

Вестник РГМУ

Научный медицинский журнал
Российского национального исследовательского
медицинского университета им. Н.И.Пирогова

Главный редактор

А.Г.Камкин

Заместитель главного редактора

А.П.Эттингер

Редколлегия

Г.П.Арутюнов
И.В.Бабенкова
(ответственный секретарь)
Ю.В.Балякин
М.Р.Богомильский
Л.В.Ганковская
С.П.Даренков
Ю.Э.Доброхотова
Л.И.Ильенко
О.А.Кисляк

Н.А.Константинова
В.И.Лапочкин
В.И.Лучшев
А.В.Матюшкин
С.Д.Михайлова
Ю.Г.Мухина
А.Г.Пашинян
С.Б.Петерсон
Н.В.Полунина

Б.А.Поляев
Г.В.Порядин
Н.Г.Потешкина
С.В.Свиридов
А.В.Скороглядов
Н.Н.Снежкова
Е.В.Старых
В.А.Стаханов
И.З.Шишков

Редакционный совет

Е.И.Гусев
И.И.Затевахин
Ю.Ф.Исаков
Ю.М.Лопухин
Г.М.Савельева

Ю.К.Скрипкин
В.И.Стародубов
Г.И.Сторожаков
А.И.Федин

Учредитель и издатель

© Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова

Журнал входит в Перечень ведущих научных журналов и изданий ВАК, в которых должны быть опубликованы основные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата и доктора наук

Адрес редакции журнала:
117997, Москва,
ул. Островитянова, 1
Телефон: (495) 434-3576
E-mail: iio-vestnik@mail.ru

Журнал зарегистрирован
Федеральной службой по надзору
за соблюдением законодательства
в сфере массовых коммуникаций
и охране культурного наследия.
Свидетельство о регистрации средства
массовой информации
№ 012769 от 29 июля 1994 г.

Журнал «Вестник РГМУ»
является рецензируемым изданием
Редакция не несет ответственности
за содержание рекламных
материалов
Тираж 3000 экз.
Цена свободная
Подписной индекс по каталогу
«Роспечать»: 46826

Терапия

Возрастные изменения субпопуляционного состава Т-лимфоцитов у пациентов с сахарным диабетом 2 типа

И.В.Миросниченко, Т.В.Левашова, В.Н.Столпникова, Е.А.Сорокина **5**

Анестезиология

Сбалансированная анестезия на основе ингаляции изофлюрана при реконструктивных операциях на сонных артериях

В.Х.Тимербаев, М.Г.Афонасьев, Е.В.Кислухина, А.В.Макаревич, А.Н.Бондаренко, И.П.Михайлов **10**

Травматология

Прогнозирование исходов переломов дистального метаэпифиза лучевой кости с помощью оценки критериев нестабильности

С.Н.Измалков, О.М.Семенкин, С.А.Нефедов **15**

Возможности применения биodeградируемых материалов в травматологии и ортопедии (обзор литературы)

Б.В.Хонинов, О.Н.Сергунин, П.А.Скороглядов **20**

Акушерство

Опыт преиндукции родов при преждевременном разрыве плодных оболочек в сроке беременности 34–36 недель

В.А.Новикова, Е.Г.Чернобай, С.Р.Аутлева, Е.В.Асеева, К.Э.Торосян, Г.В.Каменских, Е.В.Глебова **25**

Гинекология

Роль полиморфизма генов ферментов системы обмена катехоламинов и эксцизионной репарации ДНК в генезе невынашивания беременности

О.В.Макаров, К.В.Морозова, В.С.Гончарова, Н.Н.Луценко **31**

Применение робот-ассистированных операций в гинекологии (обзор литературы)

Н.И.Насырова, Л.А.Озолина, М.С.Борисова, Н.Г.Аскерова **36**

Онкология

Технологии клеточной иммунотерапии в лечении больных со злокачественными новообразованиями

К.С.Титов, Л.В.Демидов, И.Ж.Шубина, В.А.Хайленко, М.В.Киселевский, А.С.Вихрова **42**

Методы диагностики местно-распространенного рака предстательной железы (обзор литературы)

В.И.Широкорад, С.Б.Петерсон, С.В.Чулкова, Д.И.Володин, В.В.Капустин, А.В.Егорова, Н.В.Лепкова, А.И.Беневский **48**

Медико-биологические проблемы

Модулирующая роль простагландина E₂ в холинергической регуляции сердечной деятельности у нормотензивных животных

А.Ю.Рунихин, Г.В.Порядин, В.И.Савчук **52**

Антиоксидантное действие дигидрохверцетина в составе нового органопрепарата селезенки

М.В.Заико, Ю.О.Теселкин, Л.А.Павлова, С.В.Козин **57**

Влияние природных полифенольных соединений на физическую выносливость и процессы восстановления у мышей

Н.Р.Чехани, Л.А.Павлова, С.В.Козин, Ю.О.Теселкин **61**

Применение жидкостной хроматомасс-спектрометрии в доклинических исследованиях лекарственных веществ

Е.Б.Гугля **65**

Гигиена

Факторы и показатели профессионального риска при добыче нефти

Г.Г.Гимранова, А.Б.Бакиров, Л.К.Каримова, Н.А.Бейгул, Э.Р.Шайхлисламова **72**

Оценка профессионального риска нарушений здоровья работников нефтехимических производств

Г.Г.Бадамшина, Л.К.Каримова, Г.В.Тимашева, А.Б.Бакиров **76**

Правила оформления статей при направлении в редакцию **80**

Bulletin of RSMU

Scientific Medical Journal
of Pirogov Russian National Research Medical University

Editor-in-Chief

A.G.Kamkin

Deputy Editor-in-Chief

A.P.Oettinger

Editorial Board

G.P.Arutyunov	N.A.Konstantinova	B.A.Polyayev
I.V.Babenkova (secretary)	V.I.Lapochkin	G.V.Poryadin
Yu.V.Balyakin	V.I.Lutchshev	N.G.Poteshkina
M.R.Bogomilskiy	A.V.Matyushkin	I.Z.Shishkov
S.P.Darenkov	S.D.Mikhailova	A.V.Skoroglyadov
Yu.E.Dobrokhotova	Yu.G.Mukhina	N.N.Snezhkova
L.V.Gankovskaya	A.G.Pashinyan	V.A.Stakhanov
L.I.Ilyenko	S.B.Peterson	E.V.Starykh
O.A.Kislyak	N.V.Polunina	S.V.Sviridov

Editorial Council

A.I.Fedin	Yu.K.Skripkin
E.I.Gusev	V.I.Starodubov
Yu.F.Isakov	G.I.Storozhakov
Yu.M.Lopukhin	I.I.Zatevakhin
G.M.Savelyeva	

Founder and Publisher

© Pirogov Russian National Research Medical University

Editorial Office:
RNRMU
Ostrovityanova str., 1
Moscow, 117997, Russia

Phone: +7 495 434 3576
E-mail: iio-vestnik@mail.ru

Therapy

Age-Associated Changes of T-Subpopulation Content in Patients with Diabetes 2 Type

I.V.Miroshnichenko, T.V.Levashova, V.N.Stolpnikova, E.A.Sorokina **5**

Anesthesiology

Balanced Anesthesia Based on Isoflurane Inhalation in Reconstructive Operations on the Carotid Arteries

V.Kh.Timerbaev, M.G.Afonasyev, E.V.Kislukhina, A.V.Makarevich, A.N.Bondarenko, I.P.Mikhaylov **10**

Traumatology

Forecasting of Outcomes of Distal Radius Meta-Epiphysis Fractures by Means of Instability Criteria Estimation

S.N.Izmalkov, O.M.Semenkin, S.A.Nefedov **15**

Biodegradable Materials Application in Traumatology and Orthopedics (Review)

B.V.Khoninov, O.N.Sergunin, P.A.Skoroglyadov **20**

Obstetrics

Experience of Preinduction of Labor in Premature Rupture of Membranes at 34–36 Weeks of Gestation

V.A.Novikova, E.G.Chernobay, S.R.Autleva, E.V.Aseeva, K.E.Torosyan, G.V.Kamenskikh, E.V.Glebova **25**

Gynecology

The Role of Gene Enzymes Polymorphism of Catecholamines Exchange System and DNA Excision Reparation in the Genesis of Miscarriage

O.V.Makarov, K.V.Morozova, V.S.Goncharova, N.N.Lutsenko **31**

Robot Assisted Operations in Gynecology (Review)

