characteristics of zoonotic influenza viruses and development of candidate vaccine viruses for pandemic preparedness [Электронный ресурс] // Sept. 2015. Режим доступа: http://www.who.int/influenza/vaccines/virus/201509_zoonotic_vaccinevirusupdate.pdf?ua=1.
8. Rudneva I.A., Timofeeva T.A., Shilov A.A., Kochergin-Nikitsky K.S., Varich N.L., Ilyushina N.A., Gambaryan A.S., Krylov P.S., Kaverin N.V. Effect of gene constellation and postreassortment amino acid change on the phenotypic features of H5 influenza virus reassortants // *Arch Virol*. 2007. Vol. 152 (6). P. 1139–1145.
9. Методы определения показателей качества иммунобиологических препаратов для профилактики и диагностики гриппа. МУ 3.3.2.1758-03 (утв. главным государственным санитарным врачом РФ) [Электронный ресурс] 28.09.2003. Режим доступа: // <http://docs.cntd.ru/document/1200040123>. [МУ 3.3.2.1758-03 Methods for determining the quality of immunobiological drugs for the prevention and diagnosis of influenza [Electronic resource] // 28.09.2003. Access mode: <http://docs.cntd.ru/document/1200040123>].
10. Киселева И.В., Voeten J.T.M., Teley L.C.P., Ларионова Н.В., Дубровина И.А., Бердыгулова Ж.А., Баженова Е.А., van den Bosch H., Heldens J.G.M., Руденко Л.Г. Анализ состава генома штаммов сезонной и пандемической живой гриппозной вакцины // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. 2011. No 4. С. 29–36. [Kiseleva I.V., Voeten J.T.M., Teley L.C.P., Larionova N.V., Dubrovina I.A., Berdygulova Zh.A., Bazhenova E.A., van den Bosch H., Heldens J.G.M., Rudenko L.G. Analysis of the genome composition of seasonal and pandemic live influenza vaccine strains, *Molecular genetics, microbiology and virology*, 2011, No 4, pp. 29–36].
11. План мероприятий на 2009 год по предупреждению распространения в Российской Федерации заболеваний, вызванных высокопатогенным вирусом гриппа. Утвержден распоряжением Правительства Российской Федерации No 1098. [Электронный ресурс] // 23.08.2010 г. Режим доступа: <http://sbornik-zakonov.ru/38169.html>. [Plan of measures for 2009 to prevent the spread of diseases caused by highly

pathogenic influenza virus in the Russian Federation. Approved by the decree of the Government of the RF No. 1098. [Electronic resource] // 23.08.2010. Access mode: <http://sbornik-zakonov.ru/38169.html>].

12. Kiseleva I., Larionova N., Kuznetsov V., Rudenko L. Phenotypic characteristics of novel swine-origin influenza A/California/07/2009 (H1N1) virus // *Influenza and Other Respiratory Viruses*. 2009. Vol. 4 (1). P. 1–5.

13. Ларионова Н.В., Киселева И.В., Миронов А.Н., Бушменков Д.С., Доница С.А., Петухова Г.Д., Кореньков Д.А., Найхин А.Н., Руденко Л.Г. Живая гриппозная вакцина из реассортантного штамма А/17/Калифорния/2009/38 (H1N1) эффективный препарат для профилактики пандемического гриппа // *Медицинский академический журнал*. 2011. No 11 (4). С. 3–12. [Larionova N.V., Kiseleva I.V., Mironov A.N., Bushmenkov D.S., Donina S.A., Petukhova G.D., Korenkov D.A., Naihina A.N., Rudenko L.G. Live influenza vaccine from the reassortant strain A/17/California/2009/38 (H1N1) an effective drug for the prevention of pandemic influenza, *Medical Academic Journal*, 2011, No 11 (4), pp. 3–12].

14. Stittelaar K.J., Kroeze E.J.B.V., de Waal L., van Amerongen G., van den Brand J.M.A., Simon J.H., Kiseleva I., Larionova N., Rudenko L., Dhery R., Thirapakpoomanunt S., Kieny M.P., Osterhaus A.D.M.E. Efficacy of live attenuated vaccines against 2009 pandemic H1N1 influenza in ferrets // *Vaccine*. 2011. Vol. 29 (49). P. 9265–9270.

15. Larionova N., Kiseleva I., Isakova-Sivak I., Rekestin A., Dubrovina I., Bazhenova E., Ross T.M., Swayne D., Gubareva L., Tsvetnitsky V., Fedorova E., Doroshenko E., Rudenko L. Live attenuated influenza vaccines against highly pathogenic H5N1 avian influenza: development and preclinical characterization // *J. Vaccines and Vaccination*. 2013. Vol. 4 (8). P. 1–11. doi: 10.4172/2157-7560.1000208.

16. Rudenko L., Kiseleva I., Stukova M., Erofeeva M., Naykhin A., Donina S., Larionova N., Pisareva M., Krivitskaya V., Flores J., Dubrovina I., Isakova-Sivak I., Petukhova G., Bazhenova E., Smolonogina T., Kuznetsova V., Nikiforova A., Kiselev O., Power M., Tsvetnitsky V., Victor J.C., Neuzil K.M. Clinical testing of pre-pandemic live attenuated A/H5N2 influenza candidate vaccine in adult volunteers: results from a placebo-controlled, randomized double-blind phase I study // *Vaccine*. 2015. Vol. 33 (39). P. 5110–5117.

17. Gambaryan A.S., Lomakina N.F., Boravleva E.Y., Kropotkina E.A., Mashin V.V., Krasilnikov I.V., Klimov A.I., Rudenko L.G. Comparative safety, immunogenicity, and efficacy of several anti-H5N1 influenza experimental vaccines in a mouse and chicken models (Testing of killed and live H5 vaccine) // *Influenza and Other Respiratory Viruses*. 2012. Vol. 6 (3). P. 188–195.

18. Desheva J.A., Rudenko L.G., Alexandrova G.I., Lu X., Rekestin A.R., Katz J., Cox N., Klimov A.I. Reassortment between avian apathogenic and human attenuated cold-adapted viruses as an approach for preparing influenza pandemic vaccines // *Proceedings of Options for the Control of Influenza V, International Congress Series, 1263*. Elsevier, Amsterdam. 2004. P. 724–727.

19. Bazhenova E., Kiseleva I., Isakova-Sivak I., Kotomina T. Two alternative approaches to generate live attenuated influenza vaccine candidates against potentially pandemic avian influenza H7N9 virus // *Biomed. J. Sci & Tech Res*. 2018. Vol. 3 (4). P. 1–3. doi: 10.26717/BJSTR.2018.03.000925.

20. Isakova-Sivak I., Rudenko L. Tackling a novel lethal virus: a focus on H7N9 vaccine development // *J. Expert Review of Vaccines*. 2017. Vol. 16 (7). P. 709–721.

Поступила в редакцию: 08.04.2018 г.

Контакт: Ларионова Наталья Валентиновна, nvlarionova@mail.ru

Сведения об авторах:

Ларионова Наталья Валентиновна — доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник отдела вирусологии им. А.А. Смородинцева ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»; 197376, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 12; раб. тел.: 8 (812) 234-42-92; e-mail: nvlarionova@mail.ru;

Киселева Ирина Васильевна — доктор биологических наук, профессор, заведующая лабораторией вакцинных штаммов отдела вирусологии им. А.А. Смородинцева ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»; 197376, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 12; раб. тел.: 8 (812) 234-68-60; e-mail: irina.v.kiseleva@mail.ru;

Дорошенко Елена Мечиславовна — кандидат медицинских наук, научный сотрудник отдела вирусологии им. А.А. Смородинцева ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»; 197376, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 12; раб. тел.: 8 (812) 234-68-60; e-mail: eldoroshenko@mail.ru;

Руденко Лариса Георгиевна — доктор медицинских наук, профессор, заведующая отделом вирусологии им. А.А. Смородинцева ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»; 197376, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 12; раб. тел.: 8 (812) 234-92-14; e-mail: vaccine@mail.ru.

УДК 616.8-009.3+616-071.2

НЕМОТОРНЫЕ СИМПТОМЫ И КАЧЕСТВО ЖИЗНИ У ПАЦИЕНТОВ С ЭССЕНЦИАЛЬНЫМ ТРЕМОРОМ, БОЛЕЗНЬЮ ПАРКИНСОНА И СОЧЕТАНИЕМ ЭССЕНЦИАЛЬНОГО ТРЕМОРА И БОЛЕЗНИ ПАРКИНСОНА

^{1,2}А.В. Кудреватых, ³М.Д. Дидур, ¹Т.В. Сергеев, ²Д.С. Буг, ^{1,2,4}И.В. Миллюхина¹ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия²ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова», Санкт-Петербург, Россия³ФГБУН «Институт мозга человека им. Н.П. Бехтеревой» Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия⁴Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт» ФГБУ «Петербургский институт ядерной физики им. Б.П. Константинова», Санкт-Петербург, Россия

NON-MOTOR SYMPTOMS AND QUALITY OF LIFE IN PATIENTS WITH ESSENTIAL TREMOR, PARKINSON'S DISEASE AND THE COMBINATION OF ESSENTIAL TREMOR AND PARKINSON'S DISEASE

^{1,2}A.V. Kudrevatykh, ³M.D. Didur, ¹T.V. Sergeev, ²D.S. Bug, ^{1,2,4}I.V. Miliukhina¹FSBEI "Institute of Experimental Medicine", St. Petersburg, Russia²FSBSI "Pavlov First St. Petersburg State Medical University" of the Ministry of Health of the Russian Federation, St. Petersburg, Russia³FSBIE "Institute of Human Brain of the Russian Academy of Science", St. Petersburg, Russia⁴FSBEI "Petersburg Nuclear Physics Institute", St. Petersburg, Russia

© Коллектив авторов, 2018 г.

© A team of authors, 2018.

Цель исследования: оценить немоторные проявления и качество жизни у пациентов с эссенциальным тремором (ЭТ), разными стадиями болезни Паркинсона (БП) и с сочетанием эссенциального тремора и болезни Паркинсона (ЭТ-БП). **Материалы и методы исследования.** Обследованы 82 пациента с ЭТ, 20 пациентов с ЭТ-БП, 283 пациента с БП и 72 добровольца без неврологических заболеваний. Оценивали нейропсихологический статус, выраженность моторной симптоматики, степень вегетативной дисфункции и диссомнии, качество жизни пациентов. **Результаты.** У пациентов с ЭТ выявлен широкий спектр немоторных нарушений. Тяжесть когнитивных нарушений в группе ЭТ соответствовала степени тяжести у пациентов с ранними стадиями БП. Обращает на себя внимание, что пациенты с ЭТ имели более выраженную депрессию, чем пациенты с БП, на ранних стадиях заболевания. Максимальная выраженность тревожно-депрессивных нарушений наблюдалась у пациентов с сочетанием ЭТ-БП. **Заключение.** Несмотря на то, что ЭТ принято считать моносимптомным доброкачественным заболеванием, нами были выявлены выраженные немоторные нарушения у данной группы больных и значимое нарушение качества жизни. Результаты исследования также свидетельствуют о том, что пациенты с ЭТ-БП представляют собой особую группу больных, характеризующуюся особыми моторными и немоторными симптомами. Полученные нами данные позволили сформировать более глубокие представления об общности клинических проявлений ЭТ, БП и ЭТ-БП, что позволит улучшить качество ведения пациентов с данными нозологиями в клинической практике.

Ключевые слова: эссенциальный тремор, болезнь Паркинсона, сочетание эссенциального тремора и болезни Паркинсона, качество жизни, когнитивные нарушения, аффективные нарушения, немоторные симптомы.

Aim of the study: to assess non-motor symptoms and quality of life in patients with essential tremor (ET), different stages of Parkinson's Disease (PD) and combination of ET and PD (ET-PD). **Materials and methods of the research:** We examined 82 patients with ET, 20 patients with ET-PD, 283 patients with PD, and 72 neurologically

healthy volunteers. The neuropsychological status, intensity of motor symptoms, the grade of vegetative dysfunction and dyssomnia, and quality of life of patients were assessed. *Results:* Patients with ET showed wide range of non-motor symptoms. The severity of cognitive impairment in group of patients with ET corresponded with the same severity of patients with early stages of PD. It is interesting that patients with ET showed more severe depression than patients with early stages of PD. The maximum severity of anxiety-depressive disorders was observed in patients with the combination of ET-PD. *Conclusion:* In spite of the fact that it is usual to consider the ET as a monosymptomatic benign disease, we have found significant non-motor disorders in this group of patients and a significant violation of the quality of life. The results of the study also give evidence that patients with ET-PD represent a special group of patients, characterized by special, both motor and non-motor symptoms. The data we obtained made it possible to form a deeper understanding of the generality of the clinical manifestations of ET, PD and ET-PD, which will make it possible to improve the quality of management of patients with these nosologies in clinical practice.

Key words: essential tremor, Parkinson's disease, combination of essential tremor and Parkinson's disease, quality of life, cognitive impairments, affective dysfunction, non-motor symptoms.

Введение. Эссенциальный тремор (ЭТ) и болезнь Паркинсона (БП) — два самых распространенных экстрапирамидных заболевания. Несмотря на их высокую частоту и социальную значимость, в их патогенезе и клинической картине существует большое число малоизученных аспектов.

Длительное время единственным проявлением ЭТ считался постурально-кинетический тремор рук, тремор головы, голосовых связок, ног, туловища [1]. С начала XXI в. появляются данные об изменениях нейропсихологического статуса у пациентов с ЭТ [2]. Исследования в данной области продолжаются, и спектр вновь выявленных клинических проявлений ЭТ неуклонно расширяется — клиническая картина ЭТ выходит за рамки моносимптомного заболевания. К немоторным проявлениям ЭТ на сегодняшний день относят когнитивный дефицит, аффективные расстройства, нарушение слуха и обоняния, диссомнию, сенсорные нарушения [3, 4]. Обращает на себя внимание, что спектр нарушений, наблюдаемых при ЭТ, во многом сходен с проявлениями БП, что значительно затрудняет проведение дифференциальной диагностики между данными нозологиями, особенно на начальных стадиях. В 1993 г. А. Rajput и соавт. впервые описали симптомы паркинсонизма у пациентов с уже имеющимся ЭТ [5]. В связи с высоким риском развития БП у пациентов с ЭТ (в 4–10 раз выше, чем в популяции) [6, 7] исследование клинических особенностей «смешанного фенотипа» крайне актуально.

Цель исследования: оценить немоторные проявления (когнитивные, аффективные, вегетативные расстройства) и качество жизни у пациентов с ЭТ, с разными стадиями БП и сочетанием эссенциального тремора и болезни Паркинсона (ЭТ-БП).

Материалы и методы исследования. В исследовании приняли участие 82 пациента с ЭТ, 20 пациентов с ЭТ-БП, 283 пациента с БП на ранних (1,0–2,0) (БП1) и развернутых (2,5–3,0) (БП2) стадиях по шкале Хен и Яра, в контрольную группу (КГ) вошли 72 добровольца без неврологических за-

болеваний. Все группы были соотносимы по полу и возрасту. Диагноз БП был установлен в соответствии с критериями международного общества БП и расстройств движений [8], ЭТ — согласно критериям общества по изучению тремора и расстройств движений [9].

Подробная характеристика обследуемых групп представлена в табл. 1. Критериями исключения из исследования являлись наличие соматической патологии, другие патологии нервной системы. Пациенты наблюдались в центре нейродегенеративных заболеваний клиники ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины (ИЭМ)». Исследование одобрено Этическим комитетом ФГБНУ, участники исследования подписали информированное согласие.

Для оценки выраженности немоторных симптомов применялся опросник немоторных симптомов (Non-motor Symptoms Questionnaire — NMS-Quest) [10]. Нейропсихологическое тестирование проводилось с помощью краткой шкалы оценки когнитивного статуса (Mini-mental state examination — MMSE) [11], Монреальской шкалы оценки когнитивных функций (Montreal cognitive assessment — MoCA) [12], батареи лобной дисфункции (Frontal Assessment Battery — FAB) [13], фонематической активности (ФА) [14], шкалы тревоги Шихана (Sheehan Clinical Anxiety Rating Scale — ShARS) [15], госпитальной шкалы тревоги и депрессии (Hospital Anxiety and Depression Scale — HADS-A, HADS-D) [16], гериатрической шкалы депрессии (Geriatric depression scale — GDS) [17]. Показатели качества здоровья пациентов оценивались по опроснику здоровья EQ-5D [18], у пациентов с ЭТ и ЭТ-БП также использовался опросник качества жизни пациентов с ЭТ (Quality of life in Essential Tremor Questionnaire — QUEST) [19].

Статистическая обработка проводилась с помощью программного пакета Statistica 7.0 и Excel с использованием критериев Краскелла–Уоллиса, Колмогорова–Смирнова, Манна–Уитни, двустороннего критерия Фишера.

Таблица 1

Демографические и клинические характеристики пациентов с БП, ЭТ, ЭТ-БП, включенных в исследование, и контрольной группы

| Исследованные группы | Общее кол-во пациентов | Мужчины | Женщины | Средний возраст, годы \pm СКО | БП1 (1,0–2,0) | БП2 (2,5–3,0) |
|----------------------|------------------------|---------|---------|---------------------------------|---------------|---------------|
| Болезнь Паркинсона | 283 | 127 | 156 | 73,3 \pm 14,5 | 190 | 93 |
| Эссенциальный тремор | 82 | 20 | 62 | 76 \pm 9,5 | – | – |
| ЭТ-БП | 20 | 12 | 8 | 62,5 \pm 10,5 | 17 | 3 |
| Контрольная группа | 72 | 30 | 42 | 70,3 \pm 11,3 | – | – |

Результаты исследования. При оценке когнитивного статуса по шкале MMSE в группе пациентов с ЭТ значения, соответствующие норме, обнаружены у 64,2% пациентов, умеренные когнитивные нарушения (УКР) выявлены у 26% пациентов, деменция легкой степени выраженности — у 7,5% пациентов, деменция средней степени — у 1,9% пациентов. В группе ЭТ-БП УКР выявлены у 38,9%, остальные пациенты показали нормальные значения. В группе БП1 выявлено: УКР — 28,5%, деменция легкой степени — 5%, деменция средней степени — 0,5% и деменция тяжелой степени — 1,1% пациентов. В группе БП2: УКР — у 47,1%, легкая деменция — у 9,6%, деменция средней степени — у 5,8%, деменция тяжелой степени — у 2,9% пациентов. В КГ были выявлены УКР в 18,2% случаев. Однако при сравнении групп пациентов статистически значимые отличия были выявлены только между группой БП2, которые имели значительно более низкие баллы по MMSE, чем КГ ($p < 0,01$), ЭТ ($p = 0,02$) и БП1 ($p < 0,01$).

При анализе данных шкалы MoCA исследуемые группы имели следующий процент пациентов с когнитивной дисфункцией: ЭТ — 69,4%, ЭТ-БП — 69,2%, БП1 — 72,2%, БП2 — 84,2%, КГ — 18,2%. Значительно меньшее количество баллов по MoCA при сравнении с КГ имели группы ЭТ ($p = 0,007$), БП1 ($p = 0,008$) и БП2 ($p < 0,01$), кроме того, группа БП2 также имела значительно меньше баллов, чем группа БП1 ($p = 0,001$). Результаты обследования по шкалам ФА и ФАВ выявили более низкие показатели в группе БП2 по сравнению с КГ (ФА — $p = 0,037$, ФАВ — $p = 0,048$) и БП1 ($p = 0,04$). Важно отметить, что у пациентов с ЭТ и ЭТ-БП не выявлено нарушений беглости речи и когнитивных нарушений по лобному типу.

При оценке выраженности тревожно-депрессивных расстройств по шкалам ShARS и HADS-A выявлено наличие тяжелого тревожного расстройства в группе ЭТ — 5,9%, 17,8% пациентов соответственно, в группе БП1 — 0,8%, 8,9%, БП2 — 1,6%, 25%, в группе ЭТ-БП по шкале HADS — 13,3%. Клинически выраженная тревога выявлена у пациентов с ЭТ — 28,4%, 19,2%, ЭТ-БП по 20% по каждой из шкал, БП1 — 16,9%, 18,5% и БП2 — 46,8%, 15,6%.

Сравнительный анализ показал достоверно более выраженные тревожные расстройства по обоим шкалам у всех групп пациентов, в сравнении с КГ ($p < 0,01$ для всех групп по обоим шкалам). Также значительно высокие баллы по шкале ShARS и HADS-A в группе БП2 в сравнении с группой БП1 ($p < 0,01$, $p = 0,014$ соответственно). Клинически выраженная депрессия по шкалам HADS-D и GDS выявлена в группе ЭТ у 10,9%, 32,5% пациентов, ЭТ-БП — 13,3%, 11,1%, БП1 — 10,6%, 6,9%, БП2 — 43,8%, 17,9%. При сравнении по показателям HADS-D все группы пациентов имели более выраженную депрессию, чем КГ ($p < 0,01$ для всех групп), а группа ЭТ продемонстрировала большую выраженность депрессии по сравнению с группой БП1 ($p < 0,01$).

Анализ результатов шкалы QUEST показал более низкий уровень здоровья и качества жизни у пациентов с ЭТ-БП, чем в группе ЭТ, однако различия между группами не достигли статистической значимости ($p = 0,14$, $p = 0,07$). Также по результатам шкалы QUEST определено наличие затруднений в сексуальной жизни из-за тремора в группе ЭТ у 19,2% пациентов, в ЭТ-БП — 17,6%.

Удовлетворенность от приема препаратов в группе ЭТ испытывали 38,4%, в ЭТ-БП — 23,5% пациентов. Доля пациентов, вынужден-

ных закончить трудовую деятельность из-за тремора, — 7,6% в группе ЭТ и 11,8% в ЭТ-БП. Пациенты с ЭТ в течение суток испытывали тремор в среднем 11,2 ч, ЭТ-БП 13,3 ч, различий между группами не выявлено ($p=0,34$). По данным опросника EQ-5D все исследуемые группы пациентов имели более низкое качество здоровья по сравнению с КГ ($p<0,01$ для групп

ЭТ, ЭТ-БП, БП), между группами пациентов значимых различий не выявлено. Сравнительная характеристика всех исследуемых групп по нейропсихологическим шкалам и опросникам EQ-5D и QUEST представлена в табл. 2. Результаты анализа немоторных симптомов по опроснику NMSQuest всех исследуемых групп представлены в табл. 3.

Таблица 2

Сравнительная характеристика всех исследуемых групп по нейропсихологическим шкалам и опросникам EQ-5D и QUEST

| Шкала, Ме [мин–макс] | ЭТ-БП (n=20) | БП 1 (n=190) | БП 2 (n=93) | ЭТ (n=82) | Контрольная группа (n=72) |
|-----------------------------|-----------------------------------|---|--|---|--|
| MMSE, баллы | 27,8 [26,0–30,0] | 27,4 [2,0–30,0], $p^{*****}<0,01$ | 25,5 [7,0–30,0], $p^{*}<0,01$ $p^{**}<0,05$ $p^{***}<0,01$ | 27,7 [19,0–30,0], $p^{*****}<0,05$ | 29,1 [26,0–30,0], $p^{*****}<0,01$ |
| MoCA, баллы | 24,5 [19,0–29,0] | 24,1 [3,0–30,0], $p^{*}<0,01$ $p^{*****}<0,01$ | 22,0 [6,0–30,0], $p^{*}<0,01$, $p^{***}<0,01$ | 23,7 [12,0–30,0], $p^{*}<0,05$ | 27,64 [23,0–30,0], $p^{**}<0,05$ $p^{***}<0,01$ $p^{*****}<0,01$ |
| ФА, слова | 10,17 [5,0–18,0] | 11,56 [2,0–26,0] | 10,1 [1,0–28,0], $p^{*}<0,05$ | 10,3 [2,0–19,0] | 14,73 [9,0–30,0], $p^{*****}<0,05$ |
| FAV, баллы | 14,1 [8,0–18,0] | 14,5 [4,0–18,0], $p^{*****}<0,05$ | 13,35 [6,0–18,0], $p^{*}<0,05$ $p^{***}<0,05$ | 14,4 [6,0–18,0] | 16,3 [13,0–18,0], $p^{*****}<0,05$ |
| ShARS, баллы | 18,27 [2,0–60,0], $p^{*}<0,01$ | 17,04 [0–80,0], $p^{*}<0,01$ $p^{*****}<0,01$ | 30,2 [1,0–85,0], $p^{*}<0,01$ $p^{*****}<0,01$ | 25,4 [0–92,0], $p^{*}<0,01$ | 5,11 [0–28,0], p (для всех групп) $<0,01$ |
| HADS-A, баллы | 6,47 [1,0–14,0], $p^{*}<0,01$ | 5,3 [0–17,0], $p^{*}<0,01$ $p^{*****}<0,01$ | 7,46 [0–18,0], $p^{*}<0,01$ $p^{***}<0,01$ | 6,62 [0–15,0], $p^{*}<0,01$ | 2,37 [0–7,0], p (для всех групп) $<0,01$ |
| HADS-D, баллы | 6,2 [0–11,0], $p^{*}<0,01$ | 5,49 [0–14], $p^{*}<0,01$ $p^{*****}<0,01$ | 9,37 [0–18,0], $p^{*}<0,01$ $p^{**}<0,01$ $p^{***}<0,01$ | 5,85 [0–15,0], $p^{*}<0,01$ $p^{*****}<0,01$ | 1,66 [0–7,0], p (для всех групп) $<0,01$ |
| GDS, баллы | 5,0 [0–12,0] | 3,55 [0–26,0], $p^{*****}<0,01$ $p^{**}<0,01$ | 6,89 [1–26,0], $p^{*}<0,01$ $p^{***}<0,01$ | 8,9 [0–31,0], $p^{*}<0,01$ $p^{***}<0,01$ | 2,52 [0–6], $p^{**}<0,01$ $p^{*****}<0,01$ |
| QUEST (уровень здоровья), % | 51,8 [30,0–75,0] | – | – | 58,6 [30,0–80,0] | – |
| QUEST (качество жизни), % | 55,3 [30,0–90,0] | – | – | 67,3 [30,0–100,0] | – |
| EQ-5D (качество жизни), % | 58,083 [30,0–100,0], $p^{*}<0,01$ | 62,044 [20,0–95,0], $p^{*}<0,01$ | | 68,24 [20,0–90,0], $p^{*}<0,01$ | 89,5 [65,0–100,0], $p^{**}<0,01$, общая группа БП $p<0,01$, $p^{*****}<0,01$ |

Примечание: p^{*} — по сравнению с контрольной группой; p^{**} — по сравнению с группой ЭТ; p^{***} — по сравнению с группой БП ранние стадии; p^{****} — по сравнению с группой БП развернутые стадии; p^{*****} — по сравнению с группой ЭТ-БП.

Таблица 3

Сравнительная характеристика пациентов по шкале NMSQuest

| Симптом | % встречаемости симптомов в группах | | | |
|---|-------------------------------------|---------------------------|-----------------------------|---|
| | ЭТ | ЭТ-БП | БП1 | БП2 |
| Слюнотечение в течение дня | 9,1 $\rho^{*****}<0,01$ | 11,1 | 16,7 $\rho^{*****}<0,01$ | 42,4 $\rho^{**}<0,01$ $\rho^{***}<0,01$ |
| Утрата или изменение способности воспринимать вкус и запах | 4,5 $\rho^{*****}<0,01$ | 22,2 | 20,5 | 36,4 $\rho^{**}<0,01$ |
| Затруднения при проглатывании пищи и жидкости | 13,6 $\rho^{*****}<0,01$ | 22,2 | 25,6 | 39,4 $\rho^{**}<0,01$ |
| Рвота или тошнота | 0,0 $\rho^{*****}<0,01$ | 11,1 | 15,4 | 42,4 $\rho^{**}<0,01$ |
| Запор | 22,7 | 44,4 | 30,8 | 63,6 |
| Недержание кала | 4,5 $\rho^{*****}<0,01$ | 0 | 3,8 $\rho^{*****}<0,01$ | 6,1 $\rho^{**}<0,01$ $\rho^{***}<0,01$ |
| Ощущение неполного опорожнения кишечника после дефекации | 18,2 $\rho^{*****}<0,05$ | 33,3 | 24,4 $\rho^{*****}<0,05$ | 45,5 $\rho^{**}<0,05$ $\rho^{***}<0,05$ |
| Императивные позывы к мочеиспусканию | 22,7 | 44,4 | 32,1 | 39,4 |
| Мочеиспускания в ночное время | 54,5 | 66,7 | 64,1 | 69,7 |
| Необъяснимые боли | 22,7 | 22,2 | 21,8 | 33,3 |
| Необъяснимое изменение веса | 4,5 | 0 | 20,5 | 15,2 |
| Затруднения при запоминании недавних событий | 45,5 | 44,4 | 42,3 | 54,5 |
| Утрата интереса к происходящему вокруг и собственной деятельности | 22,7 | 11,1 | 15,4 | 9,1 |
| Зрительное и слуховое восприятие людей и предметов, которых на самом деле нет | 9,1 | 0 | 7,7 | 9,1 |
| Затруднения при концентрации внимания | 40,9 | 44,4 | 30,8 | 36,4 |
| Чувство печали, подавленности | 54,5 | 44,4 | 33,3 | 42,4 |
| Чувство тревоги, страха | 40,9 | 33,3 | 28,2 | 30,3 |
| Уменьшение/увеличение интереса к сексу | 36,4 | 11,1 | 25,6 | 15,2 |
| Затруднения при половом акте | 27,3 | 0 | 23,1 | 15,2 |
| Головокружение или слабость при вставании из положения сидя или лежа | 63,6 | 77,8 $\rho^{***}<0,05$ | 38,5 $\rho^{*****}<0,05$ | 51,5 |
| Падения | 9,1 | 11,1 | 19,2 | 30,3 |
| Непреодолимая сонливость днем | 9,1 | 0 | 25,6 | 21,2 |
| Затруднение при засыпании или прерывистый сон | 59,1 | 44,4 | 50,0 | 51,5 |
| Яркие или тревожные сновидения | 31,8 | 33,3 | 30,8 | 33,3 |
| Сногворение или двигательное возбуждение во время сна | 22,7 | 11,1 | 21,8 | 30,3 |
| Неприятные ощущения в ногах ночью или в покое или желание совершать движения ногами | 36,4 | 22,2 | 32,1 $\rho^{*****}<0,05$ | 57,6 $\rho^{***}<0,05$ |
| Отек ног | 50,0 | 66,7 | 38,5 | 39,4 |
| Повышенная потливость | 27,3 | 22,2 | 23,1 | 30,3 |
| Двоение в глазах | 18,2 | 33,3 | 19,2 | 27,3 |
| Убежденность в том, что другие люди вас оговаривают | 13,6 | 11,1 | 3,8 | 6,1 |

Примечание: ρ^{**} — по сравнению с группой ЭТ; ρ^{***} — по сравнению с группой БП ранние стадии; ρ^{*****} — по сравнению с группой БП развернутые стадии; ρ^{*****} — по сравнению с группой ЭТ-БП.

Обсуждение результатов. За последние 5 лет опубликованы результаты ряда исследований, которые позволили сформировать более глубокое представление о патогенезе ЭТ, общности патологических процессов, лежащих в основе ЭТ и БП [10, 20]. Несмотря на большой интерес, возникший вокруг особого варианта развития БП на фоне ЭТ, проблема «смешанного фенотипа» остается предметом дискуссий, часть авторов рассматривают ЭТ-БП как особый этап развития ЭТ, другие полагают, что данное сочетание является отдельной нозологической единицей со своей патофизиологией и клинической картиной, отличной от ЭТ и БП [21]. Немоторные нарушения значительно ухудшают качество жизни пациентов и приводят к инвалидизации, однако исследований, сравнивающих весь спектр немоторных нарушений у пациентов с ЭТ, БП и ЭТ-БП, на сегодняшний день не проводилось [7, 10]. Нами впервые проведено сравнительное исследование немоторных симптомов у пациентов с ЭТ, ЭТ-БП, БП, более того, впервые в России описаны немоторные нарушения у пациентов с ЭТ-БП.

Многие авторы сходятся во мнении, что пациенты с ЭТ подвержены повышенному риску развития деменции [22, 23]. Однако данные противоречивы. Так Н.А. Shill и соавт. не продемонстрировали повышенного риска развития деменции [24]. Нами выявлены расстройства когнитивного статуса в группе ЭТ у 69,4% пациентов, деменция легкой степени — у 7,5% и деменция средней степени — у 1,9%. Вероятно, когнитивные нарушения в данной группе вызваны особыми структурными изменениями в некоторых регионах головного мозга, описанными у пациентов с ЭТ [25]. В представленном нами исследовании у пациентов с БП когнитивные расстройства встречаются чаще, чем у пациентов с ЭТ и ЭТ-БП, хотя процент встречаемости в каждой из данных групп достаточно высок. Отдельно следует отметить, что пациенты с ЭТ по уровню выраженности когнитивных расстройств соответствуют пациентам группы БП1, что соотносится с данными исследований Y. Sengul и J. Chen [10, 26]. Интересен факт, что группа ЭТ-БП не отличается ни от одной из исследуемых групп пациентов и от КГ по когнитивному статусу. Мы связываем это с тем, что обследуемая нами группа ЭТ-БП немногочисленна и гетерогенна по возрасту и длительности заболевания. Полученные нами данные противоречат ранее опубликованным результатам E. Louis и соавт., которые показали, что пациенты с ЭТ-БП имеют более выраженные когнитивные нарушения, чем пациенты с БП и ЭТ [7]. При оценке беглости речи и выраженности

когнитивных нарушений по лобному типу явные нарушения были выявлены только в группе БП2.

При оценке степени аффективных нарушений нами было показано, что пациенты с ЭТ, БП и ЭТ-БП имеют тревожно-депрессивное расстройство. Обращает на себя внимание, что пациенты с ЭТ имели более выраженную депрессию, чем пациенты группы БП1, что противоречит данным ряда авторов, которые либо не выявили различий между данными группами по выраженности депрессии, либо, наоборот, пациенты с БП были более подвержены депрессивным расстройствам [27, 28]. Вероятно, это связано с тем, что пациенты с БП в указанных исследованиях не были разделены на группы по стадиям болезни. Обращают на себя внимание выявленные выраженные тревожно-депрессивные расстройства в группе ЭТ-БП, которые достигали степени тяжести, наблюдаемой у пациентов с развернутыми стадиями БП. Таким образом, для группы пациентов с ЭТ-БП характерна большая, по сравнению с БП, выраженность тревожно-депрессивных нарушений при меньшей выраженности акинетико-ригидного синдрома.

Различий по влиянию тремора на качество здоровья в группах ЭТ и ЭТ-БП выявлено не было, в отличие от исследования 2016 г., где было показано, что пациенты с ЭТ-БП имеют значительно более низкое качество жизни по сравнению с больными с ЭТ [29].

Нами впервые проведен анализ немоторных симптомов у пациентов с ЭТ-БП с помощью NMSQuest в сравнении с ЭТ и разными стадиями БП. Более половины пациентов с ЭТ отмечали чувство печали и ночное мочеиспускание, что совпадает с результатами исследований Y. Sengul и соавт. [10] и Lombardi и соавт. [1]. В нашем исследовании пациентов с БП чаще беспокоили расстройства ночного мочеиспускания (БП1 — 64,1% и БП2 — 69,7%), в отличие от данных Y. Sengul и соавт., в котором у пациентов с БП чаще встречались запоры (73,9%) и необъяснимые боли (73,9%) [10]. Следует отметить, что исследование Y. Sengul и соавт. включало малое количество пациентов. Нами показаны значимые различия в жалобах на функционирование желудочно-кишечного тракта у пациентов с ЭТ и на развернутых стадиях БП. Ранее M. Giorelli и соавт. также продемонстрировали, что пациентов с БП сиалорея и гипосмия беспокоили значительно чаще, чем пациентов с ЭТ, однако обнаруженная ими разница по частоте встречаемости галлюцинаций, нарушения концентрации внимания, снижения веса, расстройств сна, ортостатического головокружения, падений [30] нами не показана.

В группе ЭТ-БП наиболее частым симптомом являлось головокружение или слабость при вставании с кресла — 77,8%. Интересно отметить, что группа ЭТ-БП не отличалась по NMSQuest ни от ЭТ, ни от БП, за исключением ортостатического головокружения, которое в группе ЭТ-БП встречалось достоверно чаще, чем в группе БП1, но было соотносимо по частоте с группами ЭТ и БП2.

Данные, полученные в ходе нашего исследования, демонстрируют широкий спектр немоторных симптомов у пациентов с ЭТ, что еще раз указывает на весьма относительную доброкачественность данного заболевания. На сегодняшний день нет однозначного понимания патогенеза ЭТ. Если моторные проявления ЭТ, в том числе поструральные нарушения и расстройства ходьбы, связывают с дисфункцией мозжечка и его систем [31, 32], то понимание процессов, лежащих в основе немоторных симптомов, является одним из ключевых вопросов, ответ на который позволит понять, является ли ЭТ нейродегенеративным заболеванием. Широкий спектр клинических проявлений у пациентов с ЭТ, связан, по-видимому, с выявленными в последнее время специфическими структурными изменениями в базальных ганглиях, а также дисфункцией мозжечково-стволовых и мозжечково-таламо-корковых систем [33, 34]. Накопились некоторые патофизиологические данные, свидетельствующие в пользу наличия нейродеге-

нерации при ЭТ: помимо гибели клеток Пуркинью [35], в головном мозге пациентов с ЭТ выявлены многочисленные изменения, которые наблюдаются при мозжечковых дегенерациях [36]. Интересно, что процесс не ограничивается только мозжечком, а распространяется на лобные и затылочные доли, захватывая небольшой участок в левой средней височной извилине и правой верхней теменной дольке [37]. Это подтверждается нейрогистохимическими и нейровизуализационными исследованиями и заставляет задуматься о вкладе в патогенез ЭТ нейродегенеративного процесса [34].

Заключение. В настоящее время медикаментозная терапия эссенциального тремора направлена исключительно на коррекцию гиперкинеза. Полученные нами данные указывают на необходимость своевременного выявления и коррекции немоторных проявлений у пациентов с ЭТ, что позволит улучшить качество их жизни. Пациенты с БП, развивающейся на фоне существующего эссенциального тремора, представляют собой особую группу пациентов с клиническими характеристиками, отличающимися как от ЭТ, так и, что особенно важно, от идиопатической БП. Данные, полученные в нашем исследовании, косвенно подтверждают гипотезу о наличии особой нозологической формы — Болезнь Паркинсона, развившаяся на фоне эссенциального тремора. Следует проводить дальнейшие патоморфологические и клинические исследования в данном направлении.

Литература

1. Lombardi W.J., Woolston D.J., Roberts J.W., Gross R.E. Cognitive deficits in patients with essential tremor // *Neurology*. 2001. Vol. 57, No 5. P. 785–790.
2. Critchley E. Clinical manifestations of essential tremor // *J. Neurol. Neurosurg Psychiatry*. 1972. Vol. 35, No 3. P. 365–372.
3. Louis E., Diaz D., Kuo S., Gan S., Cortes E., Vonsattel J. et al. Inferior Olivary nucleus degeneration does not lessen tremor in essential tremor // *Cerebellum & Ataxias*. 2018. Vol. 5. P. 1.
4. Klaming R., Annese J. Functional anatomy of essential tremor: lessons from neuroimaging // *Am. J. Neuroradiol*. 2014. Vol. 35, No 8. P. 1450–1457.
5. Rajput A., Rozdilsky B., Ang L., Rajput A. Significance of parkinsonian manifestations in essential tremor // *Can. J. Neurol. Sci*. 1993. Vol. 20, No 2. P. 114–117.
6. Ozen Barut B., Gunal D., Turkmen Z., Mollahasanoglu A., Ankarali H. Clinical and cognitive profiles of patients with both Parkinson's disease and essential tremor // *Acta Neurologica Belgica*. 2012. Vol. 113. P. 117–125.
7. Louis E., Wise A., Alcalay R., Rao A., Factor-Litvak P. Essential tremor-Parkinson's disease: A double whammy // *Journal of the Neurological Sciences*. 2016. Vol. 366. P. 47–51.
8. Postuma R.B. et al. MDS clinical diagnostic criteria for Parkinson's disease // *Movement Disorders*. 2015. Vol. 30, No 12. P. 1591–1601.
9. Deuschl G., Bain P., Brin M. Consensus Statement of the Movement Disorder Society on Tremor // *Movement Disorders*. 2008. Vol. 13. P. 2–23.
10. Sengul Y., Sengul H., Sural M., Bakim B., Forta H. Comparison between rate of nonmotor symptom development in essential tremor and Parkinson's disease // *Acta Neurol. Belg*. 2015. Vol. 115, No 3. P. 289–294.

11. *Tombaugh T., McIntyre N.* The mini-mental state examination: a comprehensive review // *J. Am. Geriatr. Soc.* 1992. Vol. 40, No 9. P. 922–935.
12. *Nazem S., Siderouf A., Duda J., Ten Have T., Colcher A., Horn S. et al.* Montreal Cognitive Assessment Performance in Patients with Parkinson's Disease with a «normal» — global cognition according to mini-mental state examination score // *Journal of the American Geriatrics Society.* 2009. Vol. 57. P. 304–308.
13. *Slachevsky A., Villalpando J., Sarazin M., Hahn-Barma V., Pillon B., Dubois B.* Frontal Assessment Battery and Differential Diagnosis of Frontotemporal Dementia and Alzheimer Diseases // *Archives of Neurology.* 2004. Vol. 61, No 7. P. 1104–1107.
14. *Obeso I., Casabona E., Bringas M., Blvarez L., Jahanshahi M.* Semantic and Phonemic Verbal Fluency in Parkinson's Disease: Influence of Clinical and Demographic Variables // *Behavioural Neurology.* 2012. Vol. 25. P. 111–118.
15. *Kick S., Bell J., Norris J., Steiner J.* Validation of two anxiety scales in a university primary care clinic // *Psychosomatic Medicine.* 1994. Vol. 56. P. 570–576.
16. *Snaith R.* The Hospital Anxiety and Depression Scale // *Psychiatric Bulletin.* 1992. Vol. 16. P. 451.
17. *Kurner A., Lauritzen L., Abelskov K., Gulmann N., Brodersen M.A., Wedervang-Jensen T. et al.* The Geriatric Depression Scale and the Cornell Scale for Depression in Dementia. A validity study // *Nordic Journal of Psychiatry.* 2006. Vol. 60. P. 360–364.
18. *Rabin R., Charro F.* EQ-SD: a measure of health status from the EuroQol Group // *Annals of Medicine.* 2001. Vol. 33. P. 337–343.
19. *Truster A., Pahwa R., Fields J., Tanner C., Lyons K.* Quality of life in Essential Tremor Questionnaire (QUEST): Development and initial validation // *Parkinsonism & Related Disorders.* 2005. Vol. 11. P. 367–373.
20. *Thanawattano C., Anan C., Pongthornseri R., Dumnin S., Bhidayasiri R.* Temporal fluctuation analysis of tremor signal in Parkinson's disease and Essential tremor subjects // *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc.* 2015. P. 6054–6057.
21. *Иллариошкин С., Иванова-Смоленская И.* Дрожательные гиперкинезы. М.: Изд. Холд. Атмосфера, 2011. 360 с. [*Illarioshkin S., Ivanova-Smolenskaya I.* Tremulous hyperkineses. Moscow: Izd. Hold. Atmosphaera, 2011. 360 p.]
22. *Bermejo-Pareja F.* Essential tremor — a neurodegenerative disorder associated with cognitive defects? // *Nat. Rev. Neurol.* 2011. Vol. 7, No 5. P. 273–282.
23. *Thawani S., Schupf N., Louis E.* Essential tremor is associated with dementia: prospective population-based study in New York // *Neurology.* 2009. Vol. 73, No 8. P. 621–625.
24. *Shill H., Hentz J., Jacobson S., Belden C., Sabbagh M., Beach T. et al.* Essential Tremor in the Elderly and Risk for Dementia // *Journal of Neurodegenerative Diseases.* 2014. Vol. 2014. P. 1–5.
25. *Benito-Leyn J., Mato-Abad V., Louis E., Hernández-Tamames J., Blvarez-Linera J., Bermejo-Pareja F. et al.* White matter microstructural changes are related to cognitive dysfunction in essential tremor // *Scientific Reports.* 2017. Vol. 7, No 1. P. 2978.
26. *Chen J., Yao J., Wu Y., Chen Y., Mao C., Liu C.* Cognitive dysfunctions associated with essential tremor and Parkinson's disease // *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* 2014. Vol. 94, No 31. P. 2412–2416.
27. *Левин О., Македонский П., Смоленцева И., Лычева Н.* Нейропсихологические нарушения у больных с эссенциальным тремором // *Неврологический журнал.* 2005. No 4. С. 25–33. [*Levin O., Makedonsky P., Smolentseva I., Lycheva N.* Neuropsychological Journal. 2005, No 4, pp. 25–33].
28. *Lee S., Kim M., Lee H., Kwon K., Koh S.* Nonmotor symptoms in essential tremor: Comparison with Parkinson's disease and normal control // *Journal of the Neurological Sciences.* 2015. Vol. 349. P. 168–173.
29. *Thenganat M.A., Jankovic J.* The relationship between essential tremor and Parkinson's disease // *Parkinsonism & related disorders.* 2016. Vol. 1. P. 162–165.
30. *Giorelli M., Bagnoli J., Consiglio L., Lopane M., Bosco Zimatore G., Zizza D. et al.* Do non-motor symptoms in Parkinson's disease differ from essential tremor before initial diagnosis? A clinical and scintigraphic study // *Parkinsonism & Related Disorders.* 2014. Vol. 20. P. 17–21.
31. *Louis E.* Essential tremor: from bedside to bench and back to bedside // *Curr. Opin. Neurol.* 2014. Vol. 27, No 4. P. 461–467.
32. *Benito-Leyn J., Alvarez-Linera J., Hernández-Tamames J., Alonso-Navarro H., Jiménez-Jiménez F., Louis E.* Brain structural changes in essential tremor: Voxel-based morphometry at 3-Tesla // *Journal of the Neurological Sciences.* 2009. Vol. 287. P. 138–142.

33. *Hanajima R.* Pathophysiology of tremor rhythm // *Rinsho Shinkeigaku*. 2013. Vol. 53. P. 1276–1278.
34. *Benito-Leyn J.* Essential tremor: one of the most common neurodegenerative diseases? // *Neuroepidemiology*. 2011. Vol. 36, No 2. P. 77–78.
35. *Louis E., Vonsattel J.* The emerging neuropathology of essential tremor // *Movement Disorders*. 2007. Vol. 23. P. 174–182.
36. *Louis E.D., Faust P.L., Vonsattel J.P., Honig L.S., Rajput A., Robinson C.A. et al.* Neuro-pathological changes in essential tremor: 33 cases compared with 21 controls // *Brain*. 2007. Vol. 130. P. 3297–3307.
37. *Louis E., Frucht S.* Prevalence of essential tremor in patients with Parkinson's disease vs. Parkinson-plus syndromes // *Movement Disorders*. 2007. Vol. 22. P. 1402–1407.

Поступила в редакцию: 09.04.2018 г.