N.I.Nasyrova, L.A.Ozolinya, M.S.Borisova, N.G.Askerova **36**

Oncology

Technologies of Cell Immunotherapy in Treatment of Cancer Patients

K.S.Titov, L.V.Demidov, I.Zh.Shubina, V.A.Khaylenko, M.V.Kiselevsky, A.S.Vikhrova **42**

Methods of Diagnosis of Locally Advanced Prostate Cancer (Review)

V.I.Shikorodad, S.B.Peterson, S.V.Chulkova, D.I.Volodin, V.V.Kapustin, A.V.Egorova, N.V.Lepkova, A.I.Benevskiy **48**

Medical and Biological Problems

Prostaglandin E₂ Modulating Cholinergic Regulation of Cardiovascular System in Normotensive Animals

A.Yu.Runikhin, G.V.Poryadin, V.I.Savchuk **52**

The Antioxidant Activity of Dihydroquercetin in the New Spleen Medication

M.V.Zaiko, Yu.O.Teselkin, L.A.Pavlova, S.V.Kosin **57**

The Influence of Natural Polyphenolic Compounds on Physical Endurance and Recovery Processes in Mice

N.R.Chekhani, L.A.Pavlova, S.V.Kosin, Yu.O.Teselkin **61**

Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Application in Drug Discovery and Preclinical Study

E.B.Guglya **65**

Hygiene

Factors and Indicators of Oil Extraction Occupational Risks

G.G.Gimranova, A.B.Bakirov, L.K.Karimova, N.A.Beygul, E.R.Shaikhislamova **72**

Estimation of the Occupational Risk of Violations of Petrochemical Industry Workers' Health

G.G.Badamshina, L.K.Karimova, G.V.Timasheva, A.B.Bakirov **76**

Instructions for Authors **80**

Возрастные изменения субпопуляционного состава Т-лимфоцитов у пациентов с сахарным диабетом 2 типа

И.В.Мирошниченко, Т.В.Левашова, В.Н.Стопникова, Е.А.Сорокина

*Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова,
Российский геронтологический научно-клинический центр,
лаборатория клинической возрастной иммунологии и аллергологии, Москва
(зав. лабораторией — проф. В.Ф.Семенов)*

Цель исследования — определить маркеры иммуностарения при сахарном диабете 2 типа (СД 2). Методами полихромной проточной цитометрии и иммуноферментного анализа исследовали кровь 184 пациентов в возрасте 50–90 лет. На основе кластерного анализа, как наиболее информативные показатели иммунитета, были отобраны субпопуляции CD4⁺, CD8⁺ и активированных CD3⁺HLA-DR⁺ Т-клеток (T_{акт}). Сформированы группы пациентов с однотипными изменениями данных показателей. Группы включали лиц с различными стадиями активации или дефицита CD4⁺ и/или CD8⁺. Значения числа T_{акт}, превышающие норму, были определены с разной частотой во всех возрастных группах, включая лиц с нормальным абсолютным числом CD4⁺ и CD8⁺. При этом частота выявления T_{акт} составила 100% (активация) и снижалась до 33% при иммунодефиците CD4⁺ и CD8⁺. Доля лиц с активированным иммунитетом снижалась при старении с 41% (50–59 лет) до 22% (80–90 лет), с иммунодефицитом — возрастала с 43 до 75% соответственно. Выбранный комплекс показателей отражает возрастную реакцию Т-клеток индивидуума на хроническое воспаление при СД 2 и может быть использован как диагностический маркер стадии иммуностарения.

Ключевые слова: активированные CD3⁺HLA-DR⁺ Т-клетки, иммунодефицит, кластерный анализ, маркеры иммуностарения, сахарный диабет 2 типа, хроническое воспаление

Age-Associated Changes of T-Subpopulation Content in Patients with Diabetes 2 Type

I.V.Miroshnichenko, T.V.Levashova, V.N.Stolpnikova, E.A.Sorokina

*Pirogov Russian National Research Medical University,
Russian Gerontological Research Center,
Laboratory of Clinical Age Immunology and Allergology, Moscow
(Head of the Laboratory — Prof. V.F.Semenkov)*

The purpose of the study is to determine the markers of immunosenescence in the diabetes 2 type. It was investigated the blood of 184 patients (age 50–90 years) by the method of polychrome flowing cytometry and enzyme immunoassay. By the method of cluster analysis the subpopulation of CD4⁺, CD8⁺ and the activated CD3⁺HLA-DR⁺ T-cells (T_{act}) as the most informative indicators were selected. The groups of patients with uniform changes of this complex were formed. The groups included patients with the different stages of activation or deficit of CD4⁺ and/or CD8⁺. T_{act} values, which exceeded the norm, were identified with varying frequency in all age groups, including those with normal absolute number of CD4⁺ and CD8⁺. In this case detection rate was 100% (activation) and decreased to 33% in immunodeficiency of CD4⁺ and CD8⁺. The proportion of individuals with activated immunity decreased with aging from 41% (50–59 years) to 22% (80–90 years) and with immunodeficiency — increased from 43% to 75%, respectively. The chosen complex of indicators reflected the age-associated reaction of the T-cells in individuals to the chronic inflammation in diabetes type 2 and can be used as a diagnostic marker of the immunosenescence stage.

Key words: activated CD3⁺HLA-DR⁺ T-cells, immunodeficiency, cluster method, markers of immunosenescence, diabetes 2 type, chronic inflammation

Хронические воспалительные возрастзависимые заболевания, такие как сахарный диабет 2 типа (СД 2), бо-

лезнь Альцгеймера, атеросклероз и некоторые аутоиммунные расстройства, рассматривают как причину ускоренного старения человека. Существенную роль в их патогенезе играет реактивность Т-клеток [1–6]. Экспериментальные исследования, проведенные на клеточном уровне, выявили не только снижение многочисленных функций иммунной системы, но и сложные и разнонаправленные модификации некоторых ее компонентов [2, 5, 7–14].

В статье представлены результаты изучения возрастных изменений субпопуляционного состава Т-лимфо-

Для корреспонденции:

Мирошниченко Ирина Вадимовна, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории клинической возрастной иммунологии и аллергологии Российского геронтологического научно-клинического центра

Адрес: 129226, Москва, 1-я ул. Леонова, 16

Телефон: (499) 187-8652

E-mail: ivmirosh@mail.ru

Статья поступила 27.01.2014, принята к печати 20.02.2014

цитов человека при ускоренном старении на фоне хронического воспаления, обусловленного СД 2. Естественно, иммуностарение включает два взаимосвязанных и нечетко разграниченных процесса: общее физиологическое возрастное старение клеток всех систем организма, в том числе иммунной, и дополнительное влияние на иммунную систему хронического воспаления. При отсутствии экспериментальных моделей, которые бы воспроизводили не только патогенез СД 2 [2], но и спектр полиморбидности старческого возраста человека, возникают определенные трудности в дифференциации этих двух процессов.

Пациенты и методы

Обследованы 184 пациента клиники РГНКЦ в возрасте 50–90 лет с основным диагнозом «сахарный диабет 2 типа», со схожим спектром сопутствующих возрастзависимых заболеваний и отсутствием других заболеваний воспалительного или аутоиммунного генеза. Все исследования проводили на основе информированного согласия пациентов и их родственников в соответствии с международными этическими требованиями ВОЗ (Женева, 1993). Иммунологическое исследование включало определение лейкоцитов (Лц), нейтрофилов (Нф) и лимфоцитов (Лф) с фенотипами хелперных CD3⁺CD4⁺ (CD4⁺), цитотоксических CD3⁺CD8⁺ (CD8⁺), естественных киллерных Т-клеток (ЕКТ), естественных киллерных клеток (ЕК), CD19⁺ В-лимфоцитов (CD19⁺), активированных CD3⁺HLA-DR⁺ Т-клеток (Т_{акт}). Исследования осуществляли методом полихромной проточной цитометрии (прибор FACSCalibur фирмы Becton Dickinson, США и наборы моноклональных антител фирм «Сорбент», Россия, Becton Dickinson и Beckman Coulter, США). Концентрации иммуноглобулинов классов IgG, IgA, IgM и С-реактивного белка (С-РБ) определяли методом иммуноферментного анализа (прибор Expert Plus фирмы ASYS Hitech, Австрия и реагенты фирмы «Вектор-Бест», Россия). Полученные данные сравнивали с нормами, рекомендуемыми фирмами-производителями реактивов. Были рассчитаны средние арифметические (M), медиана (Me) и частота отклонений от нормы (E , %) с доверительным интервалом (I) при уровне вероятности 95%. Сравнение средних показателей проводили с помощью t -критерия Стьюдента.

Результаты исследования и их обсуждение

Сравнение результатов обработки показателей иммунограмм по принятой возрастной классификации — средний (50–59 лет), пожилой (60–74 года), старческий (75–90 лет) возрасты — и по десятилетним интервалам выявило большую информативность второго метода разбивки на группы для анализа результатов иммунологических исследований.

При стандартном расчете $M \pm I_{95}$ для каждого показателя иммунограммы выявлены статистически значимые снижение численности CD8⁺ у лиц старше 80 лет и повышение числа Т_{акт} во всех возрастных группах (табл. 1).

Аналогичные результаты получены при расчете Me и ее доверительного интервала (данные не приводятся).

Обработка данных по частоте отклонений показателей иммунограммы от нормы была более информативна. CD4⁺, CD8⁺ и Т_{акт} имели отклонения от нормы в 40% случаев и более. После 70 лет статистически значимо снижалась частота превышающих норму CD4⁺, после 80 лет возрастала частота количественного дефицита CD8⁺ и CD19⁺. Во всех возрастных группах частота выявления Т_{акт} была высокой, число Т_{акт} превышало норму (≤ 100 кл/мкл) (табл. 2).

Представленные данные не дают характеристику иммунитета на уровне индивидуума. Вместе с тем просмотр иммунограмм выявил почти у всех пациентов множественные разнонаправленные отклонения различных параметров иммунитета от нормы, большая часть которых приходилась на Т-лимфоциты. Это объясняет недостаточную информативность подсчета величины M или Me для каждого отдельного признака без учета комплекса показателей и вектора отклонений от нормы в ту или иную сторону для каждого индивидуума.

Для дальнейшего анализа были отобраны маркеры субпопуляций Т-клеток — CD4⁺, CD8⁺ и Т_{акт}, а в качестве маркера острого воспаления — С-РБ, с наибольшей частотой встречающиеся у пациентов и отражающие признаки воспаления и состояния иммунитета.

По величине и вектору отклонений от нормы были выделены варианты, которые включали следующие комбинации субпопуляций Т-клеток: CD4⁺N/CD8⁺N, CD4⁺↑/CD8⁺N, CD4⁺↑/CD8⁺↑, CD4⁺N/CD8⁺↑, CD4⁺↑/CD8⁺↓, CD4⁺N/CD8⁺↓, CD4⁺↓/CD8⁺N и CD4⁺↓/CD8⁺↓, где N — величина, соответствующая норме, ↑ — выше нормы, ↓ — ниже нормы. (Вариант CD4⁺↓/CD8⁺↑ у обследованных не выявлен.) В соответствии с этими вариантами сформировали группы пациентов с однотипными количественными изменениями показателей CD4⁺/CD8⁺, состояние иммунитета которых соответствовало норме, активации или дефициту CD8⁺ и/или CD4⁺ (табл. 3).

Как следует из табл. 3, при старении достоверно снижался процент лиц, у которых иммунитет был в состоянии активации — с 41% (50–59 лет) до 22% (80–90 лет). Напротив, процент лиц с иммунодефицитом возрастал с 43 до 75%.

Комбинации CD4⁺N/CD8⁺↑ и CD4⁺↓/CD8⁺N встречались редко, поэтому из дальнейшего анализа были исключены.

Пациенты с однотипными отклонениями от нормы независимо от возраста характеризовались одинаковыми средними величинами отобранных маркеров, поэтому были объединены в шесть групп (табл. 4).

Состояние активации в группах 1–3, включая вариант CD4⁺N/CD8⁺N, в 90–100% случаев было подтверждено наличием в кровотоке Т_{акт}, $M \pm I_{95}$ которых в 3–6 раз превышало норму. Общим для групп 4–6 был дефицит CD8⁺, снижение для Т_{акт} частоты выявления и величины $M \pm I_{95}$. Тяжесть заболевания коррелировала с дефицитом CD4⁺↓/CD8⁺↓ ($r = 0,6$). Острое воспаление с повышением концентрации С-РБ отмечено примерно у половины пациентов 1-й группы и у 30% и менее в группах 2–6.

Таблица 1. **Возрастные изменения отдельных показателей иммунограммы у пациентов с СД 2 ($M \pm I_{95}$)**

Показатель	Норма	Пациенты с СД 2				
		50–59 лет, <i>n</i> = 44	60–69 лет, <i>n</i> = 44	70–79 лет, <i>n</i> = 64	80–90 лет, <i>n</i> = 32	
Лц, кл/мкл	6500 ± 2500	7450 ± 630	7240 ± 820	6570 ± 500	5920 ± 670	
Нф,	%	62 ± 16	60 ± 3,2	61 ± 3,4	58 ± 2,6	63 ± 3,2
	кл/мкл	3900 ± 1900	4400 ± 480	4475 ± 600	3810 ± 386	3750 ± 460
Лф,	%	28 ± 9	35 ± 3	34 ± 3	35 ± 3	32 ± 3
	кл/мкл	2100 ± 900	2620 ± 330	2385 ± 360	2280 ± 220	1890 ± 300
CD3 ⁺ ,	%	72,5 ± 7,5	73,0 ± 2,4	75,0 ± 2,6	75,0 ± 2,4	74,0 ± 3,6
	кл/мкл	1450 ± 350	1920 ± 254*↑	1754 ± 24	1727 ± 185	1389 ± 226
CD4 ⁺ ,	%	40 ± 10	46,0 ± 2,8	46,3 ± 3,0	44,0 ± 2,6	45,0 ± 4
	кл/мкл	850 ± 250	1200 ± 160*↑	1070 ± 130	985 ± 120	860 ± 374
CD8 ⁺ ,	%	29 ± 9	18,0 ± 2,4	18,0 ± 2,8	21,0 ± 2,4	17,0 ± 3,0*↓
	кл/мкл	600 ± 200	490 ± 100	440 ± 102	486 ± 82	326 ± 72*↓
ЕК,	%	15 ± 5	13 ± 1,4	12 ± 1,8	14 ± 1,8	14 ± 1,8
	кл/мкл	300 ± 100	330 ± 46	282 ± 52	314 ± 48	265 ± 52
ЕКТ,	%	≤5	3,3 ± 1,2	3,1 ± 1,2	4,4 ± 1,2	3,7 ± 1,4
	кл/мкл	≤100	95 ± 40	68 ± 2,4	104 ± 3,4	71 ± 32
CD19 ⁺ ,	%	12 ± 5	10,7 ± 1,2	9,5 ± 1,6	8,8 ± 1,0	8,8 ± 2,4
	кл/мкл	200 ± 100	278 ± 48	269 ± 130	197 ± 32	174 ± 6,6
IgG, г/л	10,9 ± 5,6	13,0 ± 1,4	12,6 ± 1,4	13,7 ± 1,0	13,8 ± 1,6	
IgA, г/л	2,4 ± 1,6	2,5 ± 0,4	2,9 ± 0,4	3,1 ± 0,4	3,0 ± 0,6	
IgM, г/л	1,3 ± 0,8	1,4 ± 0,2	1,4 ± 0,2	1,5 ± 0,12	1,3 ± 0,2	
T _{акт} ⁺ ,	%	≤5	9,6 ± 2*↑	10,2 ± 3,4*↑	12,8 ± 3,2*↑	10,7 ± 4*↑
	кл/мкл	≤100	234 ± 64*↑	282 ± 112*↑	311 ± 92*↑	200 ± 74*↑
С-РБ, мг/л	≤8	15,2 ± 10,8	11,6 ± 9,2	7,8 ± 3,2	5,5 ± 1,6	

* — достоверные различия (↑/↓ — увеличение/снижение) с нормой (*p* < 0,05)

Таблица 2. **Возрастные изменения частоты отклонений показателей иммунограммы от нормы у пациентов с СД 2 ($E \pm I_{95}$, %)**