Контакт: *Кудреватых Анастасия Владимировна*, kudrevatykh91@mail.ru

Сведения об авторах:

Кудреватых Анастасия Владимировна — аспирант, врач-невролог клиники ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»; 197376, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 12; e-mail: kudrevatykh91@mail.ru;

Дидур Михаил Дмитриевич — доктор медицинских наук, профессор, ВРМО директора «Институт мозга человека им. Н.П. Бехтеревой» Российской академии наук; 197376, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 9; e-mail: didour@mail.ru;

Сергеев Тимофей Владимирович — научный сотрудник, ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»; 197376, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 12; e-mail: Stim@yandex.ru;

Буг Дмитрий Сергеевич — студент ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова» Минздрава России; 197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8; e-mail: dug.dmitrij@gmail.ru;

Милыхина Ирина Валентиновна — кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник, руководитель НКЦ нейродегенеративных заболеваний клиники ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»; 197376, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 12; e-mail: milyukhinaiv@yandex.ru.

УДК 616.155.34:577.213.7:616.379-008.64

ЦИРКУЛИРУЮЩИЕ НЕЙТРОФИЛЬНЫЕ ВНЕКЛЕТОЧНЫЕ ЛОВУШКИ У ПАЦИЕНТОВ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2-ГО ТИПА С ГНОЙНО-НЕКРОТИЧЕСКИМИ ОСЛОЖНЕНИЯМИ

Д.И. Максимов, Л.Ю. Басырева, А.А. Гусев, Т.В. Вахрушева, А.В. Яскевич, С.А. Гусев,
Е.М. Островский, О.М. Панасенко, В.И. Сергиенко

ФГБУ «Федеральный научно-клинический центр физико-химической медицины
Федерального медико-биологического агентства», Москва, Россия

CIRCULATING NEUTROPHIL EXTRACELLULAR TRAPS IN TYPE 2 DIABETES MELLITUS PATIENTS WITH SUPPURATIVE AND NECROTIC COMPLICATIONS

D.I. Maximov, L.Yu. Basyreva, A.A. Gusev, T.V. Vakhrusheva, A.V. Yaskevich, S.A. Gusev, E.M. Ostrovsky,
O.M. Panasenko, V.I. Sergienko

FSBI «Federal Research and Clinical Center of Physical-Chemical Medicine of Federal Medical Biological Agency», Moscow, Russia

© Коллектив авторов, 2018 г.

© A team of authors, 2018.

Цель исследования. Известно участие нейтрофильных внеклеточных ловушек (НВЛ) во многих патологических процессах, что указывает на их содержание в крови как на важную характеристику состояния организма. При исследовании НВЛ их концентрацию в крови обычно оценивают косвенным путем, что имеет ряд недостатков. Нашей целью было определять их количество как целостных образований напрямую, используя мазки крови как наиболее подходящий для клиники вариант, и провести для выяснения целесообразности этого анализа измерение содержания НВЛ в крови у пациентов с сахарным диабетом 2-го типа (СД2) с гнойно-некротическими осложнениями. *Материалы и методы исследования.* НВЛ оценивали подсчетом в стандартизированных мазках крови, окрашенных по Романовскому. *Результаты.* Средний уровень НВЛ в крови пациентов был выше, чем у здоровых лиц. С ростом содержания в крови гликированного гемоглобина (HbA1c) возрастала концентрация НВЛ в группе здоровых добровольцев и у пациентов с высоким уровнем НВЛ. У остальных пациентов концентрация НВЛ с ростом HbA1c снижалась. Высокое содержание НВЛ и прямая корреляция этого показателя с HbA1c наблюдались у пациентов с флегмоной, обширной инфицированной раной, гангреной голени, гнойным медиастенитом. У остальной части пациентов преобладали инфицированные раны, абсцессы, гангрена пальца. *Заключение.* Данная пилотная работа показала целесообразность измерения (с помощью мазков крови) концентрации циркулирующих в крови НВЛ как клинического показателя для дополнительной оценки тяжести состояния, прогноза длительности заживления послеоперационных ран и вероятности осложнений в виде тромбозов при СД2.

Ключевые слова: нейтрофильные внеклеточные ловушки, мазок крови, гликированный гемоглобин, сахарный диабет 2-го типа, гнойно-некротические осложнения.

Aim of the study. Neutrophil extracellular traps (NETs) have been reported to participate in many pathological processes, which points at NET concentration in blood as an important indicator of the body condition. When studying NETs, their blood concentration is usually evaluated indirectly, which has a number of shortcomings. We aimed to measure directly the amount of NETs as integral structures, using blood smears as a most suitable tool for clinical practice, and to carry out measurements of NET levels in blood of type 2 diabetes mellitus (T2DM) patients with necrotic suppurative complications to elucidate the usefulness of this assay. *Materials and methods of the research.* NETs were quantified by counting in standardized blood smears stained with Romanovsky dyes. *Results.* The mean level of circulating NETs in the blood of patients was higher than that in healthy subjects. Blood NET concentration in healthy persons and patients with high levels of NETs increased as glycated hemoglobin (HbA1c)

concentration increased in the blood. In other patients, NET concentration decreased as HbA1c increased. Elevated NET levels and a direct correlation between NETs and HbA1c were observed in patients with phlegmon, large-area infected wound, lower leg gangrene, suppurative mediastinitis. In other patients, the prevailing lesions were infected wounds, abscesses, finger gangrene. *Conclusion.* This pilot study demonstrated the usefulness of measurement (using blood smear) of circulating NET concentration in the blood as a clinical parameter that would help to estimate patient's condition, to predict the duration of post-surgical wound healing and the probability of complications in the form of thrombosis in T2DM.

Key words: neutrophil extracellular traps, blood smear, glycated hemoglobin, type 2 diabetes mellitus, necrotic suppurative complications.

Введение. Нейтрофильные внеклеточные ловушки (НВЛ) представляют собой сетеподобные структуры, выбрасываемые активированными нейтрофилами во внеклеточное пространство и состоящие из деконденсированного хроматина с включенными в него гистонами и различными антимикробными белками гранул, такими как миелопероксидаза (МПО), эластаза, лактоферрин. Нетоз — процесс программируемой клеточной гибели, сопровождающийся выбросом НВЛ, является важным звеном в осуществлении нейтрофилами антимикробной функции [1–3]. С другой стороны, чрезмерная продукция НВЛ может приводить к развитию воспалительных процессов и способствовать патологическим состояниям [4, 5]. В связи с этим возник интерес к измерению НВЛ в крови или других тканях как важного клинического показателя.

В настоящее время при клинических исследованиях для оценки количества НВЛ в крови чаще всего регистрируют суррогатные маркеры, такие как внеклеточная ДНК, концентрация комплексов нейтрофильная эластаза-ДНК и др., а также используют выделенные нейтрофилы для оценки способности генерировать НВЛ [6]. Однако приведенные параметры лишь косвенно оценивают реальное количество НВЛ, циркулирующих в крови в данное время. Это связано с тем, что концентрация суррогатных маркеров, определяемая с помощью регистрации составных компонентов НВЛ, зависит от способности ДНКазы1 расщеплять НВЛ в крови. Кроме того, патогенетическое значение составных компонентов НВЛ и самих НВЛ различно. Так, МПО принимает участие в окислительном/галогенирующем стрессе, нейтрофильная эластаза может быть причиной «протеазного шторма», гистоны обладают прямым токсическим действием на ткани и органы [7, 8]. Оценка способности выделенных нейтрофилов генерировать НВЛ *in vitro* мало соотносится с реальными процессами в крови, поскольку при выделении нейтрофилов часть клеток теряется, удаляются белки и клетки, несущие на поверхности паттерн сиаловых кислот, тормозящий активацию нейтрофилов [9].

Сказанное выше затрудняет интерпретацию данных, получаемых с помощью выше описанных подходов. В связи с этим чрезвычайно актуальным является оценка количества непосредственно тех структур, которые получили название НВЛ. В ряде исследований было показано, что количественный анализ НВЛ можно проводить на мазках крови [10–14]. Мы попытались провести предварительное исследование, направленное на выявление принципиальной возможности использования мазков крови для определения концентрации в ней НВЛ с целью дополнительной оценки активации клеточного звена врожденного иммунитета и тяжести состояния больных на примере сахарного диабета 2-го типа (СД2) с гнойно-некротическими осложнениями. СД2 ассоциируется с хроническим воспалением низкой интенсивности, в основе которого ответ врожденной системы иммунитета [15, 16]. НВЛ могут повреждать эндотелий сосудов и ткани, усиливая воспаление и становясь активным звеном патогенетических механизмов [17].

Цель исследования: выяснить целесообразность оценки количества циркулирующих в крови НВЛ с использованием мазков крови как клинического показателя у пациентов с СД2 с гнойно-некротическими осложнениями.

Материалы и методы исследования. В исследовании, одобренном локальным этическим комитетом, участвовали здоровые добровольцы (n=17) и пациенты с диагнозом СД2 (n=26), проходившие лечение в Центре гнойной хирургии и регенераторных технологий ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России. От больных и здоровых лиц было получено информированное согласие на участие в исследовании и заборе крови для анализов.

Венозную кровь забирали в вакутейнеры с натрия цитратом. В клинической лаборатории проводили общий и биохимический анализы крови, в том числе определяли уровень гликированного гемоглобина (HbA1c), базовый уровень глюкозы, креатинин, мочевины, билирубин, активность аспаратаминотрансферазы и аланинаминотрансферазы. Сразу после взятия крови готовили стандартизированные мазки.

Концентрацию НВЛ в крови определяли в соответствии с предложенным нами методом [14]. Мазки крови окрашивали по Романовскому. В средней трети мазков подсчитывали соотношение между количеством лейкоцитов и НВЛ. При этом подсчитывали 300–500 лейкоцитов. При расчете концентрации НВЛ в крови (число НВЛ в 1 мкл крови) дополнительно использовали данные о количестве лейкоцитов в 1 мкл крови, которые были получены при проведении клинического анализа крови. Для подсчета клеток на мазках использовали микроскоп Motic ВЗ (Motic Asisa, Hong Kong).

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета программ STATISTICA 6.0.

Результаты и их обсуждение. В исследовании приняли участие 17 здоровых добровольцев и 26 пациентов с СД2 с гнойно-некротическими осложнениями в виде флегмон различной локализации, гангрены пальцев и голени. О выраженной воспалительной реакции в группе пациентов свидетельствовало повышение содержания лейкоцитов в крови, при этом достоверно увеличивалось содержание мочевины и креатинина (таблица).

Таблица

Характеристика участников исследования. Данные представлены в виде медианы, в скобках указаны минимальное и максимальное значения

| Показатель | Здоровые добровольцы | Пациенты (сахарный диабет 2-го типа) |
|---------------------|----------------------|--------------------------------------|
| Мужчины | 5 | 14 |
| Женщины | 12 | 12 |
| Возраст, годы | 57 (44–67) | 61,5 (44–77) |
| НbA1c, % | 5,8 (5,1–6,5) | 8,1 (6,2–11,7)** |
| БУГ, ммоль/л | 5,2 (4,7–6,6) | 9,6 (5,6–25,0)** |
| Креатинин, мкмоль/л | 92 (78–115) | 115 (71–355)* |
| Мочевина, ммоль/л | 5,3 (3,5–6,6) | 7,7 (2,7–28,6)* |
| Билирубин, мкмоль/л | 6,5 (4,7–19,3) | 10,1 (2,7–27,3) |
| АсАТ, МЕ/л | 21,1 (13,8–39,8) | 22,4 (13,4–54,2) |
| АлАТ, МЕ/л | 21,8 (10,5–37,5) | 23,0 (11,4–78,5) |
| Лейкоциты/мкл крови | 6300 (3670–7750) | 8550 (5400–24450)* |

Примечание. НbA1c — гликированный гемоглобин; БУГ — базовый уровень глюкозы; АсАТ — аспартатамино-трансфераза; АлАТ — аланинаминотрансфераза.

* $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ относительно группы здоровых добровольцев (по критерию Манна–Уитни).

Качественный анализ полученных мазков показал, что форма и размеры НВЛ, а также их контакты с клетками крови в группе здоровых добровольцев и у пациентов с СД2 визуально не отличаются. На рис. 1 представлены типичные НВЛ, встречающиеся как у здоровых лиц, так и у пациентов с СД2.

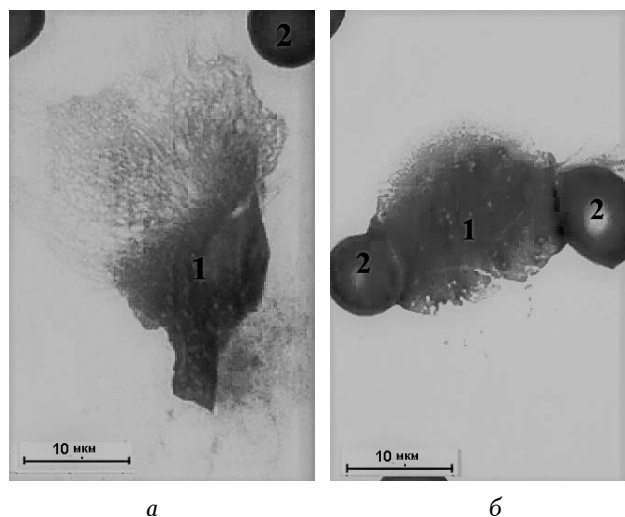


Рис. 1. Типичные нейтрофильные внеклеточные ловушки (НВЛ) на мазках крови, полученных от пациентов с сахарным диабетом 2-го типа. Окраска по Романовскому. Длина маркера на фотографиях 10 мкм. 1 — НВЛ, 2 — эритроциты; а — НВЛ, лежащая свободно между клетками; б — НВЛ, контактирующая с эритроцитами.

Концентрация НВЛ у пациентов в среднем в 1,7 раза превышала таковую для здоровых добровольцев ($p < 0,05$) (рис. 2).

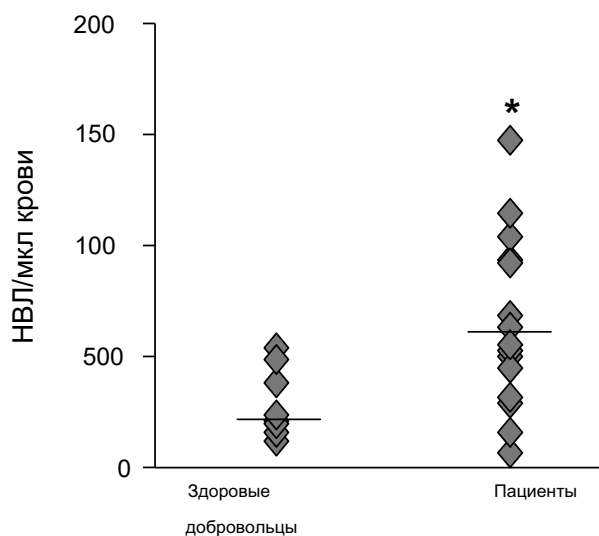


Рис. 2. Концентрация нейтрофильных внеклеточных ловушек (НВЛ) в крови здоровых добровольцев и пациентов с сахарным диабетом 2-го типа с гнойно-некротическими осложнениями. Горизонтальными отрезками отмечена медиана. * $p < 0,05$ по сравнению со здоровыми добровольцами по критерию Манна–Уитни.

При сопоставлении содержания HbA1c и содержания НВЛ в крови у здоровых людей между этими показателями выявилась достоверная положительная корреляция. Эти данные представлены в виде темных треугольников на рис. 3. Коэффициент корреляции для них составил $r=0,84$, $p<0,001$. При объединении данных для здоровых добровольцев и пациентов обнаружилось, что у части пациентов зависимость между НВЛ и HbA1c имела тот же характер (светлые треугольники на рис. 3), что и у здоровых добровольцев. Для данных, полученных у этой части пациентов, коэффициент корреляции равнялся $r=0,93$, $p<0,05$. Как видно из рис. 3, для этих пациентов характерно относительно высокое содержание НВЛ в крови. Для остальных пациентов зависимость была обратной, и с ростом HbA1c концентрация НВЛ в крови снижалась ($r = -0,70$, $p<0,05$; светлые ромбы на рис. 3). При этом у этих пациентов значения концентрации НВЛ располагались в диапазоне, наблюдаемом у здоровых добровольцев.

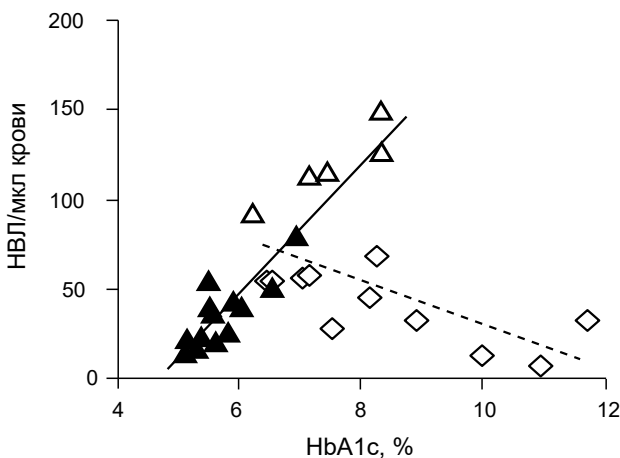


Рис. 3. Корреляции между концентрацией нейтрофильных внеклеточных ловушек (НВЛ) и содержанием гликированного гемоглобина (HbA1c) в крови здоровых добровольцев и пациентов с сахарным диабетом 2-го типа с гнойно-некротическими осложнениями. Линии тренда: сплошная линия — корреляция для здоровых добровольцев (темные треугольники) и пациентов с высокой концентрацией НВЛ (светлые треугольники); пунктирная линия — корреляция для пациентов с концентрацией НВЛ, соответствующей уровню НВЛ у здоровых добровольцев (светлые ромбы).

Однозначной зависимости между базовым уровнем глюкозы и концентрацией НВЛ не наблюдали ни у здоровых лиц ($r=0,2$; $p>0,05$), ни у пациентов ($r=-0,14$; $p>0,05$).

На основании полученных данных можно предположить, что ответная реакция нейтрофилов в виде нетоза при развитии осложнений СД2 может происходить по двум сценариям. В рамках первого сценария скорость образования НВЛ будет превышать скорость их деградации и эли-

минации (светлые треугольники на рис. 3). При втором сценарии скорость деградации и элиминации НВЛ будет преобладать над скоростью их образования (светлые ромбы на рис. 3). Природа таких механизмов пока неясна. Небольшой объем выборки не позволяет однозначно утверждать, что высокая концентрация НВЛ способствует (или сопутствует) развитию гнойно-некротических осложнений. Однако следует отметить, что высокий уровень содержания НВЛ и его положительная корреляция с HbA1c наблюдались у пациентов с флегмоной, обширной инфицированной раной, гангреной голени, гнойным медиастенитом. У остальной части пациентов преобладали инфицированные раны, абсцессы, гангрена пальца.

В качестве примера рассмотрим типичную историю болезни пациента с высоким уровнем НВЛ в крови (1409 НВЛ/мкл).

Больная Т., 61 год. *Диагноз.* Сахарный диабет 2-го типа в течение 15 лет. Индивидуальный целевой уровень гликированного гемоглобина — 7,5%. Гликемия натощак — 7,5 ммоль/л, после еды — 10 ммоль/л. Диабетическая дистальная полинейропатия 3-й стадии, диабетическая макро- и микроангиопатия, диабетическая нефропатия (хроническая болезнь почек, стадия 3б). Синдром диабетической стопы нейроишемической формы, обширная гнилостно-некротическая флегмона правой стопы. Ишемическая болезнь сердца, стенокардия напряжения 2-го функционального класса. Атеросклеротический кардиосклероз. Стенозирующий атеросклероз артерий нижних конечностей. Остаточные явления перенесенного острого нарушения мозгового кровообращения. Гипертоническая болезнь 2-й степени. Артериальная гипертензия 2-й степени, риск 4. Ожирение 1-й степени. Состояние при поступлении средней степени тяжести. *Лечение.* Выполнены операции: вскрытие флегмоны, хирургическая обработка гнойного очага (12×5 см) правой стопы, экзартикуляция первого пальца и 1-й плюсневой кости правой стопы. Проведена системная антибактериальная терапия с учетом чувствительности выделенной микрофлоры и ПЦР исследования генов резистентности. Проводилась реологическая и флеботропная терапия, коррекция гликемии, местное лечение с использованием инновационных перевязочных средств в виде вакуумной системы закрытия ран (Vacuum-assisted closure — VAC). *Результат лечения.* Выраженный клинический эффект в виде купирования болевого синдрома, уменьшения в размере раны стопы до 7×3 см, активное развитие грануляционной ткани в центре, эпителизация с краев раны подошвенной части стопы. Время нахождения в стационаре составило 31 койко-день.

Иная картина наблюдалась у пациента с низким уровнем НВЛ в крови (319 НВЛ/мкл).

Больной Р., 61 год. *Диагноз.* Сахарный диабет 2-го типа в течение 10 лет. Индивидуальный целевой уровень гликированного гемоглобина — 8%. Гликемия натощак — 8,0 ммоль/л, после еды — 11 ммоль/л. Диабетическая дистальная полинейропатия, диабетическая макро- и микроангиопатия, диабетическая нефропатия, множественные инфицированные раны (2×1 см) правой голени. Состояние при поступлении удовлетворительное. *Лечение.* Больному проведена системная антибактериальная терапия с учетом чувствительности выделенной микрофлоры и ПЦР исследования генов резистентности. Проводилась реологическая и флеботропная терапия, коррекция гликемии, местное лечение с использованием VАС. *Результат лечения.* Выраженный клинический эффект в виде купирования болевого синдрома, полной эпителизации раневых дефектов. Время нахождения в стационаре составило 14 койко-дней.

Выводы и заключение. Проведенное исследование показало, что в контрольной группе (здоровые добровольцы) между концентрациями в крови НВЛ и НbА1с имеется прямая достоверная корреляция. Эти предварительные данные позволяют предположить, что увеличение длительно-

сти гипергликемии может привести к системной активации нейтрофилов, которая проявляется образованием НВЛ. Увеличение количества НВЛ в циркулирующей крови может вызвать формирование тромбов, а это повышает вероятность развития таких осложнений, как инфаркт и инсульт.

Полученные данные о содержании НВЛ в крови пациентов с СД2 с гнойными осложнениями показали, что высокий уровень НВЛ ассоциирован с тяжелым течением процесса и длительным нахождением в стационаре. Можно предположить, что концентрация НВЛ в крови пациентов при поступлении может быть дополнительным критерием тяжести состояния, указывать на возможное долгое заживление послеоперационных ран и свидетельствовать о высокой вероятности развития осложнений в виде тромбозов.

В связи с этим кажется целесообразным использовать концентрацию НВЛ в крови в качестве прогностического критерия для дополнительной оценки тяжести состояния, предсказания длительности заживления послеоперационных ран и вероятности развития осложнений в виде тромбозов.

Работа выполнена при поддержке Федерального медико-биологического агентства в рамках государственного заказа, шифр темы «Воспаление».