Показатель	50–59 лет		60–69 лет		70–79 лет		80–90 лет	
	> N	< N	> N	< N	> N	< N	> N	< N
Лц	25 ± 13	5 ± 7	20 ± 12	5 ± 7	9 ± 7	8 ± 7	13 ± 12	6 ± 8
Нф	19 ± 12	0**	23 ± 13	5 ± 7	8 ± 7	7 ± 6	7 ± 9	3 ± 6
Лф	17 ± 11	8 ± 7	11 ± 10	10 ± 6	19 ± 10	6 ± 6	7 ± 9	19 ± 14
CD3 ⁺	40 ± 17	14 ± 10	42 ± 14	19 ± 12	36 ± 12	19 ± 10	16 ± 12*↓	31 ± 16
CD4 ⁺	52 ± 14	8 ± 7	42 ± 14	12 ± 10	31 ± 12*↓	14 ± 8	28 ± 16*↓	31 ± 16*↑
CD8 ⁺	12 ± 12	43 ± 15	11 ± 10	65 ± 14	11 ± 8	48 ± 12	9 ± 10	72 ± 16*↑
ЕКК	32 ± 12	20 ± 12	23 ± 12	40 ± 14	22 ± 10	31 ± 122	16 ± 12	37 ± 17
ЕКТ	25 ± 13	–	20 ± 12	–	28 ± 12	–	28 ± 16	–
CD19 ⁺	31 ± 19	8 ± 7	16 ± 10	14 ± 10	16 ± 10	17 ± 10	9 ± 10	47 ± 18*↑
IgG	5 ± 5	14 ± 10	7 ± 8	10 ± 8	9 ± 7	7 ± 6	18 ± 14	7 ± 9
IgA	5 ± 5	0	15 ± 10	4 ± 4	12 ± 8	0	18 ± 14	0
IgM	4 ± 4	11 ± 11	0	0	4 ± 4	4 ± 4	7 ± 9	10 ± 11
T _{акт} ⁺	79 ± 14	–	77 ± 16	–	87 ± 10	–	65 ± 22	–
С-РБ	32 ± 16	–	33 ± 18	–	25 ± 18	–	15 ± 15	–

Жирным шрифтом отмечены наиболее частотные отклонения от нормы.
 * — достоверные различия (↑/↓ — увеличение/снижение) с соответствующим значением в возрастной группе 50–59 лет (*p* < 0,05);
 ** — 0 — отсутствие признака

Таблица 3. Частота выявления вариантов кластера показателей CD4⁺/CD8⁺, характеризующих состояние иммунитета как норму, активацию или дефицит CD4⁺ и/или CD8⁺, у пациентов разных возрастных групп

Возраст, лет	норма N/N	<i>E ± I₉₅, %</i> , для групп пациентов с определенной характеристикой иммунитета						
		активация CD4 ⁺ и/или CD8 ⁺				дефицит CD4 ⁺ и/или CD8 ⁺		
		↑/N	N/↑	↑/↑	↑/↓	N/↓	↓/N	↓/↓
50–59	16 ± 11 (7) [#]	27 ± 13 (12)	2 ± 4 (1)	11 ± 9 (5)	14 ± 10 (6)	23 ± 13 (10)	– (0)	7 ± 8 (3)
			41 ± 15			43 ± 15		
60–69	11 ± 9 (5)	16 ± 11 (7)	2 ± 4 (1)	7 ± 8 (3)	29 ± 14 (13)	23 ± 13 (10)	– (0)	11 ± 9 (5)
			25 ± 13			63 ± 14		
70–79	20 ± 10 (13)	16 ± 9 (10)	5 ± 7 (3)	6 ± 7 (4)	9 ± 7 (6)	30 ± 14 (19)	5 ± 7 (3)	9 ± 7 (6)
			27 ± 11			53 ± 12		
80–90	3 ± 6 (1)	16 ± 11 (5)	6 ± 8 (2)	– (0)	19 ± 14 (6)	22 ± 15 (7)	6 ± 8 (2)	28 ± 16 (9)
			22 ± 15* ↓			75 ± 15* ↑		

Жирным шрифтом выделены суммированные показатели по каждой возрастной группе с активацией или дефицитом CD8⁺.

[#] — в скобках указано число пациентов;

* — достоверные различия (↑/↓ — увеличение/снижение) с возрастной группой 50–59 лет с той же характеристикой иммунитета (*p* < 0,05)

Таблица 4. Иммунологическая характеристика групп пациентов разного возраста (от 50 до 90 лет), объединенных по однотипным отклонениям от нормы показателей CD4⁺/CD8⁺

Группа по варианту отклонения от нормы CD4 ⁺ /CD8 ⁺	<i>n</i>	<i>M ± I₉₅</i>			<i>E ± I₉₅, %</i>		
		CD4 ⁺ , кл/мкл	CD8 ⁺ , кл/мкл	T _{акт} , кл/мкл	С-РБ, мг/л	T _{акт}	С-РБ
N/N Группа 1	20	900 ± 120	580 ± 80	270 ± 77	22,5 ± 13	90 ± 13	47 ± 26
↑/N Группа 2	21	1500 ± 180	600 ± 40	407 ± 148* ↑	10 ± 6	100	33 ± 22
↑/↑ Группа 3	10	1800 ± 320	1100 ± 80	560 ± 215* ↑	6,4 ± 3,8	100	10 ± 19
↑/↓ Группа 4	21	1400 ± 120	<u>250 ± 40* ↓</u>	200 ± 61	15,4 ± 13	76 ± 19	30 ± 20
N/↓ Группа 5	27	800 ± 40	<u>240 ± 20* ↓</u>	173 ± 49* ↓	4,5 ± 1,4	74 ± 17	23 ± 18
↓/↓ Группа 6	12	<u>450 ± 40* ↓</u>	<u>200 ± 40* ↓</u>	<u>94 ± 28* ↓</u>	5 ± 2,6	<u>33 ± 27* ↓</u>	8 ± 23

Жирным шрифтом отмечены значения показателей, превышающие норму, подчеркиванием — показатели ниже нормы.

* — достоверные различия (↑/↓ — увеличение/снижение) с соответствующим значением группы 1 (*p* < 0,05)

Таким образом, наши исследования подтвердили данные других авторов об изменении численности Т-клеток при старении и участии их в воспалительных процессах [1–6].

Кластерный анализ на уровне индивидуальных иммунограмм первичного скринингового обследования позволил нам выявить разнообразные комбинации изменений численности субпопуляций CD4⁺ и CD8⁺. Для дальнейшей статистической обработки были сформированы группы больных разного возраста с однотипными изменениями этих показателей: CD4⁺N/CD8⁺N, CD4⁺↑/CD8⁺N, CD4⁺↑/CD8⁺↑, CD4⁺↑/CD8⁺↓, CD4⁺N/CD8⁺↓ и CD4⁺↓/CD8⁺↓. Каждый из вариантов был отмечен во всех возрастных группах и, независимо от возраста,

характеризовался одинаковыми средними значениями входящих в комбинацию субпопуляций. Состояние активации было подтверждено наличием в кровотоке T_{акт}, в том числе в группе CD4⁺N/CD8⁺N.

Считаем, что эти изменения происходят в любом возрасте и отражают последовательные события процессов активации, гиперактивации, развития аутоиммунных реакций и формирования старческого иммунодефицита на фоне хронического воспаления, ассоциированного с сахарным диабетом 2 типа. Однако подтверждение этой гипотезы требует дополнительных долгосрочных наблюдений.

Иммуностарение характеризовалось снижением с возрастом доли лиц с признаками активации и увеличением

доли лиц с иммунодефицитом. Состояние иммунодефицита коррелировало с тяжестью заболевания СД 2 ($r = 0,6$). Выделенные этапы иммуностарения позволят в дальнейшем разработать стратегию персонализированного подхода к лечению лиц старших возрастных групп с СД 2 с учетом потенциальных возможностей иммунной системы отдельного пациента на определенном этапе его иммуностарения.

Выводы

1. Выделен комплекс, включающий варьирующие значения субпопуляций CD4⁺, CD8⁺ и T_{акт}⁺, и сформированы группы пациентов с однотипными характеристиками этого комплекса для дальнейшей статистической обработки.

2. Изменения составляющих комплекса отражали состояние активации (соответствующая норме или увеличенная численность CD4⁺ и/или CD8⁺ с выявлением в 90–100% случаев повышенного числа T_{акт}⁺) или иммунодефицита (снижение числа CD4⁺ и/или CD8⁺ и T_{акт}⁺).

3. Обозначенные однотипные изменения выявленных комплексов показателей отмечены во всех возрастных группах и имели одинаковые средние величины.

4. Возрастные изменения характеризовались снижением частоты выявления лиц с активированным состоянием иммунитета с 41% в возрасте 50–59 лет до 22% в группе старше 80 лет и увеличением доли лиц с вторичным иммунодефицитом с 43 до 75% в тех же возрастных группах.

Литература

1. Симонова А.В. Фенотип лимфоцитов крови при воспалительных заболеваниях человека. М.: Изд-во «ИНТО», 2001. 228 с.
2. Gebe J.A., Falk B., Unrath K., Nepom G.T. Autoreactive T cell in a partially humanized murine model of T1D // *Ann N Y Acad Sci.* 2007. №1103. P.69–76.
3. Larbi A., Fülöp T., Pawelec G. Immune receptor signaling, aging and autoimmunity // *Adv Exp Med Biol.* 2008. №640. P.312–324.
4. Гусев Е.Ю., Черешнев В.А., Журавлева Ю.А. и др. Варианты развития хронического системного воспаления // *Мед. иммунол.* 2009. Т.11. №2–3. С.131–140.