Литература

1. Brinkmann V., Reichard U., Goosmann C., Fauler B., Uhlemann Y., Weiss D.S., Weinrauch Y., Zychlinsky A. Neutrophil extracellular traps kill bacteria // *Science*. 2004. Vol. 303, No 5663. P. 1532–1535.
2. Brinkmann V., Zychlinsky A. Neutrophil extracellular traps: is immunity the second function of chromatin // *J. Cell Biol.* 2012. Vol. 198, No 5. P. 773–783.
3. Marin-Esteban V., Turbica I., Dufour G., Semiramoth N., Gleizes A., Gorges R. Afa/Dr diffusely adhering Escherichia coli strain C1845 induces neutrophil extracellular traps that kill bacteria and damage human enterocyte-like cells // *Infect. Immun.* 2012. Vol. 80, No 5. P. 1891–1899.
4. Delgado-Rizo V., Martinez-Guzmán M.A., Iiguez-Gutierrez L., Garcia-Orozco A., Alvarado-Navarro A., Fafutis-Morris M. Neutrophil extracellular traps and its implications in inflammation: an overview // *Front. Immunol.* 2017. Vol. 8. P. 81.
5. Simon D., Simon H.U., Yousefi S. Extracellular DNA traps in allergic, infectious, and autoimmune diseases // *Allergy*. 2013. Vol. 68, No 4. P. 409–416.
6. Pérez-Sánchez C., Ruiz-Limyn P., Aguirre M.A., Jiménez-Gymez Y., Arias-de la Rosa I., Ábalos-Aguilera M.C., Rodríguez-Ariza A., Castro-Villegas M.C., Ortega-Castro R., Segui P., Martínez C., Gonzalez-Conejero R., Rodríguez-López S., Gonzalez-Reyes J.A., Villalba J.M., Collantes-Estévez E., Escudero A., Barbarroja N., López-Pedreira C. Diagnostic potential of NETosis-derived products for disease activity, atherosclerosis and therapeutic effectiveness in Rheumatoid Arthritis patients // *J. Autoimmun.* 2017. Vol. 82. P. 31–40.
7. Silk E., Zhao H., Weng H., Ma D. The role of extracellular histone in organ injury // *Cell Death Dis.* 2017. Vol. 8. P. 2812.
8. Fuchs T.A., Brill A., Duerschmied D., Schatzberg D., Monestier M., Myers D.D.Jr., Wroblewski S.K., Wakefield T.W., Hartwig J.H., Wagner D.D. Extracellular DNA traps promote thrombosis // *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2010. Vol. 107, No 36. P. 15880–15885.
9. Lizcano A., Secundino I., Duhrmann S., Corriden R., Rohena C., Diaz S., Ghosh P., Deng L., Nizet V., Varki A. Erythrocyte sialoglycoproteins engage Siglec-9 on neutrophils to suppress activation // *Blood*. 2017. Vol. 129, No 23. P. 3100–3110.

10. Hamaguchi S., Hirose T., Akeda Y., Matsumoto N., Irisawa T., Seki M., Hosotsubo H., Tasaki O., Oishi K., Shimazu T., Tomono K. Identification of neutrophil extracellular traps in the blood of patients with systemic inflammatory response syndrome // *J. Int. Med. Res.* 2013. Vol. 41, No 1. P. 162–168.
11. Beiter T., Fragasso A., Hudemann J., Schild M., Steinacker J., Mooren F.C., Niess A.M. Neutrophils release extracellular DNA traps in response to exercise // *J. Appl. Physiol.* 2014. Vol. 117, No 3. P. 325–333.
12. Hirose T., Hamaguchi S., Matsumoto N., Irisawa T., Seki M., Tasaki O., Hosotsubo H., Yamamoto N., Yamamoto K., Akeda Y., Oishi K., Tomono K., Shimazu T. Presence of Neutrophil Extracellular Traps and Citrullinated Histone H3 in the Bloodstream of Critically ill Patients // *PLoS One.* 2014. Vol. 9, No 11. e111755.
13. Долгушин И.И., Андреева Ю.С., Савочкина А.Ю. Нейтрофильные внеклеточные ловушки и методы оценки функционального статуса нейтрофилов. М.: Изд-во РАМН, 2009. 203 с. [*Dolgushin I.I., Andreeva Yu.S., Savochkina A.Yu.* Neutrophil extracellular traps and methods to assess the functional state of neutrophils. Moscow: Izdatel'stvo RAMS, 2009. 203 p.]
14. Basyreva L.Y., Brodsky I.B., Gusev A.A., Zhapparova O.N., Mikhailchik E.V., Gusev S.A., Shor D.B., Dahan S., Blank M., Shoenfeld Y. The effect of intravenous immunoglobulin (IVIg) on *ex vivo* activation of human leukocytes // *Hum. Antibodies.* 2016. Vol. 24, No 3–4. P. 39–44.
15. Wellen K.E., Hotamisligil G.S. Inflammation, stress, and diabetes // *J. Clin. Invest.* 2005. Vol. 115, No 5. P. 1115–1119.
16. Fernandez-Real J.M., Pickup J.C. Innate immunity, insulin resistance and type 2 diabetes // *Diabetologia.* 2012. Vol. 55, No 2. P. 273–278.
17. Villanueva E., Yalavarthi S., Berthier C.C., Hodgin J.B., Khandpur R., Lin A.M., Rubin C.J., Zhao W., Olsen S.H., Klinker M., Shealy D., Denny M.F., Plumas J., Chaperot L., Kretzler M., Bruce A.T., Kaplan M.J. Netting neutrophils induce endothelial damage, infiltrate tissues, and expose immunostimulatory molecules in systemic lupus erythematosus // *J. Immunol.* 2011. Vol. 187, No 1. P. 538–552.

Поступила в редакцию: 19.04.2018 г.

Контакт: Басырева Лилия Юрьевна, basyreva@mail.ru

Сведения об авторах:

Максимов Дмитрий Игоревич — врач-хирург Центра гнойной хирургии и регенераторных технологий ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России; 119435, Москва, ул. Малая Пироговская, д. 1а; e-mail: dmaximov81@mail.ru;

Басырева Лилия Юрьевна — кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории морфологии ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России; 119435, Москва, ул. Малая Пироговская, д. 1а; e-mail: basyreva@mail.ru;

Гусев Александр Анатольевич — ведущий научный сотрудник лаборатории морфологии ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России; 119435, Москва, ул. Малая Пироговская, д. 1а; e-mail: gus_a_a@mail.ru;

Вахрушева Татьяна Валентиновна — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории физико-химических методов исследования и анализа ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России; 119435, Москва, ул. Малая Пироговская, д. 1а; e-mail: tvvakhrusheva@yahoo.com;

Яскевич Алеся Викторовна — врач-хирург Центра гнойной хирургии и регенераторных технологий ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России; 119435, Россия, Москва, ул. Малая Пироговская, д. 1а; e-mail: lesja.jaskevich@yandex.ru;

Гусев Сергей Андреевич — доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией морфологии ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России; 119435, Москва, ул. Малая Пироговская, д. 1а; e-mail: ser_gus@mail.ru;

Островский Евгений Михайлович — доктор медицинских наук, главный врач клинической больницы № 123 ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России; 119435, Москва, ул. Малая Пироговская, д. 1а; e-mail: e-ost@mail.ru;

Панасенко Олег Михайлович — доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией физико-химических методов исследования и анализа ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России; 119435, Москва, ул. Малая Пироговская, д. 1а; e-mail: o-panas@mail.ru;

Сергиенко Валерий Иванович — академик РАН, доктор медицинских наук, профессор, научный руководитель учреждения ФГБУ ФНКЦ ФХМ ФМБА России; 119435, Москва, ул. Малая Пироговская, д. 1а.

УДК 615.47+61:57+616-07

ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ КАРДИОРЕСПИРАТОРНОГО БИОУПРАВЛЕНИЯ КОЛЕБАТЕЛЬНОЙ ПОСТУРАЛЬНОЙ НАГРУЗКОЙ

^{1,3}Н.Б. Суворов, ¹Т.В. Сергеев, ²И.В. Ярмош¹ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», Санкт-Петербург, Россия²ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия³ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный электротехнический университет «ЛЭТИ», Санкт-Петербург, Россия

PHYSIOLOGICAL BASICS OF CARDIORESPIRATORY BIOFEEDBACK CONTROL OF OSCILLATORY POSTURAL LOAD

^{1,3}N.B. Suvorov, ¹T.V. Sergeev, ²I.V. Yarmosh¹FSBSI «Institute of Experimental Medicine», St. Petersburg, Russia²FSBEI HE “North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov” Ministry of Health of the Russian Federation, St. Petersburg, Russia³“University of Electrical Engineering “LETI”, St. Petersburg, Russia

© Коллектив авторов, 2018 г.

© A team of authors, 2018.

Описана процедура функциональной нормализации параметров кардиоваскулярной системы путем знакопеременной биологической обратной связи по сердечному ритму (кардиореспираторный тренинг) с применением поворотного ложа, позволяющего автоматически реализовать колебательные постуральные воздействия орто- и антиортостатического характера. *Цель исследования.* Расширение сферы применения кардиореспираторного тренинга за счет разнообразия вариантов сигналов биологической обратной связи. *Методика.* Колебания поворотного ложа, управляемые от параметров variability сердечного ритма, задают испытуемому порядок чередования фаз вдоха и выдоха и начала вдоха/выдоха. Способ доступен пациентам с пониженным зрением, лежачим больным, детям раннего возраста; пациентам, которые не в состоянии понять смысл процедуры. *Результаты исследований.* Положительная динамика функционального состояния испытуемых заключается, в частности, в нормализации активности звеньев автономной нервной системы; в восстановлении утраченного по различным причинам природного паттерна дыхания; в повышении variability сердечного ритма; в тренировке кардиоваскулярной системы за счет умеренной знакопеременной орто- и антиортостатической нагрузки, оцениваемой по ряду физиологических показателей.

Ключевые слова: кардиоваскулярная система, кардиореспираторный тренинг, колебательные постуральные воздействия орто- и антиортостатического характера, биологическая обратная связь.

The technology of functional normalization of the cardiovascular system parameters by means of the alternating biofeedback on cardiac rhythm (cardiorespiratory training) with the use of a turning bed (verticalizer) is described, which allows to implement the oscillatory postural effects of ortho- and antiorthostatic nature automatically. *Aim of the study.* Increasing of application area of cardiorespiratory training due to the variety of options for biofeedback signals. *Methods.* The oscillation of the turning bed controlled by means of the parameters of heart rate variability sets for the examinee the order of alternation of the inspiration and expiration phases and the phases of the inspiration/expiration beginning. The method is available to patients with low vision, bedridden patients, early ages children; patients who are not able to understand the essence of the procedure. *Results of researches.* Positive

dynamics of the test subjects' functional state is, in particular, the normalization of activity of components of the autonomic nervous system; the reinstatement of the natural breathing pattern lost due to various reasons; increasing the variability of the heart rate; the cardiovascular system training due to moderate alternating ortho- and antiorthostatic load, estimated by number of physiological parameters.

Key words: cardiovascular system, cardiorespiratory training, oscillatory postural effects of ortho- and antiorthostatic nature, biofeedback.

Введение. Кардиоритмограмма и дыхание — связанные между собой физиологические функции. В состоянии расслабленного бодрствования с закрытыми глазами у здоровых людей имеет место кардиореспираторная синхронизация — амплитуда кардиоритмограммы модулируется ритмом дыхания. Известно также, что постуральные воздействия (ПВ) влияют на вариабельность сердечного ритма (ВСР), параметры дыхания и артериального давления [1–5].

Для целей кардиореспираторного тренинга (КРТ) с обратной связью большой интерес представляет влияние ПВ на дыхание и ВСР. Погодиным и соавт. [6] показано, что при изменении положения тела из ортостатического в антиортостатическое через 30 минут наблюдалось достоверное увеличение длительности вдоха и снижение частоты дыхания, минутный объем дыхания достоверно не менялся. Постоянство объемных параметров дыхания при переходе в антиортостатическое положение (АОП) обеспечивается повышением электрической активности инспираторных мышц грудной клетки. При спокойном дыхании в АОП вклад торакальных мышц в вентиляцию легких увеличивается, а диафрагмы — снижается. При максимальных инспираторных усилиях (маневр Мюллера) в АОП обнаружены противоположные изменения: снижение вклада мышц грудной клетки и увеличение диафрагмального вклада по сравнению с ортостатическим положением. Результаты свидетельствуют о координированных перестройках в работе дыхательной мускулатуры, позволяющих сохранить функциональный резерв инспираторных мышц человека при кратковременном воздействии антиортостаза.

При выполнении пассивной ортостатической пробы (ОП) вследствие растяжения вен, уменьшения венозного возврата к сердцу по нижней полой вене и депонирования крови в сосудах нижней части тела уменьшается сердечный выброс [7, 8]. При пассивной антиортостатической пробе сердечный выброс возрастает вследствие действия различных механизмов (гетерометрической саморегуляции сердца, рефлекса Бейнбриджа) и в связи с перераспределением крови в краниальном направлении, к голове и органам грудной клетки.

Во время пассивной ОП в ответ на снижение ударного объема сердца растет общее периферическое сопротивление сосудов (ОПСС) [9], при

пассивной АОП происходит рефлекторное уменьшение ОПСС [10].

Вазоконстрикторные реакции при пассивной ОП носят компенсаторный характер, предотвращают развитие ортостатической гипотензии и связаны с повышением тонуса симпатoadренальной системы [11]. В ответ на АОП наступает системная вазодилатация [12], причем в первые минуты ОПСС увеличивается, а затем оно начинает снижаться. Sarabadani Tafreshi A. и соавт. [13] изучали влияние угла наклона на эффективность пассивных роботизированных упражнений для ног при вертикализации здоровых испытуемых. Показано, что степень влияния упражнений на параметры кардиоваскулярной системы при орто- и антиортостатическом положении испытуемого сильно зависит от угла наклона ложа испытуемого.

Вышеприведенные краткие сведения позволили применить ПВ в сеансах кардиореспираторного тренинга с биологической обратной связью (БОС), реализуемой с помощью дыхания в ритме колебаний ложа. Сочетание традиционной терапии с биоуправлением входит в практику профилактической, стационарной медицины и реабилитации, о чем свидетельствуют исследования эффективности КРТ [14–19].

Технология БОС — психофизиологическая процедура, в ходе которой испытуемому посредством цепи обратной связи предъявляется информация о динамике собственных физиологических процессов. Чаще используются зрительные и слуховые стимулы, которые в ряде случаев ограничивают применение кардиотренинга:

- невозможность предъявления сигналов обратной связи пациентам с нарушениями зрения и слуха;
- затруднения проведения сеансов у больных, вынужденных соблюдать строгий постельный режим;
- невозможность заниматься с детьми ранних возрастов и пациентами со сниженными интеллектуальными способностями;
- не у всех испытуемых (пациентов) удается создать необходимую мотивацию для выполнения заданий по биоуправлению.

Цель исследования состоит в расширении сферы его применения за счет разнообразия вариантов сигналов биологической обратной связи, реализуемых с

помощью поворотного ложа (на нем располагается испытуемый), позволяющего осуществлять управляемые от параметров variability сердечного ритма в частотной области колебательные постуральные воздействия орто- и антиортостатического характера. Порядок чередования фаз вдоха и выдоха и начало вдоха/выдоха задают испытуемому колебания ложа.

Материалы и методы исследования. Целенаправленное воздействие на ЦНС, симпатический и парасимпатический отделы автономной нервной системы, систему кровообращения по индивидуальному принципу формирования параметров знакопеременной БОС по сердечному ритму осуществлялось с помощью поворотного ложа, позволяющего автоматически реализовать колебательные постуральные воздействия. Указанные ПВ обеспечивались устройством «Стол массажный с изменяемым положением ложа» [20, 21] со специальными средствами дистальной фиксации испытуемого. Программно управляемое ложе позволяло переводить испытуемого из ортостатического положения через горизонтальное в антиортостатическое и обратно. Период колебаний определялся путем спектрального анализа кардиоритмограммы испытуемого — выделялась частотная составляющая с максимальной амплитудой в диапазоне дыхательных волн с периодом 4–12 с.

Разработано несколько вариантов метода, которые могут применяться как изолированно, так и в различных комбинациях:

- 1) вдох испытуемый делает при движении ложа в сторону ортостатического положения тела, выдох — при движении поворотного стола вниз в сторону антиортостатического положения тела;
- 2) вдох — при движении ложа в сторону антиортостатического положения, выдох — при движении в сторону ортостатического положения;
- 3) вдох — при движении ложа из горизонтального в сторону ортостатического положения, выдох — при движении из ортостатического в горизонтальное положение;
- 4) вдох — при движении ложа из ортостатического в горизонтальное положение, выдох — при движении из горизонтального в сторону ортостатического положения;
- 5) вдох — при движении ложа из антиортостатического в горизонтальное положение, выдох — из горизонтального в сторону антиортостатического положения;
- 6) вдох — при движении ложа из горизонтального в сторону антиортостатического положения, выдох — при движении из антиортостатического в горизонтальное положение.

Указанные варианты синхронизации дыхания с колебаниями ложа или их комбинации в сеансе

или в цикле КРТ применяются с учетом состояния испытуемого, определяемого врачом.

При этом, если угловая скорость колебаний ложа задана постоянной (например, $\pm 0,0175$ рад/с $\approx \pm 1$ град/с), то угол отклонения от горизонтального положения будет зависеть от периода колебаний (4–12 с), то есть от $\pm 0,07$ до $\pm 0,21$ рад (от ± 4 до ± 12 градусов). Если фиксирован угол (например, $\pm 0,175$ рад $\approx \pm 10$ градусов), то скорость колебаний ложа будет меняться от $\pm 0,044$ до $\pm 0,0145$ рад/с (от $\pm 2,5$ до $\pm 0,83$ град/с).

Испытуемый синхронизирует свое дыхание с заданной фазой колебаний ложа. Сеанс КРТ продолжается до нормализации состояния кардиоваскулярной системы, оцениваемого по ряду показателей variability сердечного ритма во временной и частотной областях, устойчивого восстановления биоритмологической структуры сердечного ритма, гемодинамических показателей испытуемого и кардиореспираторной синхронизации (КРС) как благоприятного диагностического признака.

ЭКГ регистрировали с помощью кардиографа КМ-АР-01 производства ЗАО «Диамант» [22]. Для адаптивного управления параметрами целевой функции (периодическая кривая на мониторе) и соответствующими ей колебаниями ложа, а также для анализа данных кардиотренинга использовали «Программу для ЭВМ «Кардиотренинг» [23].

Особенности методики и методов анализа данных описаны в предыдущих публикациях [14, 16, 19, 24], в которых психофизиологическое воздействие происходило за счет зрительной БОС с контролем глубины дыхания. Испытуемый в соответствии с инструкцией старался синхронизировать собственную кардиоритмограмму (КРГ) с целевой функцией.

В настоящих исследованиях вырабатываемые программой [23] амплитудно-частотные параметры целевой функции управляли режимом колебаний ложа. Полный цикл кардиотренинга (6–10 сеансов по 6–8 двухминутных проб, причем в первой и заключительной пассивных пробах обратная связь испытуемому не предъявлялась) прошли 10 испытуемых. Исследования начинались в 10 часов утра. Испытуемые в течение 15–20 минут привыкали к условиям, в которых проходило исследование. Для создания внутреннего настроя на успешное выполнение заданий и поддержания мотивации испытуемому объясняли цель и задачи кардиотренинга. Подчеркивали необходимость максимальной релаксации. Во всех пробах цикла КРТ испытуемые находились в состоянии расслабленного бодрствования с закрытыми глазами. Сеанс КРТ начинался с регистрации КРГ в положении сидя. Во время первой пассивной пробы (горизонтальное положение) регистрировалась исходная КРГ испытуемого. Амплитуда КРГ, период максимальной по

амплитуде гармоники в диапазоне быстрых волн использовались для формирования параметров целевой функции (ЦФ) следующей активной пробы. Во время каждой активной пробы (сеанса, цикла КРТ) в адаптивном модуле программы осуществлялся автоматический выбор параметров ЦФ, предъявляемой в следующей пробе [23]. Заключительную пробу каждого сеанса проводили также в горизонтальном положении в состоянии расслабленного бодрствования с закрытыми глазами. Параметры ЦФ изменялись после каждой пробы на 5% в сторону усложнения, если предыдущая проба была успешной, или упрощались, если проба не удалась [23]. 5-процентное изменение испытуемые не замечали, поэтому с их стороны не было отрицательных реакций. Испытуемому предоставлялась возможность за счет модуляции кардиоритмограммы дыханием в ритме колебаний ложа прийти к адекватным для него параметрам ЦФ.

Обследовано 10 мужчин от 25 до 50 лет. Все испытуемые прошли диспансеризацию в поликлинике по месту жительства: отклонений от нормы у этих лиц

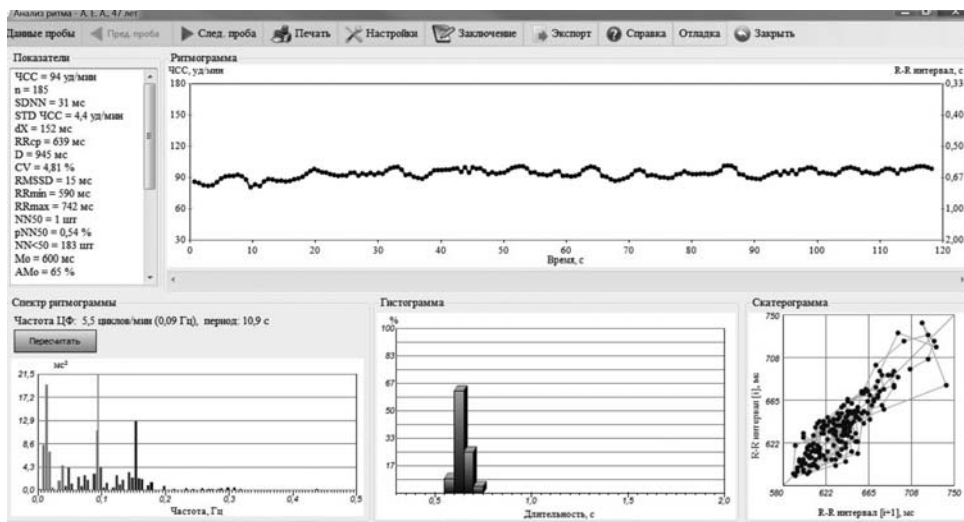
не выявлено. Во время первой (пассивной) пробы у части испытуемых были отмечены повышенное артериальное давление и частота сердечных сокращений.

Результаты и их обсуждение. При планировании исследований были приняты следующие критерии эффективности кардиореспираторного тренинга:

- 1) стабильное функциональное состояние испытуемого во время КРТ;
- 2) нормализация частоты сердечных сокращений (ЧСС) и артериального давления (АД);
- 3) формирование в сердечном ритме собственных гармоник, синхронизированных с дыханием (кардиореспираторная синхронизация КРС) и сохранение их в заключительных пассивных пробах каждого сеанса;
- 4) увеличение амплитуды собственной гармоники кардиоритма. Критериями завершения курса являлось наличие всех четырех критериев эффективности не менее чем в двух последовательных сеансах.

Рассмотрим результаты КРТ на примере одного из испытуемых. На рис. 1 и в табл. 1 представлены исходные данные (в положении сидя) и результаты первой пробы 03.10.2016.

а



б

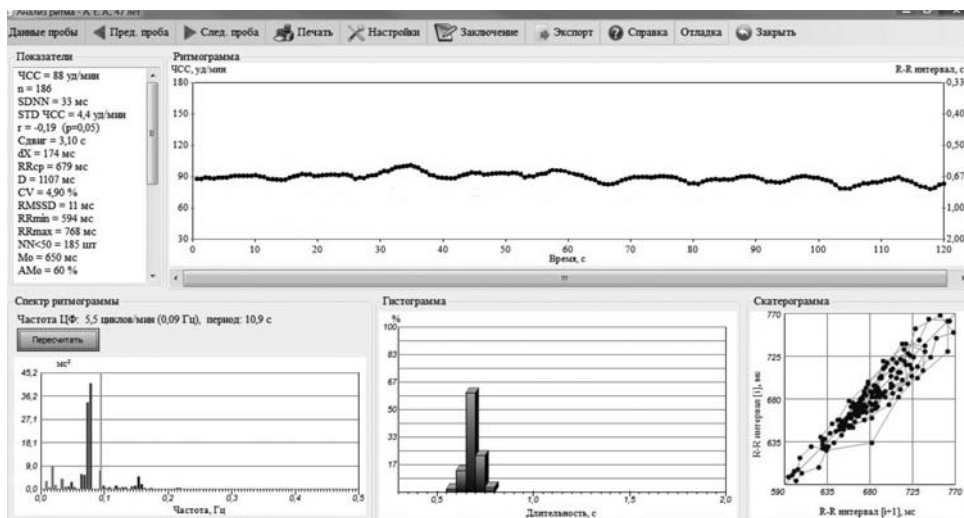


Рис. 1. Копия экрана с оценками ряда параметров кардиоваскулярной системы испытуемого: а — в положении сидя перед 1-м сеансом кардиореспираторного тренинга 03.10.16; б — в положении лежа в первой (пассивной) пробе 1-го сеанса КРТ.

Сравнение данных (см. также табл. 1) подтверждает известные сведения о разнице показателей кардиоваскулярной системы при переводе человека из положения сидя в положение лежа — частота пульса, АД, индекс напря-

жения (ИН), ударный объем (УО) снижаются, динамика индекса вегетативного равновесия (ИВР) указывает на смещение в сторону симпато-вагусного баланса, повышается вариационный размах (dX).

Таблица 1

Физиологические параметры испытуемого А.Е.А., 47 лет в процессе кардиореспираторного тренинга

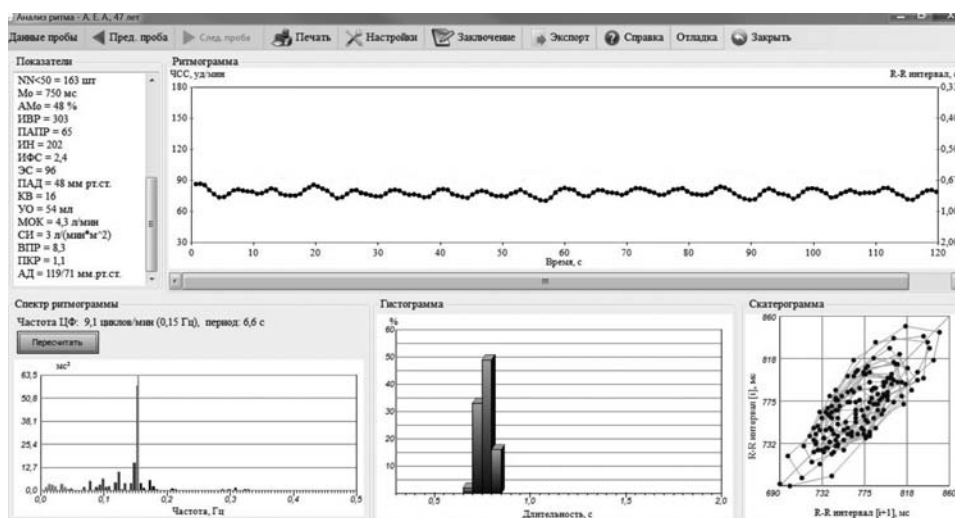
| Параметры | Даты исследований — октябрь 2016 г. | | | | | | | | | 2017 г. |
|----------------|-------------------------------------|---------|------|------|------|------|------|---------|---------|------------|
| | 03 сидя | 03 лежа | 03 | 05 | 10 | 12 | 14 | 17 лежа | 17 сидя | 20.02 сидя |
| ЧСС, уд/мин | 94 | 88 | 78 | 77 | 71 | 72 | 65 | 68 | 70 | 70 |
| САД, мм рт.ст. | 141 | 131 | 119 | 129 | 116 | 118 | 115 | 111 | 113 | 115 |
| ДАД, мм рт.ст. | 76 | 80 | 71 | 81 | 75 | 70 | 70 | 71 | 73 | 72 |
| SDNN, мс | 31 | 33 | 32 | 49 | 49 | 53 | 51 | 44 | 67 | 44 |
| dX, мс | 152 | 174 | 160 | 224 | 192 | 226 | 215 | 196 | 294 | 228 |
| RMSSD, мс | 15 | 11 | 22 | 35 | 32 | 27 | 31 | 29 | 41 | 29 |
| ИН | 356 | 266 | 202 | 111 | 120 | 88 | 91 | 130 | 53 | 117 |
| ИВР | 427 | 346 | 303 | 166 | 162 | 141 | 152 | 222 | 85 | 187 |
| r | | | | 0,16 | 0,41 | 0,38 | 0,42 | | | |
| LF/HF | 1,85 | 1,08 | 0,79 | 1,51 | 1,78 | 1,91 | 1,76 | 1,63 | 1,87 | 1,82 |
| УО, мл | 60 | 51 | 54 | 55 | 37 | 36 | 38 | 37 | 49 | 60 |

В цикле КРТ, состоящего из 7 сеансов (3, 5, 7, 10, 12, 14 и 17.10.2016), угловая скорость колебаний ложа была фиксирована — 0,017 рад/с, или 1 град/с, переменным был угол наклона относительно горизонтальной плоскости. В 2-й (активной пробе с обратной связью) 1-го сеанса начало вдоха совпадало с переводом испытуемого из ортостатического в антиортостатическое положение, а начало выдоха — при движении из антиортостатического положения в ортостатическое.

Такой режим вызвал у испытуемого дискомфорт за счет затруднения вдоха в фазе перехода в антиортостаз, что объясняется уменьшением

дыхательных объемов, увеличением кровенаполнения малого круга кровообращения, уменьшением экскурсий диафрагмы вследствие смещения органов брюшной полости в антиортостатическом положении. Начиная с 3-й пробы порядок вдоха-выдоха изменили (вдох — при подъеме, а выдох — при опускании головного конца ложа). Это оказалось более приемлемым для испытуемого, что отразилось в нормализации ЧСС — 78 уд/мин и АД — 119/71 мм рт.ст., в появлении феномена кардиореспираторной синхронизации (КРС) в 6-й заключительной (без обратной связи) пробе 1-го сеанса 03.10.2016 (рис. 2, а, табл. 1).

а



б

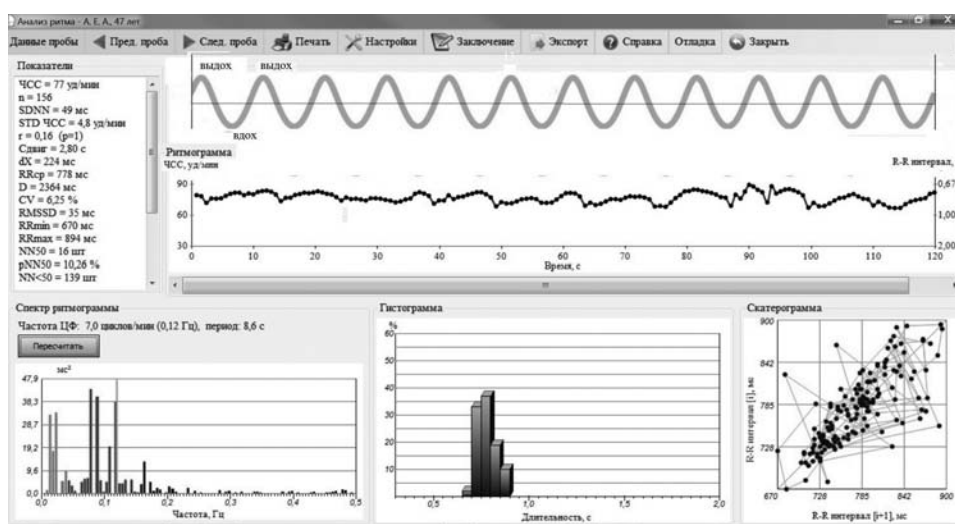


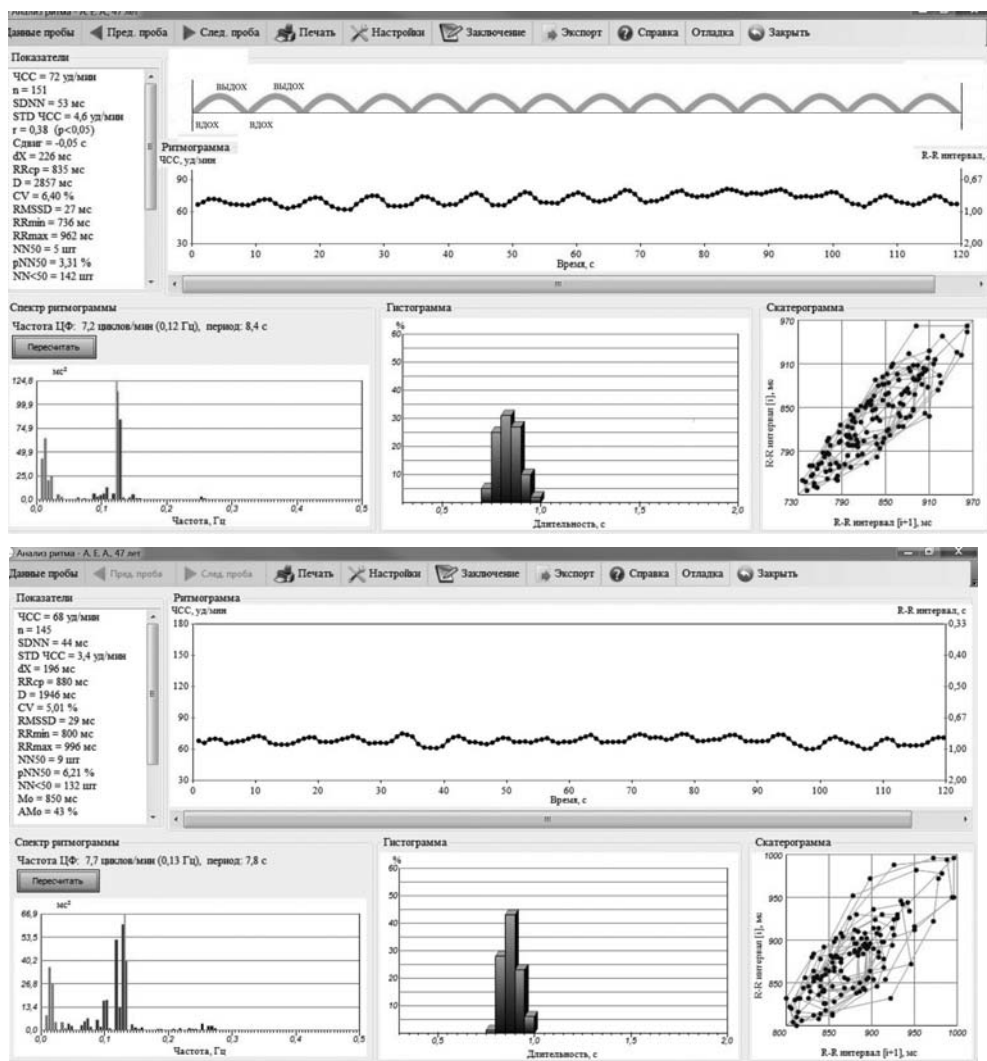
Рис. 2. Параметры сердечно-сосудистой системы испытуемого: а — в заключительной (пассивной) пробе 1-го сеанса; б — в активной пробе 2-го сеанса (05.10.16) с периодом колебаний ложа около 8,5 с.

Наблюдавшаяся в последних пробах 1-го сеанса КРС отсутствовала в начале 2-го сеанса (рис. 2, б). Тем не менее большинство физиологических параметров были близки к нормальным значениям, вариабельность ритма сердца (SDNN) и вариационный размах увеличились по сравнению с исходным состоянием, симпато-вагусный баланс также в норме, оставаясь таким вплоть до конца цикла КРТ и спустя 5 месяцев (табл. 1). Коэффициент кросс-

реляции r (КК) между кривой перемещения ложа и кардиоритмограммой составлял 0,16 ($p=0,1$).

С 3-го сеанса (07.10.16) испытуемый получил инструкцию начинать вдох при движении ложа из горизонтального положения в ортостатическое, выдох — при обратном движении ложа. На рис. 3 представлены результаты активной пробы 5-го сеанса и заключительной пассивной пробы 7-го сеанса.

а



б

Рис. 3. Параметры кардиоваскулярной системы испытуемого: а — в активной пробе 5-го сеанса (12.10.16) — период колебаний около 8,5 с; б — в заключительной пассивной пробе 7-го сеанса лежа (17.10.16).

Положительная динамика физиологических показателей представлена также в табл. 1. Отмечается значительный рост variability ритма сердца. КК между кривой перемещения поворотного стола и кардиоритмограммой составил в пробе 5-го сеанса 0,38 ($p < 0,05$). Собственная гармоника с периодом около 8,5 с. Начиная с 4–5-го сеанса кардиореспираторная синхронизация приобрела устойчивый характер, сохранившийся и через 4 месяца (рис. 4, б).

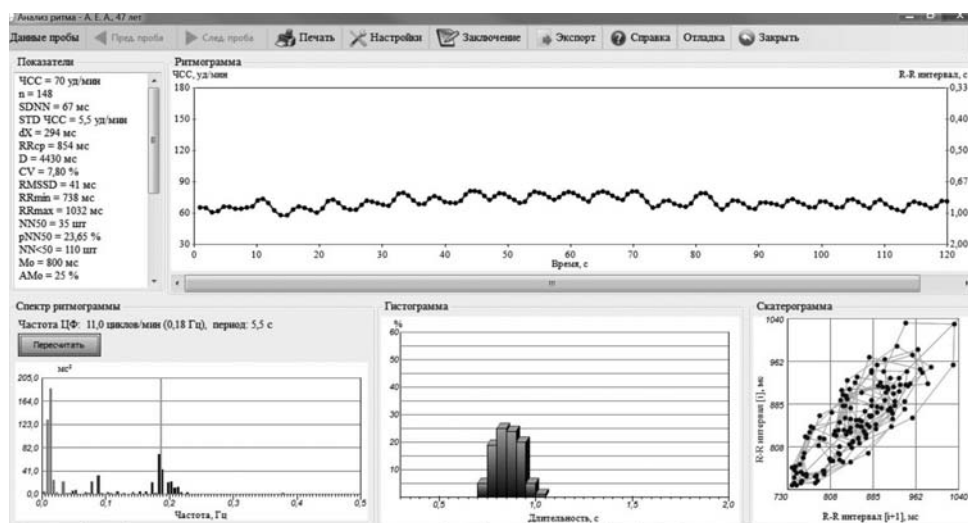
Заключительная проба (без обратной связи) цикла КРТ (рис. 4, а) показала наличие кардиореспираторной синхронизации, нормальные значения артериального давления, частоты пульса, сохранения положительной динамики других физиологических показателей (табл. 1).

20.02.2017 г. проведено контрольное исследование, целью которого было наблюдение

за отдаленными результатами кардиореспираторного тренинга. Однократная проба подтвердила устойчивый характер феномена кардиореспираторной синхронизации и положительной динамики проведенного ранее цикла КРТ. Испытуемый отметил улучшение самочувствия и эмоционального настроя.

Кардиореспираторная синхронизация как благоприятный диагностический признак восстановилась у 8 испытуемых (табл. 2). Это сопровождалось нормализацией АД, ЧСС и других показателей. ИВР указывал на восстановление симпато-вагусного баланса. Несмотря на отсутствие КРС, у испытуемых Б. и Н. наблюдалась положительная динамика других физиологических показателей. Средние показатели рассчитаны по программе Statistica 10.0, использован критерий Колмогорова–Смирнова.

а



б

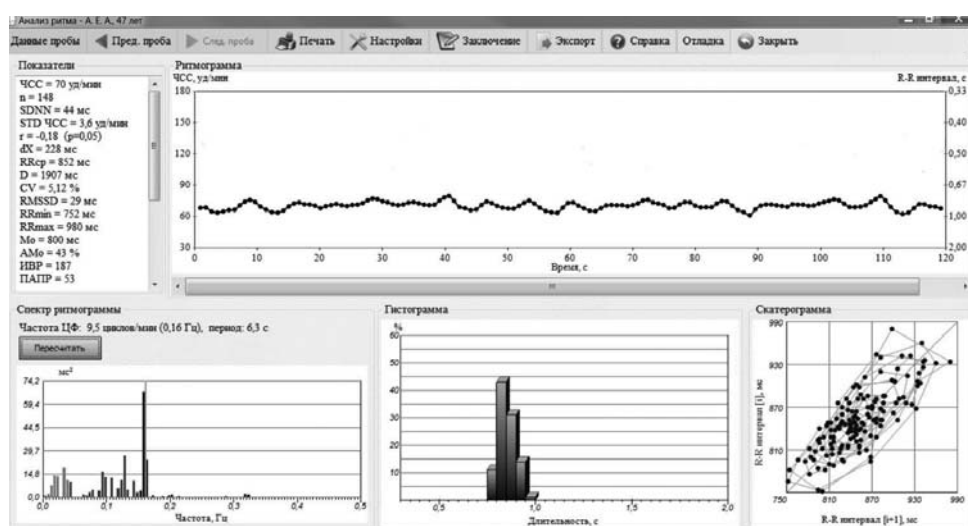


Рис. 4. Параметры кардиоваскулярной системы испытуемого: а — в заключительной пассивной пробе 7-го сеанса сидя (17.10.16); б — в состоянии расслабленного бодрствования с закрытыми глазами в положении сидя (20.02.17).

Таблица 2

Физиологические параметры группы испытуемых в начале кардиореспираторного тренинга и после его завершения

| Показатель | Испытуемые | | | | | | | | | средние±СО |
|----------------|------------|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|---------------------|
| | М. | Д. | Л. | В. | С. | И. | Ш. | Б. | Н. | |
| ЧСС, уд/мин | 88 | 81 | 75 | 82 | 77 | 78 | 71 | 73 | 69 | 77±5,9 |
| | 63 | 65 | 70 | 72 | 69 | 65 | 66 | 62 | 65 | 66,3±3,3 * |
| САД, мм рт.ст. | 142 | 138 | 135 | 137 | 125 | 126 | 134 | 131 | 120 | 132±7,1 |
| | 122 | 121 | 117 | 115 | 117 | 118 | 113 | 120 | 115 | 117,6±3,0 * |
| ДАД, мм рт.ст. | 81 | 82 | 79 | 81 | 78 | 80 | 75 | 79 | 80 | 79,4±2,1 |
| | 79 | 80 | 78 | 75 | 78 | 80 | 73 | 75 | 79 | 77,4±2,5 |
| SDNN, мс | 31 | 33 | 32 | 30 | 37 | 39 | 34 | 33 | 35 | 33,8±2,9 |
| | 41 | 44 | 39 | 45 | 51 | 60 | 57 | 40 | 39 | 46,2±7,9 * |
| dX, мс | 152 | 144 | 160 | 162 | 174 | 181 | 175 | 174 | 179 | 166,8±12,9 |
| | 204 | 198 | 210 | 204 | 222 | 216 | 294 | 184 | 189 | 213,4±32,5 * |
| ИБР | 456 | 546 | 403 | 386 | 362 | 349 | 352 | 360 | 348 | 395,8±66,3 |
| | 320 | 332 | 345 | 265 | 246 | 189 | 178 | 262 | 287 | 269,3±59,1 * |
| КРС | — | — | — | — | — | — | — | — | — | |
| | + | + | + | + | + | — | + | — | — | |

Примечание. СО — стандартное отклонение. * $p < 0,05$.

На основании этих наблюдений можно сделать вывод о сохранении положительного эффекта КРТ с использованием колебательных ПВ в течение достаточно длительного времени после окончания сеансов. Применение в одном сеансе различных комбинаций сигналов обратной связи ускоряет процесс реабилитации. Положительные изменения могут наблюдаться уже к концу 1-го сеанса.

Выявленные новые закономерности действия КРТ в условиях постральной нагрузки открывают возможности его практического применения при психосоматической патологии, вегетативных дисфункциях, вызванных, в том числе, неблагоприятными экологическими факторами, особенно для профилактики и на ранних стадиях развития патологических состояний. Восстановление ритмического взаимодействия дыхательной и кардиоваскулярной систем сопровождается положительной динамикой функционального состояния испытуемых.

Применение колебательной постральной нагрузки расширяет область использования КРТ за счет разнообразия вариантов сигналов БОС: он становится доступным пациентам с пониженным зрением и слухом, лежачим больным, детям ранних возрастов и пациентам со сниженными когнитивными способностями. На положительный результат описываемого КРТ практически не

влияет уровень мотивации пациентов, отсутствуют физические нагрузки.

Нормализация вегетативного баланса и параметров кардиоваскулярной системы, отмеченная у испытуемых, свидетельствуют о возможности применения КРТ с ПВ для повышения ее функциональных резервов и, вероятно, для уменьшения клинической симптоматики, обусловленной вегетативным дисбалансом.

Экологически безопасная технология биоуправления с обратной связью колебательного характера — это психофизиологическая коррекция ритмов автономной нервной системы за счет периодической смены «активации» и «торможения» управляемой функции в пределах индивидуальной физиологической нормы.

Заключение. Результаты исследований указывают на перспективность кардиореспираторного тренинга, использующего колебательные постральные воздействия, для коррекции состояния кардиоваскулярной системы. Периодическая орто- и антиортостатическая нагрузка, управляемая от параметров variability сердечного ритма в частотной области, обладает более широкими возможностями использования как самостоятельно в целях профилактики, так и в качестве средства психофизиологической поддержки стандартных схем лечения.

Литература

1. *Осадчий Л.И.* Постуральные реакции // Физиология кровообращения: регуляция кровообращения. Л.: Наука, 1986. С. 317–334. [*Osadchij L.I.* Postural'nye reakcii. Fiziologiya krovoobrashcheniya: regulyaciya krovoobrashcheniya. Leningrad: Nauka, 1986, pp. 317–334].
2. *Montano N., Gneccchi R.T., Porta A., Lombardi F., Pagani M., Malliani A.* Power spectrum analysis of heart rate variability to assess the changes in sympathovagal balance during graded orthostatic tilt // *Circulation*. 1994. Vol. 90. P. 1826–1831.
3. *Taylor J. A., Eckberg D.L.* Fundamental Relations between short-term RR Interval and arterial pressure oscillations in humans // *Circulation*. 1996. Vol. 93. P. 1527–1532.
4. *Софронов Г.А., Суворов Н.Б., Толкачев П.И., Сергеев Т.В.* Влияние постральной коррекции гемодинамики на параметры сердечного ритма // Медицинский академический журнал. 2014. Т. 14, No 3. С. 38–51. [*Sofronov G.A., Suvorov N.B., Tolkachev P.I., Sergeev T.V.* Vliyanie postural'noj korrekcii gemodinamiki na parametry serdechnogo ritma. Medicinskij akademicheskij zhurnal, 2014, Vol. 14, No 3, pp. 38–51].
5. *Сергеев Т.В., Суворов Н.Б., Белов А.В., Гараба М.И.* Влияние постральных нагрузок колебательного характера на параметры сердечного ритма // Вестник новых мед. технологий. 2016. Т. 23, No 1. С. 79–85. [*Sergeev T.V., Suvorov N.B., Belov A.V., Garaba M.I.* Vliyanie postural'nyh nagruzok kolebatel'nogo haraktera na parametry serdechnogo ritma. Vestnik novyh med. tekhnologij, 2016, Vol. 23, No 1, pp. 79–85].
6. *Погодин М.А., Лаврова И.Н., Александрова Н.П., Балыкин М.В., Сегизбаева М.О.* Влияние антиортостатического воздействия на респираторные параметры и функциональную активность инспираторных мышц человека // Физиология человека. 2011. No 2. С. 52–59. [*Pogodin M.A., Lavrova I.N., Aleksandrova N.P., Balykin M.V., Segizbaeva M.O.* Vliyanie antiortostaticheskogo vozdeystviya na respiratornye parametry i funkcional'nyuyu aktivnost' inspiratornyh myshc cheloveka. Fiziologiya cheloveka, 2011, No 2, pp. 52–59].