5. Lugli E., Troiano L., Pinti M. et al. Lymphocytes Sub-Types and function in centenarians as Models for Successful Ageing // *Handbook on Immunosenescence* / Ed. by T. Fulop et al. Berlin: Springer Science–Business Media B.V., 2009. P.29–62.
6. Howcroft T.K., Campisi Y., Louis G.B. et al. The role of inflammation in age-related disease // *Aging.* 2013. V.5 (1). P.84–93.
7. Miller R.A. Aging and immune function // *Int Rev Cytol.* 1999. V.124. P.187–215.
8. Бутенко Г.М. Старение иммунной системы // *Пробл. старен. и долголет.* 1998. Т.7. №3. С.251–258.
9. Асташкин Е.И. Изменение процессов сигнализации при старении Т-лимфоцитов человека // *Клин. геронтол.* 2003. Т.9. №3. С.18–26.
10. Ярилин А.А. Старение иммунной системы и тимус // *Клин. геронтол.* 2003. Т.9. №3. С.8–17.
11. Столпникова В.Н., Кочергина Н.И., Карпенко О.М., Мирошниченко И.В. Количественные изменения показателей иммунитета у долгожителей // *Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунол.* 2006. №6. С.50–53.
12. Gruver A.L., Hudson L.L., Sempowsky G.D. Immunosenescence of ageing // *J Pathol.* 2007. V.211 (2). P.144–156.
13. Caruso C., Buffa S., Candore G. et al. Mechanisms of immunosenescence // *Immun Ageing.* 2009. V.6. P.10–18.
14. Linton P.I., Dorshkind R. Age-related changes in development and function // *Nat Immunol.* 2004. №5. P.133–139.

Информация об авторах:

Левашова Татьяна Вячеславовна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории клинической возрастной иммунологии и аллергологии Российского геронтологического научно-клинического центра
Адрес: 129226, Москва, 1-я ул. Леонова, 16
Телефон: (499) 187-8652
E-mail: tvlevashova@gmail.com

Столпникова Вера Николаевна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории клинической возрастной иммунологии и аллергологии Российского геронтологического научно-клинического центра
Адрес: 129226, Москва, 1-я ул. Леонова, 16
Телефон: (499) 187-8652
E-mail: lab_immunol@mail.ru

Сорокина Елена Александровна, научный сотрудник лаборатории клинической возрастной иммунологии и аллергологии Российского геронтологического научно-клинического центра
Адрес: 129226, Москва, 1-я ул. Леонова, 16
Телефон: (499) 187-8652
E-mail: lab_immunol@mail.ru

Сбалансированная анестезия на основе ингаляции изофлюрана при реконструктивных операциях на сонных артериях

В.Х.Тимербаев¹, М.Г.Афонасьев¹, Е.В.Кислухина³, А.В.Макаревич², А.Н.Бондаренко², И.П.Михайлов²

¹Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В.Склифосовского, отделение анестезиологии и реанимации № 1, Москва (зав. отделением — проф. В.Х.Тимербаев);

²Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В.Склифосовского, отделение неотложной сосудистой хирургии, Москва (зав. отделением — проф. И.П.Михайлов);

³Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В.Склифосовского, лаборатория автоматизированной системы управления лечебно-диагностическим процессом, Москва (зав. лабораторией — к.ф.-м.н. В.А.Васильев)

Цель исследования — изучить влияние ингаляции изофлюрана на гемодинамику, мозговой кровотока и кислородный баланс головного мозга больных при каротидной эндартерэктомии. Были обследованы 26 больных. Определяли параметры центральной и системной гемодинамики, скорость кровотока по средней мозговой артерии на участке M₁, результаты транскраниальной церебральной оксиметрии. Начальные этапы операции, этап временного прекращения кровообращения в бассейне пораженной сонной артерии сопровождались умеренным снижением показателей гемодинамики. При возобновлении кровотока реперфузия головного мозга проявлялась умеренно. Анестезия с применением изофлюрана в концентрации до 1 МАК (минимальная альвеолярная концентрация) в сочетании с фентанилом позволяет поддерживать адекватное обезболивание, стабильную гемодинамику и своевременное пробуждение у пациентов во время каротидной эндартерэктомии.

Ключевые слова: изофлюран, каротидная эндартерэктомия, гемодинамика, реперфузия, церебральная оксиметрия

Balanced Anesthesia Based on Isoflurane Inhalation in Reconstructive Operations on the Carotid Arteries

V.Kh.Timerbaev¹, M.G.Afonasyev¹, E.V.Kislukhina³, A.V.Makarevich², A.N.Bondarenko², I.P.Mikhaylov²

¹N.V.Sklifosovsky Research Institute of Emergency Medicine, Department of Anesthesiology and Resuscitation № 1, Moscow (Head of the Department — Prof. V.Kh.Timerbaev);

²N.V.Sklifosovsky Research Institute of Emergency Medicine, Department of Vascular Surgery, Moscow (Head of the Department — Prof. I.P.Mikhaylov);

³N.V.Sklifosovsky Research Institute of Emergency Medicine, Laboratory of Automated Control System for Treatment and Diagnostic Process, Moscow (Head of the Laboratory — CandPhys-MathSci V.A.Vasiliev)

The aim of the research was to examine the influence of isoflurane inhalation on the circulatory dynamics, encephalic bloodstream and oxygen balance of the patients' brain during the carotid endarterectomy. 26 patients were examined. There were detected the parameters of central and systemic circulatory dynamics, the speed of the bloodstream in the middle encephalic artery in M₁ sector, the results of transcranial cerebral oxymetry. The first stages of the operation, the stage of temporary breakoff of the blood circulation in damaged artery territory were accompanied with moderate lowering of indicators of circulatory dynamics. In the process of reinitiation of the bloodstream the reperfusion of brain declared itself moderately. Isoflurane anesthesia to 1 MAK (minimum alveolar concentration) in combination with phentanyl allows to maintain appropriate pain management, stable circulatory dynamics and well-timed awakening of patients during carotid endarterectomy.

Key words: isoflurane, carotid endarterectomy, circulatory dynamics, reperfusion, cerebral oxymetry

Для корреспонденции:

Тимербаев Владимир Хамидович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий научным отделением анестезиологии Научно-исследовательского института скорой помощи им. Н.В.Склифосовского

Адрес: 129010, Москва, Б.Сухаревская пл., 3

Телефон: (495) 621-7430

E-mail: timerbaev56@inbox.ru

Статья поступила 04.02.2014, принята к печати 20.02.2014

На сегодняшний день в мире около 9 млн человек страдают цереброваскулярными болезнями. Основное место среди них занимают инсульты, каждый год поражающие от 5,6 до 6,6 млн человек [1]. По данным ВОЗ, 85% всей цереброваскулярной патологии приходится на ишемические поражения головного мозга [2].

По данным различных авторов, причиной развития ишемического мозгового инсульта от 30–40% [3] до 80–90% [4] случаев является атеросклероз брахиоцефальных сосудов. Большое значение имеет вторичная профилактика нарушений мозгового кровообращения и лечение хронической ишемии головного мозга [5]. Хирургическая коррекция стеноза сонных артерий является одним из самых радикальных средств профилактики мозгового инсульта [6, 7]. По данным Европейского объединенного исследования хирургии сонных артерий (ECSTCG), частота инсультов у больных, которым выполнена каротидная эндартерэктомия, составила 2,8%, в то время как в сопоставимой группе пациентов, леченных медикаментозно, — 16,8% [8].

Клиническими отечественными и зарубежными исследованиями доказано, что на частоту интра- и послеоперационных осложнений при выполнении каротидной эндартерэктомии влияет стабильность показателей системной гемодинамики на всех этапах анестезии и операции, особенно в период индукции и пробуждения [9].

Кроме того, доказано, что большую роль в результатах хирургического вмешательства играет характер изменений мозгового кровотока во время и после манипуляций на сонных артериях. Во время таких манипуляций чередуются ишемия и резкое возобновление кровотока, которые, в свою очередь, провоцируют резкое повышение потребности головного мозга в кислороде и реперфузионное повреждение головного мозга [10, 11].