7. Frey M.A.B., Tomaselli C.M., Freeman M. Cardiovascular responses to postural change: differences by sex and age // *J. Clin. Pharmacol.* 1994. Vol. 34 (5). P. 394–402.
8. Гайтон А.К., Холл Дж.Э. Медицинская физиология. М.: Логосфера, 2008. 1296 с. [Gajton A.K., Holl Dzh. Eh. Medicinskaya fiziologiya. Moscow: Logosfera, 2008. 1296 p.].
9. Hameed M.A., Fulco C.S., Cymerman A., Rock P.B. Cardiocirculatory responses to upright tilt at sea level and high altitude // *The Journal of the Pakistan Medical Association.* 1991. Vol. 41 (12). P. 306–310.
10. Морман Д., Хеллер Л. Физиология сердечно-сосудистой системы. СПб.: Питер, 2000. 256 с. [Morman D., Heller L. Fiziologiya serdechno-sosudistoj sistemy. St. Petersburg: Piter, 2000. 256 p.].
11. Sloan R.P., DeMeersman R.E., Shapiro P.A., Bagiella E., Chernikhova D., Kuhl J.P., Zion A.S., Paik M., Myers M.M. Blood pressure variability responses to tilt are buffered by cardiac autonomic control // *Am. J. Physiol.* 1997. Sep., Vol. 273 (3 Pt 2). P. 1427–1431.
12. Осадчий Л.И., Балужева Т.В., Сергеев И.В. Постуральные системные сосудистые реакции // *Физиологический журнал им. И.М. Сеченова.* 1993. Т. 79, No 3. С. 66–72. [Osadchij L.I., Balujeva T.V., Sergeev I.V. Postural'nye sistemnye sosudistye reakcii. Fiziologicheskij zhurnal im. I.M. Sechenova, 1993. Vol. 79, No 3, pp. 66–72].
13. Sarabadani Tafreshi A., Riener R., Klamroth-Marganska V. Distinctive steady-state heart rate and blood pressure responses to passive robotic leg exercise and functional electrical stimulation during head-up tilt // *Front. Physiol.* 2016. Vol. 7. 612 p.
14. Суворов Н.Б., Ярмош И.В., Болдуева С.А. Способ коррекции вегетативного баланса у больных инфарктом миокарда // Патент РФ No 2434575. Бюллетень изобретений No 33 от 27.11.11. [Suvorov N.B., Yarmosh I.V., Boldueva S.A. *Sposob korrekcii vegetativnogo balansa u bol'nyh infarktom miokarda.* Patent RF No 2434575. Byulleten' izobretenij No 33 ot 27.11.11].
15. Lehrer P.M., Vaschillo E., Vaschillo B., Shou-En Lu, Scardella A., Siddique M., Habib R.H. Biofeedback treatment for asthma // *Chest.* 2004. Vol. 126. P. 352–361.
16. Suvorov N. Psychophysiological Training of Operators in Adaptive Biofeedback Cardiorhythm Control // *The Spanish Journal of Psychology.* 2006. Vol. 9, No 2. P. 193–200.
17. Поскотинова Л.В., Демин Д.Б., Кривоногова Е.В., Диева М.Н., Хасанова Н.М. Успешность биоуправления параметрами variability сердечного ритма у лиц с различным уровнем артериального давления // *Вестник Российской академии медицинских наук.* 2013. No 7. С. 20–23. [Poskotinova L.V., Demin D.B., Krivonogova E.V., Dieva M.N., Hasanova N.M. *Uspeshnost' bioupravleniya parametrami variabel'nosti serdechnogo ritma u lic s razlichnym urovnem arterial'nogo davleniya.* Vestnik Rossijskoj akademii medicinskih nauk, 2013, No 7, pp. 20–23].
18. Leonova A., Boldueva S., Yarmosh I., Suvorov N. A non-invasive variant of preventing sudden death in patients after myocardial infarction using a biofeedback method // *European Heart Journal: Acute Cardiovascular Care.* 2015. October, Vol. 4, No 1. P. 131.
19. Суворов Н.Б., Нго Тхань Нам, Ву Тхи Лоан, Сергеев Т.В. Биологическая обратная связь в реабилитации лиц, пострадавших от «оранжевого агента» // *Биомедицинская радиоэлектроника.* 2017. No 2. С. 71–80. [Suvorov N.B., Ngo Than' Nam, Vu Thi Loan, Sergeev T.V. *Biologicheskaya obratnaya svyaz' v rehabilitacii lic, postradavshih ot «oranzhevo go agenta».* Biomedicinskaya radioehlektronika, 2017, No 2, pp. 71–80].
20. Стол массажный с изменяемым положением ложа // Регистрационное удостоверение федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения и социального развития. No ФСР 2011/12256. [Stol massazhnyj s izmenyaemym polozheniem lozha. Registracionnoe udostoverenie federal'noj sluzhby po nadzoru v sfere zdravooхранeniya i social'nogo razvitiya. No FSR 2011/12256].
21. Стол массажный с изменяемым положением ложа // Сертификат соответствия ГОСТ Р федерального агентства по техническому регулированию и метрологии. No РОСС RU.НМ35Н00067. [Stol massazhnyj s izmenyaemym polozheniem lozha. Sertifikat sootvetstviya GOST R federal'nogo agentstva po tekhnicheskomu regulirovaniyu i metrologii. No ROSS RU.NM35H00067].
22. Электрокардиограф «Диамант-К». Декларация о соответствии No РОСС RU.ИМ41.Д06457 от 24.05.2016. [Ehlektrokardiograf «Diamant-K». Deklaraciya o sootvetstvii No ROSS RU.IM41.D06457 ot 24.05.2016].
23. Семченков А.А., Ульяновский А.В., Суворов Н.Б., Сергеев Т.В. Свидетельство о гос. регистрации программы для ЭВМ No 2013661210 // Реестр программ для ЭВМ от 02.12.2013. [Semchenkov A.A., Ul'yanovskij A.V., Suvorov N.B., Sergeev T.V. *Svidetel'stvo o gos. registracii programmy dlya EhVM No 2013661210.* Reestr programm dlya EhVM ot 02.12.2013].

24. Суворов Н.Б., Сергеев Т.В., Белов А.В., Пуликов Д.Г. Устройство для осуществления функциональной психофизиологической коррекции состояния человека // Патент РФ No 168975. Бюллетень изобретений No 7 от 28.02.17. [Suvorov N.B., Sergeev T.V., Belov A.V., Pulikov D.G. Ustrojstvo dlya osushchestvleniya funkcional'noj psihofiziologicheskoy korrekcii sostoyaniya cheloveka. Patent RF No 168975. Byulleten' izobretenij No 7 ot 28.02.17].

Поступила в редакцию: 27.03.2018 г.

Контакт: Суворов Николай Борисович, nbsuvorov@yandex.ru

Сведения об авторах:

Суворов Николай Борисович — доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией отдела экологической физиологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», профессор кафедры биотехнических систем Санкт-Петербургского государственного электротехнического университета «ЛЭТИ»; 197376, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 12, отдел экологической физиологии; e-mail: nbsuvorov@yandex.ru;

Сергеев Тимофей Владимирович — научный сотрудник отдела экологической физиологии ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины»; 197376, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, д. 12, отдел экологической физиологии; e-mail: stim9@yandex.ru;

Ярмош Ирина Васильевна — кандидат медицинских наук, доцент кафедры факультетской терапии ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава России; 191015, Санкт-Петербург, Кирочная ул., д. 41; e-mail: yarmosh06@mail.ru.

КЛИНИЧЕСКАЯ ПРАКТИКА

УДК 617.735-007.17-08

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ ВОЗРАСТНОЙ МАКУЛЯРНОЙ ДЕГЕНЕРАЦИИ МЕТОДОМ ВВЕДЕНИЯ ИНГИБИТОРОВ АНГИОГЕНЕЗА В ЗАДНЕЕ СУБТЕНООВО ПРОСТРАНСТВО НА ВЯЗКОМ НОСИТЕЛЕ

Р.В. Гайбарян, А.Н. Епихин, Ю.Н. Епихина, Ю.Ф. Бондаренко, Н.А. Епихин
ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет», г. Ростов-на-Дону, Россия

EVALUATION OF THE DATA OF EFFECTIVENESS OF TREATMENT OF AGE-RELATED MACULAR DEGENERATION BY THE METHOD OF INTEGRATION OF ANGIOGENESIS INHIBITORS INTO THE BACK SUBTENON SPACE ON THE VISCOUS MEDIA

R.V. Gaybaryan, A.N. Epikhin, U.N. Epikhina, U.F. Bondarenko, N.A. Epikhin
FSBSI «Rostov State Medical University» of Ministry of healthcare of the Russian Federation, Rostov-on-don, Russia

© Коллектив авторов, 2018 г.

© A team of authors, 2018.

Цель исследования: изучение клинической эффективности лечения влажной формы возрастной макулярной дегенерации (ВМД) методом введения ингибитора ангиогенеза в заднее субтеноново пространство на вязком носителе. *Материалы и методы исследования.* Первую группу (основная группа) составил 41 пациент (43 глаза) с влажной формой ВМД. Всем пациентам этой группы вводили в заднее субтеноново пространство 7,5–12,5 мг ингибитора ангиогенеза на вязком носителе (1,0 мл 2% раствора гидроксипропилметилцеллюлозы). Вторую группу (контрольная группа) составили 30 пациентов (30 глаз) с влажной формой ВМД, у которых проведен ретроспективный анализ динамики морфофункциональных показателей после интравитреальных инъекций ингибиторов ангиогенеза по стандартной методике (1,25 мг). Срок наблюдения 12 месяцев. *Результаты.* При сравнении эффективности лечения средняя максимально скорректированная острота зрения (МКОЗ) обеих групп значительно улучшилась после лечения. Также по данным оптической когерентной томографии (ОКТ) средняя центральная толщина сетчатки (ЦТС), протяженность, высота патологических изменений, площадь патологического очага и относительный объем патологического очага значительно сократились в результате лечения. Каких-либо существенных различий между группами не выявлено (все $p > 0,05$). По результатам оценки длительность эффекта при субтеноновом способе введения составила 2–2,5 месяца, при интравитреальном — 1–1,5 месяца. Количество введений за 12 месяцев наблюдения в основной группе в среднем составило 2,8 инъекции на больного, а в контрольной — 4,2 инъекции. *Заключение.* Субтеноновое введение ингибитора ангиогенеза в заднее субтеноново пространство дает положительный эффект при лечении влажной формы возрастной макулярной дегенерации, а применение его на вязком носителе оказывает пролонгированное действие.

Ключевые слова: возрастная макулярная дегенерация, заднее субтеноново пространство, ингибитор ангиогенеза, вязкий носитель, оптическая когерентная томография.

Aim of the research. Study of clinical efficacy of treatment of wet form of age-related macular degeneration by using the method of introduction of the inhibitor of angiogenesis into the back subtenon space on the viscous media. *Material and methods of the study.* The first group (main group) included 41 patients (43 eyes) with wet form of age-related macular degeneration (AMD). All patients in this group were injected in the back subtenon space 7.5–12.5 mg of an angiogenesis inhibitor on a viscous medium (1.0 ml of 2% solution of hydroxypropylmethyl cellulose). The second group (control group) consisted of 30 patients (30 eyes) with wet form of AMD, for this

group a retrospective analysis of dynamics of morpho-functional indices after intravitreal injections of angiogenesis inhibitors according to standard methods (1.25 mg) was carried out. The observance time period amounted to 12 months. *Results.* When comparing the effectiveness of treatment, the mean best-corrected visual acuity (BCVA) improved significantly in both groups after treatment. Also, according to data of the optical coherence tomography (OCT), the mean central retinal thickness (CRT), the extent, height of pathological changes, the area of the pathological focus and the relative volume of the pathological focus were significantly reduced as a result of treatment. No significant differences were found between the groups (all $p > 0.05$). In accordance with results of the evaluation, the effect duration at subtenon method of administrations amounted to 2–2.5 months, at intravitreal method it amounted to 1–1.5 months. The number of administrations in the 12 months of observation in the main group amounted to 2.8 injections per patient on average, and in the control group it amounted to 4.2 injections. *Conclusion:* Subtenon injections of the inhibitor of angiogenesis into the back subtenon space gives the positive effect in the treatment of wet form of age-related macular degeneration, and its application on viscous medium has a prolonged effect.

Key words: age-related macular degeneration, back subtenon space, angiogenesis inhibitor, viscous media, optical coherent tomography.

Введение. Влажная форма возрастной макулярной дегенерации (ВМД) является одной из ведущих причин необратимого снижения зрения среди взрослого населения во всех развитых странах. Основная роль в патогенезе влажной формы ВМД принадлежит патологическому ангиогенезу, что связано с увеличением фактора роста эндотелия сосудов (VEGF) [1]. Это приводит к развитию хориоидальной неоваскуляризации (ХНВ) и повышению сосудистой проницаемости, формируется субретинальная неоваскулярная мембрана (СНМ) и отек. Со временем происходит организация СНМ и образуется грубый фиброзный рубец.

На сегодняшний день одним из основных методов лечения влажной формы ВМД является использование ингибиторов ангиогенеза путем ежемесячного введения их в стекловидное тело (интравитреально) [2, 3]. Данный способ введения имеет ряд недостатков: ограничен объем вводимого вещества; небезопасен и несет риски асептического и септического поражений стекловидного тела; имеется нестойкий терапевтический эффект, что требует частого, вплоть до 1 раза в месяц, повторения инъекции [4–6] и делает этот метод далеко не идеальным.

Кратковременность положительного действия интравитреальных инъекций при монотерапии больных с влажной ВМД определяет поиски иных терапевтических методов, которые обладают не меньшей эффективностью при отсутствии выраженных побочных воздействий [7]. Альтернативой интравитреальному введению может служить введение препаратов в заднее субтенонозное пространство. Метод введения лекарственных препаратов в субтенонозное пространство лишен вышеперечисленных недостатков. В этом случае препарат более длительное время удерживается у глазного яблока теноновой капсулой,

где практически нет сосудов, терапевтическая концентрация сохраняется более продолжительное время [8].

В связи с этим достаточно перспективным и актуальным представляется изучение субтенонозного введения ингибитора ангиогенеза при влажной форме ВМД. Кроме того, большой интерес представляет изучение эффекта применения вязкого носителя для доставки основного препарата.

Цель исследования: изучить клиническую эффективность лечения влажной формы ВМД методом введения ингибитора ангиогенеза в заднее субтенонозное пространство на вязком носителе.

Материалы и методы исследования. Исследование проводилось сотрудниками кафедры офтальмологии в офтальмологическом отделении клиники РостГМУ.

Первую (основную) группу составил 41 пациент (43 глаза) в возрасте $68,6 \pm 1,75$ года с влажной формой ВМД. Пациентам основной группы проводилось комплексное офтальмологическое обследование, включающее определение максимально скорректированной остроты зрения (МКОЗ), биомикроскопию, тонометрию по методу Маклакова, офтальмоскопию, фоторегистрацию на фундус камере F450 (Carl Zeiss, Германия) и оптическую когерентную томографию (ОКТ) на томографе Cirrus (Carl Zeiss, Германия).

На ОКТ оценивали следующие параметры: центральную толщину сетчатки (ЦТС); протяженность и высоту патологических изменений. Рассчитывали площадь патологического очага, относительный объем очага поражения, относительный объем неоваскулярной мембраны в очаге поражения, а также вычисляли объем отека в очаге поражения (V). Площадь опти-

ческого среза патологического очага вычисляли по формуле расчета площади треугольника: $S=1/2 ah$, где a — протяженность патологических изменений, h — высота патологических изменений. Относительный объем очага поражения вычисляли по формуле объема эллипсоида $V = 3/4\pi abc$, где a — $1/2$ протяженности патологических изменений во фронтальной плоскости, b — $1/2$ протяженности патологических изменений в аксиальной плоскости, c — высота патологических изменений. Аналогично рассчитывали объем мембраны. Относительный объем отека в очаге вычисляли по формуле: $V_{отека} = V_{пат. очага} - V_{мембраны}$.

Всем пациентам этой группы вводили в заднее субтеноново пространство ингибитор ангиогенеза (бевацизумаб) в количестве 7,5–12,5 мг (0,3–0,5 мл) в зависимости от активности патологического процесса на вязком носителе — 1,0 мл 2% раствора гидроксипропилметилцеллюлозы (ГПМЦ). Показания к повторным введениям определяли на основании ежемесячного обследования пациентов в индивидуальном порядке.

Показаниями к повторному введению были: ОКТ признаки активной неоваскуляризации без или со снижением остроты зрения (исключая другие факторы, ведущие к потере зрения); появление интра- и субретинальных кровоизлияний; увеличение экссудативных процессов в макуле (серозная отслойка пигментного и нейроэпителия, интратретинальный кистозный отек). Повторные инъекции выполнялись в дозе от 7,5 мг (0,3 мл) до 10 мг (0,4 мл), исходя из степени активности патологического процесса. Если у пациента после двух инъекций отсутствовал положительный результат, то введения прекращали.

Вторую (контрольную) группу составили 30 пациентов (30 глаз) с влажной формой ВМД, у которых проведен ретроспективный анализ динамики морфофункциональных показателей (данных МКОЗ и ОКТ) после интравитреальных инъекций ингибиторов ангиогенеза по стандартной методике в виде трех ежемесячных инъекций в дозе 1,25 мг (0,05 мл), а далее по показаниям [9, 10]. Средний возраст пациентов составил $68,32 \pm 1,87$ года.

Сроки наблюдения на 12 месяцев.

Данное клиническое исследование было согласовано и разрешено Локальным Независимым Этическим Комитетом при ГБОУ ВПО «Ростовский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (протокол заседания

№ 9/15 от 14 мая 2015 года), а также проводилось с добровольного информированного согласия пациентов.

Статистическая обработка материала выполнялась с помощью электронной таблицы Microsoft Excel и программы «Statistica 10». Количественные переменные описывались числом пациентов, средним арифметическим значением (M), ошибкой среднего (m). Достоверность различий между группами оценивали с помощью критерия Вилкоксона для сравнения двух зависимых выборок и критерия Манна–Уитни — для двух независимых выборок.

Результаты и их обсуждение. Значение МКОЗ в основной группе до лечения в среднем составляло $0,19 \pm 0,02$, через 1 месяц после введения она повысилась до $0,30 \pm 0,03$, достигнув максимума через 4 месяца — $0,35 \pm 0,05$ ($p < 0,05$). В последующие месяцы отмечалось незначительное снижение средней МКОЗ, и через 12 месяцев она составила $0,29 \pm 0,05$, что было достоверно выше исходного показателя до лечения.

При офтальмоскопии наблюдалось уменьшение проминенции патологического очага, частичное или полное рассасывание кровоизлияний и твердых экссудатов.

Выявлена положительная динамика показателей ОКТ на фоне проведенной терапии. ЦТС имела тенденцию к снижению и в среднем составляла до лечения $434,8 \pm 21,5$ мкм, через 6 месяцев после лечения — $253,7 \pm 18,4$ мкм, а через 12 месяцев выявлено незначительное увеличение ЦТС, которая составила $271,4 \pm 17,38$ мкм, однако она была достоверно ниже исходного показателя до лечения ($p < 0,05$). Высота отслойки пигментного эпителия сетчатки уменьшилась в среднем с $382,4 \pm 39,6$ мкм до $235,3 \pm 36,7$ мкм в течение периода наблюдения, но полного ее прилегания не отмечалось.

Протяженность и высота патологических изменений достоверно снижались в течение всего периода наблюдения ($p < 0,01$). Протяженность патологических изменений достоверно сократилась после лечения на 38,5% (в 1,6 раза). Высота патологических изменений также уменьшилась на 33,2% (в 1,5 раза). Площадь очага поражения до лечения составила $0,21 \pm 0,06$ мм², через 12 месяцев после лечения — $0,08 \pm 0,02$ мм². Объем всего очага поражения составил $9,98 \pm 0,4$ мм³, объем мембраны в очаге поражения — $4,03 \pm 0,4$ мм³, объем отека в очаге поражения — $5,95 \pm 0,4$ мм³. Через 12 месяцев после лечения эти показатели уменьшились и составили $6,33 \pm 0,5$; $3,16 \pm 0,4$ и $2,97 \pm 0,5$ мм³ соответственно (рис. 1, 2).

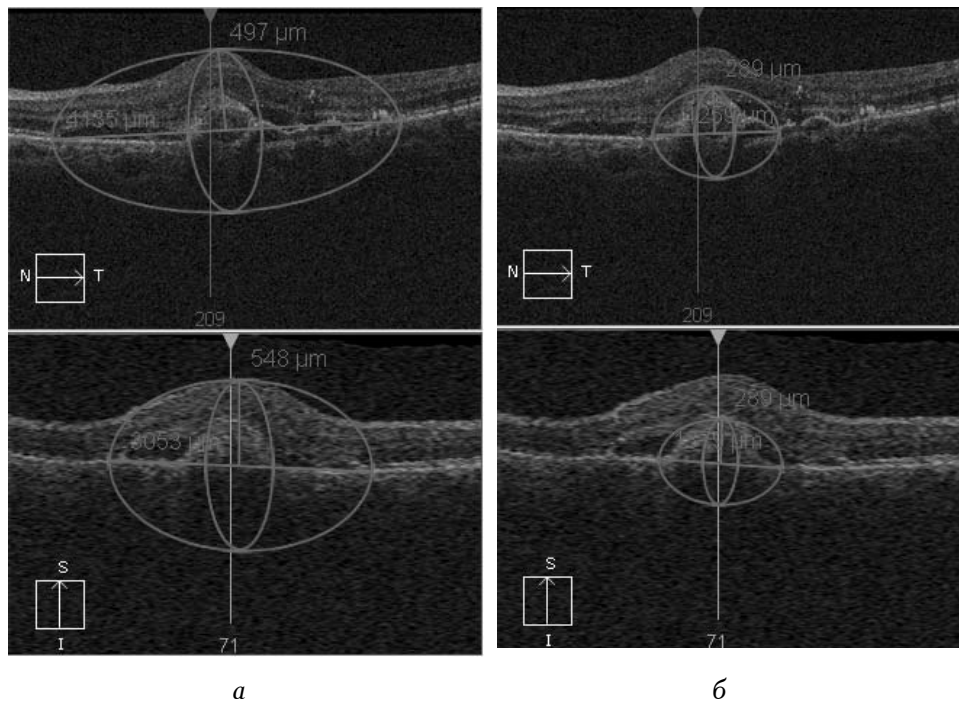


Рис. 1. ОКТ пациента с влажной ВМД в двух плоскостях до лечения: а — параметры для расчета объема патологического очага; б — параметры для расчета объема СНМ.

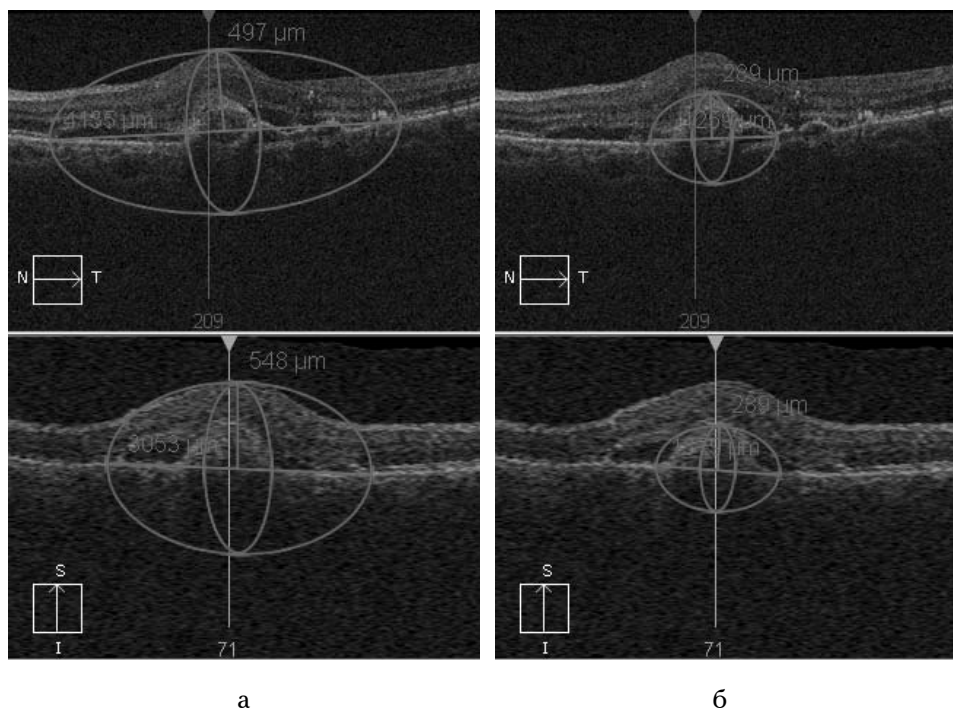


Рис. 2. ОКТ того же пациента в двух плоскостях после лечения: а — параметры для расчета объема патологического очага; б — параметры для расчета объема СНМ.