В этой связи при каротидной эндартерэктомии необходим поиск перспективных путей снижения числа интраоперационных осложнений и совершенствование анестезиологического пособия, которое должно обеспечить оптимальную центральную гемодинамику, мозговой кровотока, адекватную потребность головного мозга в кислороде, а также не должно нарушать ауторегуляцию мозгового кровотока. Одним из современных средств, предназначенных для ингаляционной анестезии и отвечающих данным требованиям, является изофлюран.

Несмотря на ранее проводимые исследования, в доступной отечественной и зарубежной литературе мы не обнаружили данных, освещающих комплексное воздействие изофлюрана на системную и регионарную церебральную гемодинамику, кислородный баланс мозга при оперативных вмешательствах на сонных артериях.

Цель настоящего исследования — изучить влияние ингаляции изофлюрана в составе сбалансированной анестезии на гемодинамику, мозговой кровотока и кислородный баланс головного мозга больных при реконструктивных операциях на сонных артериях.

Пациенты и методы

Течение анестезии исследовали у 26 больных — 19 (73%) мужчин и 7 (27%) женщин. Средний возраст пациентов составил $63 \pm 1,2$ года. Показанием к хирургическому лечению патологии внутренней сонной артерии послужили транзиторные ишемические атаки у 4 (15,4%) больных, хроническая ишемия головного мозга — у 22 (84,6%) человек. В анамнезе у всех больных отмечали ги-

пертоническую болезнь с высокими величинами артериального давления, ишемическую болезнь сердца — у 23 (88,5%) человек, из них с постинфарктным кардиосклерозом — у 3 (13,1%), со стабильной стенокардией — у 5 (21,7%), с нарушениями сердечного ритма — у 4 (17,4%). Сахарным диабетом 2 типа страдали 3 (11,5%) пациента, у одного больного была хроническая обструктивная болезнь легких.

При обследовании односторонний стеноз сонных артерий выявили у 3 (11,5%) больных. По данным доплерографии, степень стеноза у этих пациентов не превышала 60%. Двусторонний стеноз обнаружили у 16 (61,5%) пациентов. При обследовании сужение сонной артерии на стороне предполагаемой операции у них составляло от 60 до 70% просвета сосуда, а на противоположной стороне — от 40 до 50%. Стеноз и окклюзию сонных артерий диагностировали у 7 (27%) обследованных, при этом степень стеноза достигала 70–80%.

Учитывая гетерогенность атеросклеротических бляшек и риск развития острого нарушения мозгового кровообращения, от проведения пробы Матаса было решено воздержаться. Именно поэтому до операции кровотока по виллизиеву кругу не оценивался. Были выполнены следующие операции: эндартерэктомия из внутренней сонной артерии — у 23 (88,5%) больных, эндартерэктомия с реддрессацией внутренней сонной артерии — у 3 (11,5%) пациентов.

Параметры системной гемодинамики (ЧСС, АД) контролировали в динамике с помощью анестезиологического монитора «Infinity Draeger» (Германия). Сердечный индекс (СИ) измеряли инвазивным способом с помощью монитора «Vigileo FloTrac» (Edwards Lifesciences Corporation, USA). Скорость кровотока (СК) по средней мозговой артерии на участке M_1 определяли методом доплерографии прибором «Сономед 300» (Спектромед, РФ). Кислородный баланс головного мозга в динамике оценивали методом церебральной оксиметрии (ЦОМ), используя монитор «INVOS Cerebral Oximetr» (Somanetics, USA).

Схема анестезии. Все операции выполнялись под комбинированным эндотрахеальным наркозом. Премедикация включала промедол (20 мг), который вводился внутримышечно за 30–60 мин до операции в отделении сосудистой хирургии. После поступления в операционную больным проводилась преинфузия кристаллоидами в объеме 520 ± 55 мл.

Индукцию анестезии проводили внутривенным болюсным введением пропофола в дозе 100–150 мг, а также болюсным введением фентанила (200–300 мкг). Трахею интубировали после введения эсмерона в дозе $0,54 \pm 0,03$ мг/кг. Анестезию поддерживали ингаляцией изофлюрана в дозе до 1 об. %. Искусственную вентиляцию легких проводили газовой смесью с содержанием кислорода 40–45% в режиме нормовентиляции аппаратом «Draeger Primus» (Draeger, Германия). После завершения операции подачу изофлюрана прекращали. При восстановлении спонтанного дыхания и сознания больных экстубировали на операционном столе и продолжали ингаляцию кислорода со скоростью 4–6 л/мин.

Всех больных переводили в палату послеоперационной интенсивной терапии для наблюдения в течение первых послеоперационных суток.

Учитывая различные механизмы регуляции, мозговой кровотока, кислородный баланс мозга и системную гемодинамику изучали на следующих этапах: до операции (I), после индукции анестезии (II), после интубации трахеи (III), при выделении сонной артерии (IV), после пережатия сонной артерии (V), перед пуском кровотока (VI), после пуска кровотока (VII) и после завершения операции (VIII).

Статистическую обработку материала осуществляли в лаборатории автоматизированной системы управления лечебно-диагностическим процессом НИИ СП им. Н.В.Склифосовского с помощью программы для статистических расчетов «Statistica 6.0». Вычисляли среднее значение (M), стандартное отклонение (σ), ошибку средней величины (m). Для сравнения значений внутри группы использовали критерий Вилкоксона, для сравнения двух групп — критерий Манна–Уитни. Различия признавали достоверными при вероятности $p < 0,05$. Зависимости между анализируемыми показателями оценивали с помощью коэффициента Пирсона r , признавая выявляемые связи достоверными при вероятности $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

После поступления в операционную у больных в начале мониторинга регистрировались показатели гемодинамики, характерные для выраженной гипердинамической реакции системы кровообращения, что было обусловлено психоэмоциональным напряжением и сопутствующей гипертонической болезнью (таблица): ЧСС составила 88 ± 17 мин⁻¹, среднее артериальное давление (AD_{cp}) — 130 ± 18 мм рт.ст., СИ — $6,9 \pm 2,4$ л/(мин×м²). СК по средней мозговой артерии на стороне поражения составляла $58 \pm 12,3$ см/с, а показатель ЦОМ был $68 \pm 6,6\%$. Было отмечено, что у больных, находящихся в сознании, СК в средней мозговой артерии и показатель ЦОМ не зависели от показателей гемодинамики.

Выключение сознания происходило быстро на фоне болюсного введения пропофола и фентанила. Введение в анестезию сопровождалось статистически значимым

снижением диастолического артериального давления (ДАД) — до 87 ± 15 мм рт.ст. и AD_{cp} — до 110 ± 17 мм рт.ст. ($p < 0,05$). Показатель СК умеренно снизился ($p < 0,05$), а ЦОМ незначимо увеличился до $70 \pm 8,4\%$ (таблица). Следовательно, индукция при помощи внутривенного введения пропофола и фентанила не сопровождалась существенным угнетением системной и центральной гемодинамики — наиболее частых факторов, провоцирующих ишемию и повреждение головного мозга при операциях на сонных артериях [12]. Более того, на фоне стабильных показателей мозгового кровотока отмечалось небольшое и статистически незначимое увеличение показателя ЦОМ.

Интубация трахеи — один из опасных этапов анестезиологического пособия при вмешательстве на сонных артериях, так как она может сопровождаться значительными изменениями системной гемодинамики (тахикардией, нарушениями ритма сердца, гипертонией), ухудшающими кровоснабжение головного мозга. Интубация трахеи проводилась нами через 95 ± 21 с после введения эсмерона. Из всех исследованных параметров гемодинамики после интубации трахеи статистически значимо, но не существенно увеличились ДАД и AD_{cp} . СК на средней мозговой артерии не изменилась, а показатели ЦОМ продолжили тенденцию к увеличению, т.е. интубация трахеи далее не вызывала нежелательных реакций — высокой артериальной гипертонии и тахикардии.

Разрез кожи и выделение сонных артерий также не сопровождалось гемодинамическими реакциями: ЧСС равнялась 94 ± 36 мин⁻¹, AD_{cp} — 120 ± 16 мм рт.ст., СИ значимо снизился до нормальных значений — $3,9 \pm 1,6$ л/(мин×м²), СК оставалась стабильной, но манипуляции с сонными артериями привели к умеренному значимому снижению показателя ЦОМ до $67 \pm 7,6\%$.