Обращает на себя внимание то, что после одной инъекции анти-VEGF препарата в заднее субтеноново пространство на вязком носителе наступила частичная регрессия СНМ, которая выражалась в достоверном уменьшении ее размеров и снижении активности.

Данные ОКТ имели важную информативность, так как результаты исследования позволяли

оценить степень активности СНМ при наблюдении в динамике и выявить объективные критерии для повторных введений.

Внутриглазное давление не имело тенденции к повышению и оставалось в пределах нормальных значений в течение всего периода наблюдения, статистически достоверной разницы между показателями до и после введений не выявлено.

В качестве критериев объективной оценки эффективности применения анти-VEGF препаратов при различных путях введения у пациентов двух групп (основной и контрольной) мы использовали МКОЗ и ЦТС, показатели относительного объема патологических изменений, рассчитанных по данным ОКТ: средняя МКОЗ обеих групп значительно улучшилась после лечения, сходные показатели МКОЗ были выше в контрольной

группе (рис. 3). Также средняя ЦТС, показатели относительного объема очага поражения, а также объемов СНМ и отека в очаге поражения по данным ОКТ значительно сократились в результате лечения. Данные средних значений сравниваемых показателей представлены на графиках (рис. 4–7). Каких-либо существенных различий между группами мы не выявили (все $p > 0,05$).

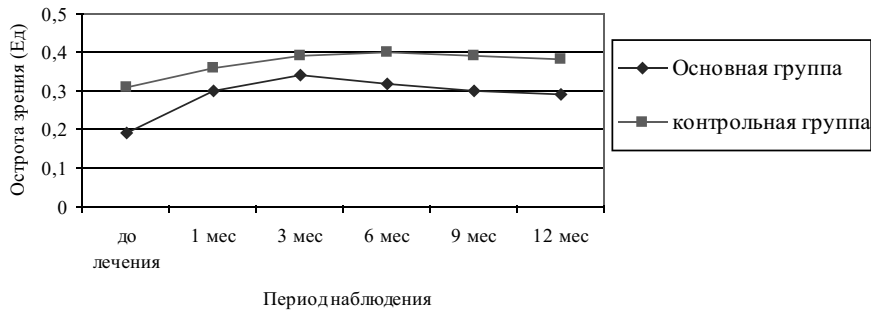


Рис. 3. Динамика средних значений МКОЗ в группах сравнения ($p > 0,05$).

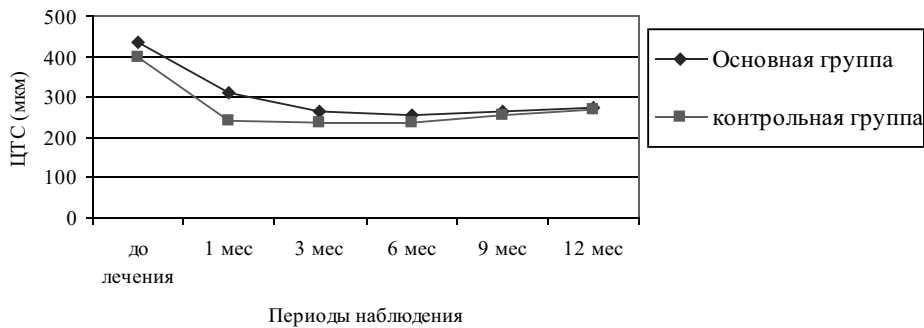


Рис. 4. Динамика средних значений ЦТС в группах сравнения ($p > 0,05$).

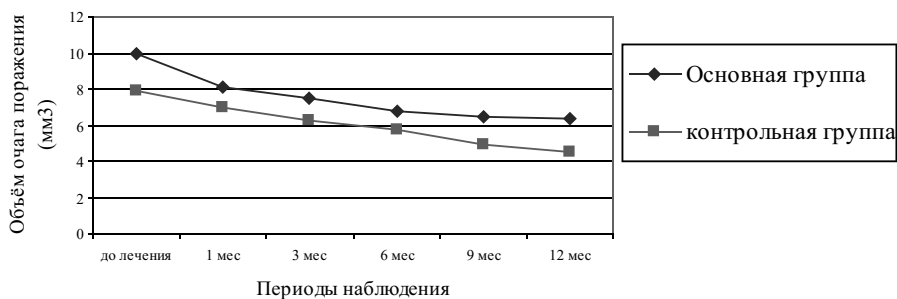


Рис. 5. Динамика средних значений относительного объема очага поражения в группах сравнения ($p > 0,05$).

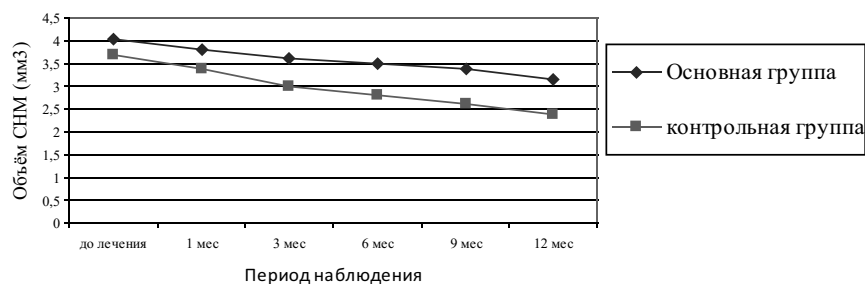


Рис. 6. Динамика средних значений относительного объема СНМ в группах сравнения ($p > 0,05$).

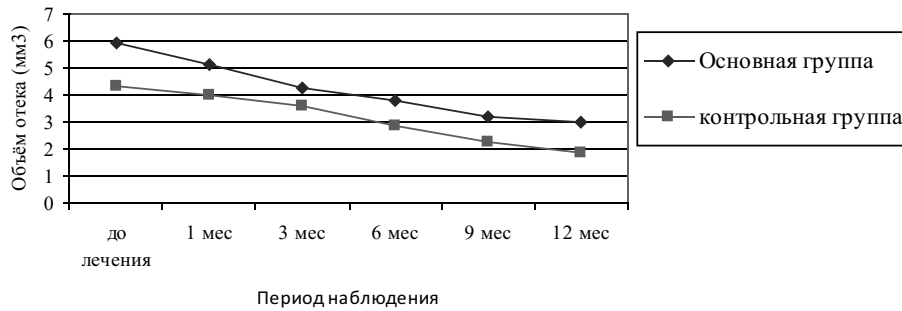


Рис. 7. Динамика средних значений относительного объема отека в патологическом очаге в группах сравнения ($p > 0,05$).

Таким образом, лечение больных с влажной формой ВМД с помощью введения ингибитора ангиогенеза в заднее субтенозово пространство на вязком носителе дает положительный эффект, практически не отличающийся от эффекта при интавитреальном способе введения. Длительность эффекта действия после первого введения при субтенозовом способе введения ингибиторов ангиогенеза составила 2–2,5 месяца, при интавитреальном — 1–1,5 месяца.

Количество введений ингибиторов ангиогенеза за 12 месяцев в группах сравнения показало, что для достижения и поддержания терапевтического эффекта при интавитреальном введении пациентам потребовалось 4,2 инъекции, а при субтенозовом введении на вязком носителе — всего 2,8 инъекции, что в 1,5 раза меньше. Таким образом, введение анти-VEGF препарата в заднее субтенозово пространство на вязком носителе оказывает более пролонгированное действие.

Отметим необходимость динамического контроля состояния пациентов после инъекции; при появлении признаков активности ХНВ следует повторно выполнять введения.

Выводы.

1. В результате лечения влажной формы ВМД методом введения ингибитора ангиогенеза в заднее субтенозово пространство на вязком носителе отмечается положительный эффект, который заключается в частичном восстановлении структуры макулярной области, значительном уменьшении или полной ликвидации отека сетчатки в макуле, позволяет добиться регрессии СНМ по данным ОКТ, стабилизировать или повысить остроту зрения.

2. Субтенозовые инъекции ингибитора ангиогенеза на вязком носителе позволяют уменьшить количество и частоту инъекций, так как отличаются пролонгированностью воздействия за счет создания депо препарата, тем самым сокращая риски, связанные с введением препарата в стекловидное тело, а также финансовые затраты на лечение.

Литература

1. Жайворонок Н.С., Смолякова Г.П., Данилова Л.П., Еманова Л.П., Поваляева Д.А. Отдаленные результаты антиангиогенной терапии неоваскулярных форм возрастной макулярной дегенерации // Современные технологии в офтальмологии. 2017. No 2. С. 198–201. [Zhajvoronok N.S., Smolyakova G.P., Danilova L.P., Emanova L.P., Povalyaeva D.A. Long-term results of antiangiogenic therapy of neovascular forms of age-related macular degeneration, *Sovremennye tehnologii v oftal'mologii*, 2017, No 2, pp. 198–201].
2. Solomon S.D., Lindsley K., Vedula S.S., Krzystolik M.G., Hawkins B.S. Anti-vascular endothelial growth factor for neovascular age-related macular degeneration // *Cochrane Database Syst. Rev.* 2014. Vol. 8. 139 p.
3. Zhao L., Grob S., Avery R., Kimura A. et al. Common variant in VEGF-A and response to anti-VEGF therapy for neovascular age-related macular degeneration // *Curr. Mol. Med.* 2013. Vol. 13 (6). P. 929–934.
4. Ventrice P., Loporini C., Aloe J.F. et al. Anti-vascular endothelial growth factor drugs safety and efficacy in ophthalmic diseases // *J. Pharmacol Pharmacother.* 2013. Vol. 4. P. 38–42.
5. Sampat K.M., Garg S.J. Complications of intravitreal injections // *Curr. Opin. Ophthalmol.* 2010. Vol. 21, No 3. P. 178–183.
6. Ventrice P., Loporini C., Aloe J.F., Greco E., Leuzzi G., Marrazzo G., Scorcia G.B., Bruzzichesi D., Nicola V., Scorcia V. Anti-vascular endothelial growth factor drugs safety and efficacy in ophthalmic diseases // *Pharmacol Pharmacother.* 2013. Vol. 4. P. 38–42.

7. *Potter M.J., Szabo S.M., Ho T.* Combined photodynamic therapy and intravitreal triamcinolone for the treatment of myopic choroidal neovascularization in a 13-year old girl // *Graefe's Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.* 2006. Vol. 244. P. 639–641.

8. *Басинский С.Н., Красногорская В.Н., Басинский А.С.* Методы введения лекарственных препаратов к заднему отделу глаза // *Клиническая офтальмология.* 2008. No 2. С. 54–57. [*Basinskiy S.N., Krasnogorskaya V.N., Basinskiy A.S.* Methods of administration of drugs to the posterior part of the eye, *Klinicheskaya oftal'mologiya*, 2008, No 2, pp. 54–57].

9. *Porter R.G., Karki S.B.* Choroidal neovascularization secondary to cuticular drusen treated with intravitreal bevacizumab // *Retin Cases Brief.* 2014. Vol. 8. No 4. P. 326–329.

10. *Menke M.N., Zinkernagel M.S. et al.* Functional and anatomical outcome of eyes with neovascular age-related macular degeneration treated with intravitreal ranibizumab following an exit strategy regimen // *Brit. J. Ophthalmol.* 2014. Vol. 98, No 9. P. 1197–1200.

Поступила в редакцию: 21.04.2018 г.

Контакт: *Гайбарян Розалия Владимировна, frolova1985@rambler.ru*

Сведения об авторах:

Гайбарян Розалия Владимировна — кандидат медицинских наук, ассистент кафедры офтальмологии ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России; 344022, г. Ростов-на-Дону, Нахичеванский переулок, д. 29; e-mail: frolova1985@rambler.ru;

Епихин Александр Николаевич — кандидат медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой офтальмологии ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России; 344022, г. Ростов-на-Дону, Нахичеванский переулок, д. 29; e-mail: kgb1rostgmu@yandex.ru;

Епихина Юлия Николаевна — кандидат медицинских наук, доцент кафедры офтальмологии ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России; 344022, г. Ростов-на-Дону, Нахичеванский переулок, д. 29; e-mail: upona-25@yandex.ru;

Бондаренко Юлия Фёдоровна — аспирант кафедры офтальмологии ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России; 344022, г. Ростов-на-Дону, Нахичеванский переулок, д. 29; e-mail: studentra161@mail.ru;

Епихин Николай Александрович — ассистент кафедры офтальмологии ФГБОУ ВО «Ростовский государственный медицинский университет» Минздрава России; 344022, г. Ростов-на-Дону, Нахичеванский переулок, д. 29; e-mail: castortroi@yandex.ru.

УДК 616.61-036+616.12:615.3

ХРОНИЧЕСКАЯ БОЛЕЗНЬ ПОЧЕК У ПАЦИЕНТОВ КАРДИОЛОГИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ

Л.В. Михайлова, Е.М. Романова, У.А. Добрынина

ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет им. И. Канта», медицинский институт,
Калининград, Россия

CHRONIC KIDNEY DISEASE OF CARDIAC PATIENTS

L.V. Mikhaylova, E.M. Romanova, U.A. Dobrynina

FSUE "Immanuel Kant Baltic Federal University", Medical institute, Kaliningrad, Russia

© Коллектив авторов, 2018 г.

© A team of authors, 2018.

Целью исследования явилась оценка функционального состояния почек у пациентов кардиологического профиля. *Материалы и методы.* Проведен ретроспективный анализ 208 историй болезни пациентов, выписанных из 1-го и 2-го кардиологического отделения ГБУЗ «ОКБ Калининградской области», из них 110 (53%) мужчин и 98 (47%) женщин. Средний возраст пациентов составил 63 (56,0; 71,0) года. С целью оценки функции почек использовался расчетный метод определения СКФ по формуле СКД-ЕРІ в мл/мин/1,73 м². *Результаты.* Выявлено, что более трети пациентов кардиологического профиля без диагностированных заболеваний почек имеют признаки почечной дисфункции в виде ХБП 1–3 стадии. ХБП 3 стадии относительно чаще выявлялась у пациентов с аритмиями на фоне органических поражений миокарда. Функциональное состояние почек ухудшается с увеличением ФК стенокардии и ХСН; все пациенты с ХСН III–IV ФК, включенные в исследование, имели признаки ХБП 2–3 стадии. Статистической зависимости функционального состояния почек от наличия (стадии) гипертонической болезни, наличия ИБС, сахарного диабета 2-го типа и дислипидемии выявлено не было.

Ключевые слова: хроническая болезнь почек, скорость клубочковой фильтрации, факторы риска развития сердечно-сосудистых заболеваний, пациенты кардиологического профиля.

The aim of the study was to evaluate the functional state of the kidneys in patients with cardiological profile. *Material and methods:* a retrospective analysis of 208 case histories of patients discharged from the 1st and 2nd cardiological departments of the State Budgetary Healthcare Institution Regional Kaliningrad Clinical Hospital was conducted, 110 of them (53%) were men and 98 (47%) were women. The average age of the patients was 63 (56.0, 71.0) years. To evaluate the kidney function, a calculation method for determining GFR using the formula CKD-EPI in ml/min/1.73 m² was used. *Results:* It was revealed that more than a third of cardiological patients without diagnosed kidney diseases have signs of renal dysfunction in the form of CKD 1-3 stages. CKD stage 3 was relatively more common in patients with arrhythmias on the background of organic myocardial lesions. The functional state of the kidneys worsens with an increase in functional class angina pectoris and CHF; all patients with CHF III–IV FC included in the study had signs of CKD 2-3 stages. The statistical dependence of the functional state of the kidneys on the presence / stage of hypertension, the presence of IHD, type 2 diabetes mellitus and dyslipidemia was not revealed.

Key words: chronic kidney disease, glomerular filtration rate, risk factors of progress of cardiovascular diseases, cardiac patients.

Введение. В последние годы много внимания уделяется связи хронической болезни почек (ХБП) с заболеваниями сердечно-сосудистой системы: гипертонической болезнью (ГБ), ишемической болезнью сердца (ИБС) и хронической сердечной недостаточностью (ХСН). Разработаны рекомендации, согласно которым предлагается определять расчетную скорость клубочковой фильтрации (рСКФ) у пациентов с артериальной

гипертензией и ХСН, в том числе для стратификации риска [1–3]. Доказано, что ХБП эквивалентна ИБС по риску сердечно-сосудистых осложнений [4]. Установлена обратная связь сниженной рСКФ с высоким риском общей и сердечно-сосудистой смертности, при этом даже незначительное нарушение функции почек увеличивает риск сердечно-сосудистых осложнений [5, 6]. Связь кардиальной и почечной патологии па-

тогенетически обусловлена нарушением функции эндотелия и активацией ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, основным звеном при этом является повышение уровня ангиотензина-II [7].

Нами проведено исследование, целью которого явилась оценка функционального состояния почек у пациентов кардиологического профиля без диагностированных заболеваний почек и мочевыводящих путей.

Материалы и методы исследования. В ретроспективное исследование включено 208 историй болезни пациентов, выписанных из 1 (108) и 2 (100) кардиологических отделений (к.о.) ОКБ Калининградской области в августе-ноябре 2016 года, из них 110 (53%) мужчин и 98 (47%) женщин. Средний возраст пациентов составил 63 (56,0; 71,0) года. Преобладали пациенты с основным диагнозом «Гипертоническая болезнь» (75 пациентов в 1 к.о. и 9 пациентов во 2 к.о.) и «ИБС» (26 пациентов со стабильной стенокардией напряжения в 1 к.о., 8 во 2 к.о., 52 пациентов с инфарктом миокарда и 20 пациентов с нестабильной стенокардией во 2 к.о.). Структура других диагнозов представлена нарушениями ритма (экстрасистолия, фибрилляция предсердий, синдром слабости синусового узла — СССУ) на фоне постмиокардитического кардиосклероза или ишемической кардиомиопатии (4 пациента в 1 к.о. и 9 во 2 к.о.), и ХСН III–IV функциональных классов (ФК) на фоне ишемической кардиомиопатии (3 в 1 к.о. и 2 во 2 к.о.). Критерии исключения: наличие в медицинской документации указания на диагностированное заболевание почек, тяжелые сопутствующие заболевания в фазе обострения или острые заболевания, выраженную органную недостаточность.

Учитывались такие факторы риска развития сердечно-сосудистых заболеваний, как дислипидемия и сахарный диабет. Информация о наличии ожирения и курении сигарет содержалась не во всех историях болезни, поэтому эти факторы риска не учитывались. Эхокардиографическое исследование с расчетом индекса массы миокарда левого желудочка (ИММЛЖ) проводилось не всем пациентам, поэтому наличие гипертрофии левого желудочка также не учитывали.

С целью оценки функции почек использовался расчетный метод определения СКФ (ρ СКФ) по формуле СКД-ЕРІ в мл/мин/1,73 м² [8]. При установлении стадии ХБП учитывались также показатели протеинурии в общем анализе мочи. ХБП диагностировали по разовому расчету СКФ.

Анализ полученных данных проводился с использованием редактора электронных таблиц MS Excel 7.0. В связи с преобладанием отличного от нормального распределения данных, непрерывные переменные представлены в виде медианы

и межквартильных интервалов (Ме, 25%;75%). Номинальные данные представлены в виде относительных частот объектов исследования (абс. число, %). Достоверность различий непрерывных данных оценивали с помощью парного критерия Манна–Уитни U-test, для сопоставления двух выборок по частоте встречаемости признака использовался F-критерий Фишера. Критический уровень значимости нулевой статистической гипотезы (ρ) принимали равным 0,05; при $\rho < 0,05$ различия считались статистически значимыми.

Результаты и их обсуждение. При оценке функционального состояния почек у пациентов кардиологического профиля выявлено, что у 59 (28,4%) пациентов ρ СКФ была менее 60 мл/мин/1,73 м², при этом она соответствовала 3А стадии ХБП у 38 (18,2%) человек, 3Б стадии — у 20 (9,7%) человек, 4 стадии — у 1 (0,5%) больной. У 130 пациентов ρ СКФ была в пределах 60–89 мл/мин/1,73 м², при этом 70 (33,6%) из них были моложе 65 лет, а у 18 (8,7%) начальное снижение ρ СКФ сочеталось с протеинурией, что соответствует ХБП 2 стадии.

Нормальная ρ СКФ, соответствующая уровню 90 мл/мин/1,73 м² и выше, наблюдалась у 19 пациентов, при этом у 3 (1,4%) из них в общем анализе мочи была протеинурия, что соответствует ХБП 1 стадии. У 43 пациентов старше 65 лет ρ СКФ была в пределах 60–89 мл/мин/1,73 м² и не сочеталась с протеинурией, что расценивается как вариант возрастной нормы. Таким образом, ХБП отсутствовала у 58 (27,9%) пациентов, включенных в исследование (рис. 1).

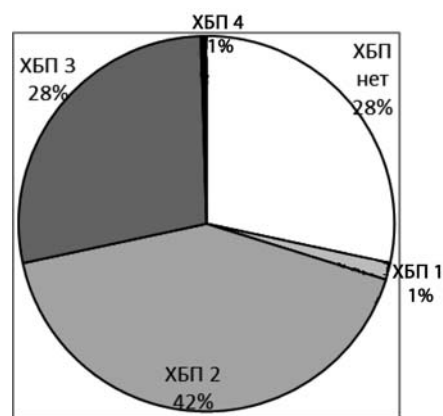


Рис. 1. Распределение пациентов кардиологического профиля по стадиям ХБП.

При анализе групп пациентов в зависимости от стадии ХБП выявили различия по возрасту и полу: в группе пациентов с ХБП 2 стадии значительно преобладали мужчины более молодого возраста, пациенты с ХБП 3 были статистически значимо старше (табл. 1).

Таблица 1

Распределение пациентов по возрасту, полу и структура диагнозов в зависимости от наличия и стадии ХБП

| Показатель | ХБП 0 (n=58) | ХБП 2 (n=88) | ХБП 3 (n=58) |
|------------------------------------|--------------|---------------|--------------|
| Возраст, Ме (25%; 75%) | 66 (63; 75) | 55 (53; 61)** | 71 (66; 79)* |
| Мужчины, абс. (%) | 26 (45) | 59 (67)** | 23 (40) |
| Женщины, абс. (%) | 32 (55) | 29 (33)** | 35 (60) |
| Гипертоническая болезнь, абс. (%) | 23 (40) | 38 (43) | 20 (34) |
| Инфаркт миокарда, абс. (%) | 16 (28) | 24 (27) | 12 (21) |
| Стабильная стенокардия, абс. (%) | 10 (17) | 10 (11) | 12 (21) |
| Нестабильная стенокардия, абс. (%) | 6 (10) | 11 (13) | 4 (7) |
| Аритмии, абс. (%) | 3 (5) | 4 (5) | 6 (10) |
| ХСН III–IV ФК, абс. (%) | 0 | 1 (1) | 4 (7) |

Примечание: статистическая значимость различий в сравнении с группой без ХБП: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$.

Среди пациентов без признаков ХБП (n=58) в качестве основного диагноза у 23 пациентов (40%) фигурировала гипертоническая болезнь, у 32 (55%) — ИБС, диагноз аритмий (экстрасистолия на фоне постмиокардитического кардиосклероза — 1 случай, пароксизмальная форма фибрилляции предсердий на фоне ИБС — 1 случай, СССУ при ИБС — 1 случай) выставлялся 3 пациентам (5%). Среди пациентов с наличием ХБП (n=150) диагноз «Гипертоническая болезнь» встречался у 61 пациента (41%), ИБС — у 74 пациентов (49%), аритмии (постоянная форма фибрилляции предсердий на фоне ИБС — 5 случаев, пароксизмальная форма фибрилляции предсердий на фоне ИБС — 4 случая, желудочковая экстрасистолия на фоне постмиокардитического кардиосклероза — 1 случай) — у 10 пациентов (7%), ХСН III–IV ФК на фоне ишемической кардиомиопатии — у 5 пациентов (3%) (рис. 2).

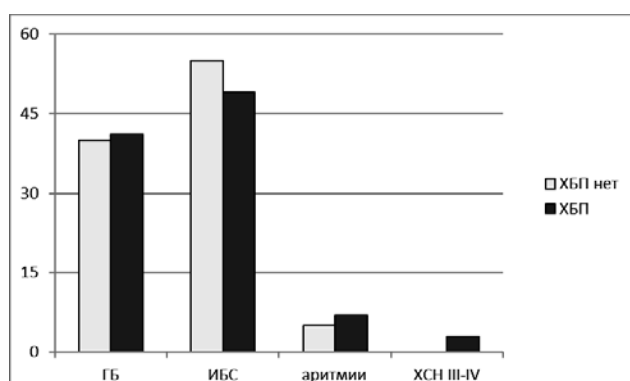


Рис. 2. Структура диагнозов у пациентов в зависимости от наличия ХБП (в % от общего количества).

При анализе таких факторов риска развития сердечно-сосудистых заболеваний, как сахарный диабет 2-го типа и дислипидемия, были выявлены некоторые различия в зависимости от наличия и стадии ХБП: среди пациентов кардиологического профиля без признаков ХБП (n=58) сахарный диабет выявлялся у 11 (19%), при ХБП 2 стадии (n=88) — у 8 (9%), при ХБП 3 стадии (n=58) — у 13 пациентов (22%); дислипидемия выявлялась у 30 пациентов (52%) без ХБП, у 50 (57%) с ХБП 2 стадии и у 27 (47%) пациентов с ХБП 3 стадии (рис. 3).

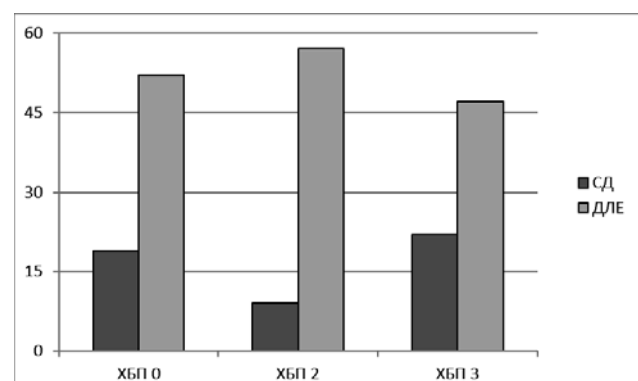


Рис. 3. Наличие сахарного диабета и дислипидемии у пациентов в зависимости от стадии ХБП (в % от общего количества).

Среди пациентов с ИБС 32 больных имели стабильную стенокардию напряжения I–III ФК. При анализе у них рСКФ выявлено, что с нарастанием ФК стенокардии средние показатели рСКФ уменьшались (рис. 4).

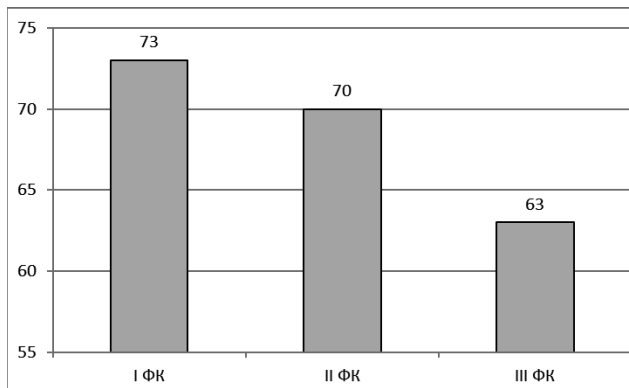


Рис. 4. Скорость клубочковой фильтрации (мл/мин/1,73 м²) у пациентов со стабильной стенокардией.

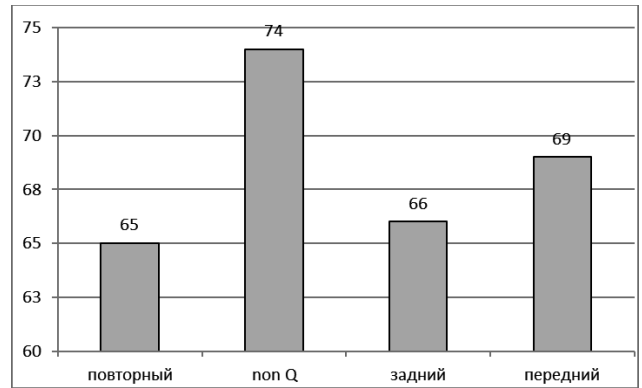


Рис. 5. Скорость клубочковой фильтрации (мл/мин/1,73 м²) у больных с инфарктом миокарда.

В исследование включены 52 пациента с инфарктом миокарда (ИМ). Расчетная СКФ при non Q-ИМ (n=12) составила 74 (67; 84) мл/мин/1,73 м² и была несколько выше, чем при Q-ИМ (n=35): 67 (61; 76) мл/мин/1,73 м², при этом статистической значимости различий выявлено не было (p=0,08).

Функциональное состояние почек не различалось у пациентов в зависимости от локализации ИМ: pСКФ при переднем ИМ (n=16) составила 69 (60; 81) мл/мин/1,73 м², при заднем ИМ (n=19) — 66 (63; 72) мл/мин/1,73 м².

При повторном ИМ (n=5) pСКФ статистически значимо не отличалась от pСКФ при Q-ИМ и составила 65 (53;74) мл/мин/1,73 м² (рис. 5).

Заключение. Таким образом, в нашем исследовании выявлено, что более трети пациентов кардиологического профиля без диагностированных заболеваний почек имеют признаки почечной дисфункции в виде ХБП 1–4 стадии. Все пациенты с ХСН III–IV ФК, включенные в исследование, имели признаки ХБП 2–3 стадии. ХБП 3 стадии относительно чаще выявлялась у пациентов с аритмиями (фибрилляция предсердий, желудочковая экстрасистолия) на фоне органических поражений миокарда. В то же время статистической закономерности в наличии (стадии) ХБП у пациентов с гипертонической болезнью и ИБС выявлено не было. Функциональное состояние почек ухудшается с увеличением ФК стенокардии и ХСН и не зависит от наличия метаболических нарушений, таких как сахарный диабет 2-го типа и дислипидемия. Полученные результаты согласуются с данными других исследователей [9–11].

Литература

1. *Диагностика и лечение артериальной гипертензии.* Российские рекомендации Комитета экспертов Российского кардиологического общества (РКО), Российского медицинского общества по артериальной гипертензии (РМОАГ). М., 2013. [Diagnosis and treatment of hypertension. Russian recommendations of the Committee of Experts of the Russian Cardiological Society (RCS), the Russian Medical Society for Arterial Hypertension (RMSAH). Moscow, 2013].
2. *Рекомендации Европейского общества кардиологов (ЕОК) по диагностике и лечению острой и хронической сердечной недостаточности* // Российский кардиологический журнал. 2012. № 4 (02). С. 1–68. [Recommendations of the European Society of Cardiology (ESC) for Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure, Russian Cardiology Journal. 2012. No. 4 (02). P. 1–68.]
3. *Национальные рекомендации ОССН, РКО и РНМОТ по диагностике и лечению ХСН.* М., 2013. [National recommendations of SSHF, RCS and RSMST on diagnosis and treatment of CHF. Moscow, 2013.]
4. *Сердечно-сосудистый риск и хроническая болезнь почек: стратегии кардио-нефропротекции.* Национальные рекомендации Комитета экспертов Российского кардиологического общества (РКО), Научного общества нефрологов России (НОНР), Российской ассоциации эндокринологов (РАЭ), Российского медицинского общества по артериальной гипертензии (РМОАГ), Национального общества по изучению атеросклероза (НОА), Российского научного медицинского общества терапевтов (РНМОТ). М., 2014. [Cardiovascular risk and chronic kidney disease: cardio-nephroprotection. Recommendations by the Joint Expert Committee of the Russian Society of Cardiology (RSC), the Scientific Society of Russian Nephrologists (SSRN), the Russian Association of Endocrinologists (RAE), the Russian

Society of Hypertension (RSH), the Russian National Atherosclerosis Society (RNAS), and the Russian Scientific Society of Internal Medicine (RSSIM). Moscow, 2014.]

5. *Levey A.S., Stevens L.A., Schmid C.H. et al.* A new equation to estimate glomerular filtration rate // *Ann. Intern. Med.* 2009. Vol. 5, No 150 (9). P. 604–612.

6. *Шутов А.М.* Хроническая болезнь почек — глобальная проблема XXI века // *Клиническая медицина.* 2014. No 5. С. 5–10. [*Shutov A.M.* Chronic renal disease — a global problem in the XXI century, *Klin. med.*, 2014, No 5, pp. 5–10].

7. *Камышникова Л.А., Ефремова О.А., Пивовар Р.С.* Особенности кардиоренальных взаимоотношений у больных с хронической болезнью почек. Современное состояние проблемы // *Научные ведомости БелГУ. Серия: Медицина. Фармация.* 2017. No 5 (254). С. 13–21. [*Kamyshnikova L.A., Efremova O.A., Pivovar R.S.* Features of cardiorenal relationship at patients with the chronic disease of kidneys. The current state of the problem, *Scientific sheets of BELGU. Series: Medicine. Pharmacy,* 2017, No 5 (254), pp. 13–21.]

8. *Collins A.J., Vassalotti J.A., Wang C. et al.* Who should be targeted for CKD screening? Impact of diabetes, hypertension, and cardiovascular disease // *Am. J. Kidney Dis.* 2009. No 53, Suppl. 3. P. 71–77.

9. *Нагайцева С.С., Швецов М.Ю., Лукишина Л.П., Бурба С.В., Гарпищенко А.Г., Герасимов А.Н., Шилов Е.М.* Впервые выявленная хроническая болезнь почек среди пациентов терапевтического стационара: роль расчета СКФ по методу СКД-ЕРІ // *Клиническая медицина.* 2015. No 7. С. 56–61. [*Nagaitseva S.S., Shvetsov M.Y., Lukshina L.P., Burba S.V., Garpishchenko A.G., Gerasimov A.N., Shilov E.M.* Newly-diagnosed chronic kidney disease in patients of a therapeutic clinic: the role of GFR calculation by the CKD-EPI formula, *Klin. med.* 2015. No 7. pp. 56–61.]

10. *Стаценко М.Е., Деревянченко М.В., Титаренко М.Н., Пастухова О.Р.* Кардиоренальные взаимоотношения у больных артериальной гипертензией в сочетании с сахарным диабетом 2-го типа // *Нефрология.* 2014. No 5. С. 44–51. [*Statsenko M.E., Derevyanchenko M.V., Titarenko M.N., Pastukhova O.R.* Cardiorenal relationships in hypertensive patients with type 2 diabetes, *Nephrology.* 2014. No 5. pp. 44–51.]

11. *Шишкова В.Н.* Хроническая болезнь почек и сердечно-сосудистая заболеваемость: фокус на фибрилляцию предсердий // *Рациональная фармакотерапия в кардиологии.* 2015. No 2. С. 196–201. [*Shishkova V.N.* Chronic kidney disease and cardiovascular diseases: focus on atrial fibrillation, *Pharmacother. Cardiol.* 2015. No 2. pp. 196–201.]

Поступила в редакцию: 24.04.2018 г.

Контакт: *Добрынина Ульяна Андреевна, dobrynina.ulyana@list.ru*

Сведения об авторах:

Михайлова Лариса Викторовна — кандидат медицинских наук, доцент кафедры терапии ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет им. И. Канта», медицинский институт; 236006, Калининград, ул. Боткина, д. 4/6; e-mail: mihalysa@mail.ru;

Романова Екатерина Михайловна — студентка 5 курса ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет им. И. Канта», медицинский институт; 236006, Калининград, ул. Боткина, д. 4/6; e-mail: emromanova1995@gmail.com;

Добрынина Ульяна Андреевна — студентка 5 курса ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет им. И. Канта», медицинский институт; 236006, Калининград, ул. Боткина, д. 4/6; e-mail: dobrynina.ulyana@list.ru.

ЮБИЛЕЙ

75 ЛЕТ АЛЕКСАНДРУ ВЛАДИМИРОВИЧУ ШАБРОВУ

75 YEARS ANNIVERSARY

OF ALEKSANDR VLADIMIROVICH SHABROV



9 мая 2018 года исполнилось 75 лет со дня рождения и 50 лет научной, педагогической и лечебной деятельности академика РАН, заслуженного деятеля науки РФ, дважды лауреата премии Правительства Российской Федерации Александра Владимировича Шаброва.

А.В. Шабров родился в блокадном Ленинграде в семье военного моряка. В 1961 г. поступил и в 1966 г. окончил Первый Ленинградский медицинский институт им. акад. И.П. Павлова.

А.В. Шабров — представитель известной не только у нас в стране, но и далеко за ее пределами русской клинической и научной школы академиков Г.Ф. Ланга, Т.С. Истамановой и В.А. Алмазова. На кафедре факультетской терапии 1-го ЛМИ им. акад. И.П. Павлова происходило формирование А.В. Шаброва как врача и ученого. На этой кафедре он прошел путь от клинического ординатора до доцента, защитил кандидатскую и докторскую диссертацию.

С первых шагов в профессиональной деятельности А.В. Шабров обнаружил редкий дар — успешно сочетать педагогическую, научную и клиническую деятельность с административной. В alma mater началась его административная карьера: он был назначен заместителем декана, затем проректором по международным связям.

В должности проректора по международным связям А.В. Шабров провел серьезную работу по совершенствованию системы образования иностранных учащихся, в значительной степени адаптировав ее к условиям будущей работы выпускников. По его инициативе и при активном участии был организован курс «Тропические болезни», издан учебник по этой дисциплине. За время работы в деканате иностранных учащихся было подготовлено свыше тысячи врачей для более чем 70 стран мира. За подготовку кадров для зарубежных стран А.В. Шабров был награжден медалями Германской Демократической Республики

(ГДР), Болгарии, Венгрии, Чехословакии, грамотами Министерства образования СССР.

С 1989 г. преподавательская, врачебная, научная и организационная деятельность профессора А.В. Шаброва связана с Ленинградским государственным санитарно-гигиеническим медицинским институтом, переименованным в 1994 г. в Санкт-Петербургскую государственную медицинскую академию им. И.И. Мечникова. Организовав первую в СССР кафедру поликлинической терапии, А.В. Шабров принял активное участие не только в подготовке кадров для первичного звена здравоохранения страны, но и в реформировании самой первичной медицинской помощи.

А.В. Шабровым совместно с коллегами были разработаны учебные планы, новые профессиональные образовательные программы второго и третьего уровней обучения, за что он и доцент кафедры М.С. Доценко были удостоены звания Лауреата премии Правительства РФ в номинации «Образование» (2000 г.). А.В. Шабров принимал активное участие как эксперт Всемирной организации здравоохранения в целом ряде международных проектов по реорганизации первичной медицинской помощи в странах Восточной Европы, Украины, Белоруссии, Средней Азии, в связи с чем он был награжден золотой медалью им. Альберта Швейцера и удостоен звания действительного члена Польской академии медицины, Всемирной академии медицины им. Альберта Швейцера, Всемирной организации семейной медицины. А.В. Шабров создает новую кафедру — кафедру внутренних болезней с курсами семейной медицины, клинической фармакологии и лабораторной диагностики. С целью подготовки специалистов-кардиологов А.В. Шабровым была организована кардиологическая клиника европейского уровня с тремя рентгенохирургическими операционными, реанимацией, инфарктным отделением на 50 коек. На базе клиники проводились комплексные научные исследования проблем патогенеза и лечения гипертонической болезни и ишемической болезни сердца, внезапной кардиальной смерти и ее первичной профилактики.

А.В. Шабров обладает талантом находить способных, инициативных учеников и по достоинству оценивать каждого из них. Под его руководством защищены 45 кандидатских и 15 докторских диссертаций. Его перу принадлежат 500 публикаций, из них 42 монографии и книги, 7 учебников, 6 руководств, 5 справочников 57 патентов на изобретение и одно открытие.

С 1991 по 2011 г. А.В. Шабров был ректором Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И.И. Мечникова, а с 2000 по

2007 г. одновременно — представителем Министерства здравоохранения РФ в Северо-Западном федеральном округе. На этих должностях он проявил себя как талантливый организатор науки, образования и здравоохранения. Им создан первый в России факультет высшего сестринского образования. Выпускники этого факультета работают в ведущих лечебно-профилактических и научных учреждениях здравоохранения Москвы, Санкт-Петербурга и многих других городах России.

А.В. Шабров известен своими трудами в области реформирования высшей медицинской школы. Под его руководством подготовлена научная концепция о многоуровневой подготовке специалистов в медицинском вузе, которая легла в основу нормативных документов по высшему медицинскому образованию. За эту работу он был награжден почетными грамотами и памятным медалем Министерства здравоохранения и Министерства образования, неоднократно избирался «Лучшим ректором» года, а в 2008 г. стал лауреатом и обладателем Почетного звания международной Премии «Профессия — Жизнь». На протяжении 20 лет своего ректорства он смог установить широкие научные и образовательные связи со многими университетами Европы (Германия, Швеция, Норвегия, Финляндия, Англия), США, Азии (Индия, Шри Ланка).

Как представитель Министерства здравоохранения и социального развития в Северо-Западном федеральном округе он внес весомый вклад в совершенствование системы здравоохранения округа и систему подготовки кадров. В 2010 г. академик А.В. Шабров повторно был удостоен премии Правительства РФ в номинации «Наука и техника» — «За разработку и применение принципов мониторинга здоровья населения — основа совершенствования здравоохранения Российской Федерации».

С 2012 г. академик РАН А.В. Шабров трудится в должности главного научного сотрудника ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», где по-прежнему принимает самое активное участие в научных исследованиях и разработках, передает свой богатый научный, педагогический и административный опыт все новым и новым поколениям врачей-исследователей.

Редакционная коллегия «Медицинского академического журнала», Санкт-Петербургское академическое научное медицинское сообщество, друзья и коллеги искренне поздравляют юбиляра и желают ему крепкого здоровья и благополучия, новых творческих достижений и открытий, новых благодарных учеников.

ПРАВИЛА ОФОРМЛЕНИЯ СТАТЕЙ

1. Статьи для публикации должны быть написаны на русском языке, иметь реферат (резюме), ключевые слова (3–4) на русском и английском языках.
2. Статьи представляются в редакцию на электронных и бумажных носителях. Если у автора есть затруднения с пересылкой статьи по почте, предоставление материала возможно в электронном виде. Все страницы должны быть пронумерованы от первой до последней страницы, без пропусков и литерных добавлений (например, 2а и т. п.).
3. Объем статьи не должен превышать:
 - 3.1. Передовая статья, обзор, лекция — 25 страниц;
 - 3.2. Оригинальная статья — 15 страниц;
 - 3.3. Рекомендации для врачей — 5 страниц;
 - 3.4. Рецензии, информация, хроника — 3 страницы.
4. Статья должна иметь следующие разделы.
 - 4.1. Титульный лист — указываются название статьи, инициалы и фамилии авторов, полное название учреждения, город на русском и английском языках. Титульный лист должен быть подписан всеми авторами.
 - 4.2. Резюме — до 1500 знаков, отражает цель, основные методы исследований, важнейшие результаты.
 - 4.3. Основной текст должен включать в себя следующие разделы, расположенные в установленном порядке:
 - 4.3.1. Введение;
 - 4.3.2. Материалы и методы исследования — обязательно указываются сведения о статистической обработке экспериментального или клинического материала;
 - 4.3.3. Результаты и их обсуждение;
 - 4.3.4. Выводы;
 - 4.3.5. Литература не более 25 источников для оригинальной статьи и 75 для обзора.
5. Каждая таблица должна иметь номер и название. Рисунки, графики, схемы должны быть черно-белыми с различной штриховкой, выполнены в электронном (отдельными файлами с сохранением возможности редактирования) и бумажном вариантах отдельно от текста, а также иметь подписанные подписи без сокращений и дублироваться в тексте. При включении в публикацию растровой графики (сканированных, цифровых снимков, снимков с экрана мониторов и т. п.) предпочтение отдается рисункам с размером меньшей стороны не менее 5 см (640 пикселей), в форматах pdf, tiff, jpeg (максимальное качество).
6. Библиографический список.
 - 6.1. Библиографические описания источников располагают в порядке упоминания их в тексте статьи и нумеруют арабскими цифрами.
 - 6.2. В лекции можно давать список рекомендуемой литературы, и тогда в тексте ссылаться на источники не обязательно.
 - 6.3. Библиографический список оформляют в соответствии с действующим ГОСТом, указываются все авторы цитируемых работ.
 - 6.4. Ссылки на цитируемые работы в тексте дают в виде порядковых номеров, заключенных в квадратные скобки. Не следует включать в список литературы диссертации.
- 6.5. Примеры:
 1. *Ткаченко Б. И.* Физиология человека. — СПб.: Наука, 2000. — 400 с.
 2. *Шабанов П. Д.* Механизмы лекарственной зависимости // Мед. акад. вестн. — 2001. — Т. I, № 1. — С. 27–35.
 3. *Лебедев А. А.* Поведенческие эффекты алаптида у крыс-изолянтов // Эмоциональное поведение / Под ред. Е. С. Петрова. — СПб.: Питер, 2000. — С. 56–78.
7. Данные об авторах статьи должны включать следующие сведения: фамилия, имя, отчество, место работы с указанием города и страны, адрес для переписки и номер телефона для связи, e-mail.
8. Все термины, употребляемые в статье, должны строго соответствовать действующим номенклатурам (анатомической, гистологической и др.), названия лекарственных средств — Государственной Фармакопее, единицы физических величин — системе единиц СИ.
9. Статьи, поступившие в редакцию, обязательно рецензируются. Если у рецензента возникают вопросы, статья возвращается на доработку. Датой поступления статьи считается дата получения редакцией окончательного варианта статьи. Редакция оставляет за собой право внесения редакторских изменений в текст, не искажающих смысла статьи.
10. Авторское право на конкретную статью принадлежит авторам статьи, что отмечается знаком ©. За издательством остается право на оформление, издание, распространение и доведение до всеобщего сведения публикаций, а также включение журнала в различные базы данных и информационные системы. При перепечатке статьи или ее части ссылка на журнал обязательна.
11. Редакция высылает авторам 1 копию журнала, в котором опубликована статья.
12. Редакция не выплачивает гонорара за статьи и не взимает плату за опубликование рукописей.
13. Журнал публикует рекламу по профилю журнала в виде отдельных рекламных модулей, статей, содержащих коммерческую информацию по профилю журнала с указанием «Публикуется на правах рекламы». Размещение рекламы в журнале платное. Объем помещения рекламной информации в журнале ограничен.
14. Материалы следует направлять ответственному секретарю Алексею Викторовичу Соколову. Адрес: 197376, Санкт-Петербург, улица Академика Павлова, 12, электронная почта: medicalacademicjournal@gmail.com, biochemsokolov@gmail.com

Мы рады всем Вашим статьям, представленным в наш журнал!

Мнение редакции может не совпадать с точкой зрения авторов опубликованных материалов.

Редакция не несет ответственности за последствия, связанные с неправильным использованием информации.

Медицинский академический журнал

Свидетельство о регистрации: ПИ № 2-4952 от 17.01.2001 г.

Редактор: Т.В. Руксина

Верстка: Е.Ю. Паллей

Подписано в печать 27.06.2018 г. Формат 60×90 1/8. Бумага офсетная. Печать офсетная. Печ. л. 9,3. Тираж 1000 экз.
Отпечатано в типографии: ООО "ИПК НП-Принт", 190020, Санкт-Петербург, Измайловский пр., д. 29.