С целью изучения влияния целевой концентрации изофлюрана на системную, церебральную гемодинамику и кислородный баланс мозга больных на начальных этапах операции в условиях еще сохраняющейся недостаточности кровоснабжения головного мозга мы объединили этапы III и IV в единое наблюдение. Анализ показал, что в период операции до выключения кровотока по оперируемой сонной артерии концентрация изофлюрана в выдыхаемой газовой смеси не оказывала существенного

Таблица. Интраоперационные изменения гемодинамики, ЦОМ и СК ($M \pm m$, $n = 26$)

Этапы исследования	Концентрация изофлюрана, об. %	ЧСС, мин ⁻¹	САД, мм рт.ст.	ДАД, мм рт.ст.	AD_{cp} , мм рт.ст.	СИ, л/(мин×м ²)	ЦОМ, %	СК, см/с
I	0	88 ± 17	189 ± 31	97 ± 14	130 ± 18	$6,9 \pm 2,4$	$68,0 \pm 6,6$	58 ± 12
II	0	85 ± 19	152 ± 25	$87 \pm 15^*$	$110 \pm 17^*$	$6,6 \pm 2,6$	$70,0 \pm 8,4$	$55 \pm 14^*$
III	$0,40 \pm 0,20$	94 ± 33	$160 \pm 29^*$	$96 \pm 18^{\#}$	$119 \pm 21^{\#\#}$	$6,1 \pm 2,5$	$72,0 \pm 8,9^{\#\#}$	56 ± 15
IV	$0,68 \pm 0,30$	94 ± 36	$154 \pm 22^*$	99 ± 15	$120 \pm 16^*$	$3,9 \pm 1,6^{\#\#}$	$67,0 \pm 7,6^{\#}$	54 ± 16
V	$0,73 \pm 0,25$	97 ± 39	$152 \pm 26^*$	96 ± 19	$113 \pm 20^*$	$3,4 \pm 0,9^*$	$60,0 \pm 6,9^{\#\#}$	$46 \pm 17^{\#\#}$
VI	$0,63 \pm 0,20$	$91 \pm 33^{\#}$	$149 \pm 20^*$	91 ± 13	$108 \pm 15^*$	$3,3 \pm 0,9^*$	$58,0 \pm 8,6^{\#\#}$	$48 \pm 15^*$
VII	$0,63 \pm 0,20$	94 ± 38	$146 \pm 15^*$	91 ± 13	$107 \pm 13^*$	$3,1 \pm 1,0^*$	$65,0 \pm 9,5^{\#}$	$56 \pm 23^{\#}$
VIII	$0,63 \pm 0,20$	91 ± 32	$151 \pm 24^*$	92 ± 16	$108 \pm 19^*$	$3,1 \pm 0,7^*$	$65,0 \pm 7,8$	55 ± 12

* — $p < 0,05$ по сравнению с первым этапом; # — $p < 0,05$ по сравнению с предыдущим этапом

влияния на показатели системной гемодинамики больных, СК и показатели ЦОМ. Мы выявили также, что на величину показателей СК и ЦОМ не влияли параметры системной гемодинамики.

Следовательно, на начальных этапах операции применение изофлюрана в концентрации не более 1 МАК (минимальная альвеолярная концентрация) в сочетании с фентанилом сопровождалось умеренным снижением показателей гемодинамики. Стабильными оставались также скорость кровотока в средней мозговой артерии на стороне поражения и показатель ЦОМ. Таким образом, в условиях анестезии с применением изофлюрана в концентрации до 1 МАК сохраняются механизмы ауторегуляции кровоснабжения головного мозга [13].

Основную опасность для пациента во время операций на сонных артериях представляет ишемическое и затем, возможно, реперфузионное повреждение головного мозга [14, 15]. Поэтому мы отдельно выделили еще 3 этапа — непосредственно после пережатия сонной артерии, перед пуском кровотока после периода длительной ишемии и после пуска кровотока. На этапе временного прекращения кровообращения в бассейне пораженной сонной артерии показатели системной гемодинамики больных изменялись в незначительной степени и статистически незначимо (таблица). Было отмечено снижение СК на стороне операции до 46 ± 17 см/с и показателей ЦОМ до $60 \pm 6,9\%$ (по сравнению с исходными данными и предыдущим этапом $p < 0,05$). Однако абсолютные значения исследуемых параметров не были критическими, что позволило хирургам не использовать в период прекращения кровотока по сонным артериям временное шунтирование.

Продолжительность манипуляций на сонных артериях составляла $25,5 \pm 6,5$ мин (13–52 мин). Непосредственно перед окончанием сосудистого этапа операции и пуском кровотока у больных сохранялись стабильные показатели гемодинамики: ЧСС — 91 ± 33 мин⁻¹, АД_{ср} — 108 ± 15 мм рт.ст., СИ — $3,3 \pm 0,9$ л/(мин×м²). СК оставалась сниженной до 48 ± 15 см/с, как и показатели ЦОМ — до $58 \pm 8,6\%$ ($p < 0,05$ по сравнению с исходными данными).

В период выключения кровотока в сонных артериях мы обнаружили прямую и достаточно выраженную зависимость между концентрацией изофлюрана в выдыхаемой газовой смеси и ЧСС ($0,609$ при $p < 0,05$). Концентрация изофлюрана не влияла на показатели скорости мозгового кровотока и ЦОМ. СК по среднему мозговой артерии и ЦОМ не зависели от показателей гемодинамики.

Таким образом, несмотря на неблагоприятные технологические аспекты операции (прекращение кровотока, ишемия, механическое воздействие на рефлексогенные зоны), при анестезии с применением изофлюрана в концентрации до 1 МАК в сочетании с фентанилом показатели гемодинамики оставались стабильными. Скорость мозгового кровотока на стороне вмешательства была умеренно сниженной и не зависела от показателей системной гемодинамики и, в свою очередь, не влияла на кислородный баланс головного мозга заинтересованной стороны.

После возобновления кровотока по сонной артерии (этап VII) показатели системной гемодинамики изменились незначительно: ЧСС — 94 ± 38 мин⁻¹, АД_{ср} — 107 ± 13 мм рт.ст.,

СИ — $3,1 \pm 1,0$ л/(мин×м²). СК на среднемозговой артерии значимо увеличилась до 56 ± 23 см/с ($p < 0,05$ по сравнению с предыдущим этапом). Показатели ЦОМ значимо увеличились до $65 \pm 9,5\%$.

На данном этапе мы также не выявили взаимосвязи между концентрацией изофлюрана в выдыхаемой газовой смеси больными и показателями гемодинамики, СК и ЦОМ. Скорость кровотока на среднемозговой артерии имела обратную зависимость от АД_{ср} ($-0,437$ при $p < 0,05$). Кислородный баланс мозга (ЦОМ) не зависел от показателей гемодинамики и СК.

Полученные результаты подтверждают, что при возобновлении кровотока по реконструированной сонной артерии в условиях анестезии с применением изофлюрана реперфузия головного мозга проявляется умеренно, так как механизмы ауторегуляции кровоснабжения головного мозга на этом этапе остаются сохранными.

В период завершения операции подачу изофлюрана прекращали с наложением последних кожных швов (этап VIII). Сознание и двигательная активность пациентов восстанавливались через $14,9 \pm 5,6$ мин. Этому периоду не сопутствовали серьезные изменения гемодинамики (см. таблицу). Показатели ЦОМ и СК также существенно не отличались от предыдущего этапа и исходных данных. На этапе завершения операции линейная скорость кровотока в среднемозговой артерии по-прежнему не зависела от показателей системной гемодинамики. Кислородный баланс мозга также не зависел от гемодинамических показателей. Течение послеоперационного периода у больных было гладкое, осложнений отмечено не было.

Выводы

1. Анестезия с применением изофлюрана в концентрации до 1 МАК в сочетании с фентанилом позволяет поддерживать адекватное обезболивание, стабильную гемодинамику и своевременное пробуждение у пациентов во время реконструктивных операций на сонных артериях.
2. В период выключения кровотока в реконструируемой сонной артерии при анестезии с применением изофлюрана гемодинамика остается стабильной, мозговой кровотока находится в рамках ауторегуляции и линейная скорость кровотока на стороне вмешательства не зависит от показателей системной гемодинамики.
3. При возобновлении кровотока по реконструированной сонной артерии в условиях анестезии с применением изофлюрана реперфузия головного мозга проявляется умеренно, так как механизмы ауторегуляции кровоснабжения головного мозга на этом этапе остаются сохранными.

Литература

1. Гусев Е.И., Скворцова В.И., Киликовский В.В. и др. Проблема инсульта в Российской Федерации // Кач. жизни. Медицина. 2006. №2 (13). С.10–14.
2. Calligaro K.D., Dougherty M.J. Correlation of carotid artery stump pressure and neurologic changes during 474 carotid endarterectomies performed in awake patients // J Vase Surg. 2005. V.42 (4). P.684–689.

3. Erickson K.M., Cole D.J. Review of developments in anesthesia for carotid endarterectomy // *Curr Opin Anaesthesiol.* 2005. V.18 (5). P.466–470.
4. Rothwell P.M., Eliasziw M., Gutnikov S.A. et al. Analysis of pooled data from randomized controlled trials of endarterectomy for symptomatic carotid stenosis // *Lancet.* 2003. V.361 (9352). P.107–116.
5. Barnett H.J., Meldrum H.E., Eliasziw M. The appropriate use of carotid endarterectomy // *CMAJ.* 2002. V.166 (9). P.1169–1179.
6. Скворцова В.И., Леменов В.Л., Ахметов В.В. и др. Эффективность хирургических и консервативных методов вторичной профилактики каротидного ишемического инсульта // *Журн. неврол. и психиатр.* 2005. Прил.: Инсульт. Вып.13. С.3–7.
7. Nguyen L.L., Conte M.S., Reed A.B. et al. Carotid endarterectomy: who is the high-risk patient? // *Semin Vasc Surg.* 2004. V.17 (3). P.219–223.
8. Покровский А.В., Кияшко В.А. Ишемический инсульт можно предупредить // *РМЖ.* 2003. №12. С.7–10.
9. Гольдина И.М., Шамшилин А.А., Никулин Б.И. Транскраниальная доплерография в режиме мониторинга в оценке толерантности головного мозга к ишемии при проведении каротидной эндартерэктомии // *Бюлл. НЦССХ им. А.Н.Бакулева РАМН: Материалы 10-й сессии. М., 2006. Т.7. №3. С.198.*
10. Komoribayashi N., Ogasawara K., Kobayashi M. et al. Cerebral hyperperfusion after carotid endarterectomy is associated with preoperative hemodynamic impairment and intraoperative cerebral ischemia // *J Cereb Blood Flow Metab.* 2006. V.26 (7). P.878–884.
11. Melgar M.A., Mariwalla N., Madhusudan H. et al. Carotid endarterectomy without shunt: the role of cerebral metabolic protection // *Neurol Res.* 2005. V.27 (8). P.850–856.
12. Van Mook W.N., Rennenberg R.J., Schurink G.W. et al. Cerebral hyperperfusion syndrome // *Lancet Neurol.* 2005. V.4 (12). P.877–888.
13. Морган-мл. Дж.Э., Михаил Мэгид С. Клиническая анестезиология: В 3 кн. Кн. 2 / Пер. с англ. М.–СПб.: БИНОМ, 2013. 296 с.
14. Telman G., Kouperberg E., Nitecki S. et al. Cerebral hemodynamics in symptomatic and asymptomatic patients with severe unilateral carotid stenosis before and after carotid endarterectomy // *Eur J Vasc Endovasc Surg.* 2006. V.32 (4). P.375–378.
15. Vanninen E., Kuikka J.T., Aikiä M. et al. Heterogeneity of cerebral blood flow in symptomatic patients undergoing carotid endarterectomy // *Nucl Med Commun.* 2003. V.24 (8). P.893–900.

Информация об авторах:

Афонасьев Михаил Георгиевич, врач отделения анестезиологии и реанимации № 1 Научно-исследовательского института скорой помощи им. Н.В.Склифосовского
Адрес: 129010, Москва, Б.Сухаревская пл., 3
Телефон: (495) 625-8018
E-mail: iafona@mail.ru

Кислухина Евгения Викторовна, научный сотрудник лаборатории автоматизированной системы управления лечебно-диагностическим процессом Научно-исследовательского института скорой помощи им. Н.В.Склифосовского
Адрес: 129010, Москва, Б.Сухаревская пл., 3
Телефон: (495) 621-1986
E-mail: kislusha@mail.ru

Макаревич Александр Викторович, врач отделения неотложной сосудистой хирургии Научно-исследовательского института скорой помощи им. Н.В.Склифосовского
Адрес: 129010, Москва, Б.Сухаревская пл., 3
Телефон: (495) 620-1244
E-mail: av.makar.@lenta.RU

Бондаренко Александр Николаевич, младший научный сотрудник отделения неотложной сосудистой хирургии Научно-исследовательского института скорой помощи им. Н.В.Склифосовского
Адрес: 129010, Москва, Б.Сухаревская пл., 3
Телефон: (495) 620-1244
E-mail: bondshaman@mail.ru

Михайлов Игорь Петрович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий научным отделением неотложной сосудистой хирургии Научно-исследовательского института скорой помощи им. Н.В.Склифосовского
Адрес: 129010, Москва, Б.Сухаревская пл., 3
Телефон: (495) 625-3626
E-mail: dr-mip@rambler.ru

Прогнозирование исходов переломов дистального метаэпифиза лучевой кости с помощью оценки критериев нестабильности

С.Н.Измалков¹, О.М.Семенкин^{1,2}, С.А.Нефедов³

¹Самарский государственный медицинский университет, кафедра травматологии, ортопедии и поликлинической хирургии Института последипломного образования (зав. кафедрой — проф. С.Н.Измалков);

²Областная клиническая больница им. М.И.Калинина, Самара (главный врач — Д.Н.Купцов);

³Самарский государственный университет, кафедра физики твердого тела и неравновесных систем (зав. кафедрой — проф. А.В.Покоев)

Цель исследования — создание эффективной системы диагностики и лечения пациентов с переломами дистального метаэпифиза лучевой кости для достижения максимально быстрого и полного восстановления функции поврежденной верхней конечности. Работа имеет клинично-рентгенологический характер и основана на изучении влияния 7 известных и 2 вновь предложенных критериев нестабильности перелома на клинично-рентгенометрические показатели кистевого сустава при неправильном сращении дистального метаэпифиза лучевой кости у 129 пациентов. Разработан диагностический алгоритм, который учитывает критерии нестабильности (в различной степени влияющие на клинично-рентгенометрические показатели кистевого сустава) и позволяет определить оптимальную тактику лечения пациентов данного профиля.

Ключевые слова: перелом лучевой кости, критерии нестабильности, клинично-рентгенометрические параметры

Forecasting of Outcomes of Distal Radius Meta-Epiphysis Fractures by Means of Instability Criteria Estimation

S.N.Izmalkov¹, O.M.Semenkin^{1,2}, S.A.Nefedov³

¹Samara State Medical University, Department of Traumatology, Orthopaedics and Outpatient Surgery, Institute of Postgraduate Education (Head of the Department — Prof. S.N.Izmalkov);

²Regional Clinical Hospital named after M.I.Kalinin, Samara (Chief Doctor — D.N.Kuptsov);

³Samara State University, Department of Solid-State Physics and Non-Equilibrium Systems (Head of the Department — Prof. A.V.Pokoev)

The purpose of the research is to create the effective system of diagnosis and treatment of patients with distal radius meta-epiphysis fractures to achieve as quick and complete recovery of functions of a damaged upper limb as possible. The research is of clinical and radiological character and is based on the study of the influence of 7 known and 2 newly suggested instability criteria of the fracture on clinical and X-ray parameters of the wrist with improperly fused distal radius meta-epiphysis fractures of 129 patients. There has been developed a diagnostic algorithm that takes into account the instability criteria (with varying degrees of influence on clinical and X-ray parameters of the wrist joint) and allows to determine the optimal treatment of patients of this profile.

Key words: distal radius fracture, instability criteria, clinical and X-ray parameters

Разнообразие типов переломов дистального метаэпифиза лучевой кости (ДМЛК), приведенных в раз-

личных классификациях, порой затрудняет выбор оптимальной тактики лечения, что может негативно повлиять на исходы [1, 2]. Учет описанных в литературе критериев нестабильности (КН) [3–6] позволяет более объективно оценивать характер перелома ДМЛК и прогнозировать возможный функциональный результат. Тем не менее в повседневной практике эти критерии часто остаются нераспознанными или их не учитывают при первичном обращении пострадавшего. В результате врач определяет неверную тактику лечения, заключающуюся в длитель-

Для корреспонденции:

Семенкин Олег Михайлович, кандидат медицинских наук, доцент кафедры травматологии, ортопедии и поликлинической хирургии Самарского государственного медицинского университета

Адрес: 443095, Самара, ул. Ташкентская, 159

Телефон: (846) 956-3522

E-mail: olegsemenkin@yandex.ru

Статья поступила 20.11.2013, принята к печати 20.02.2014

ной иммобилизации кистевого сустава в положении, далеком от физиологического. Кроме того, в доступной литературе не отражена диагностическая ценность каждого из известных критериев, не выявлены наиболее значимые из них. Не представлены научно обоснованные доказательства того, что игнорирование наиболее информативных КН перелома ДМЛК неизбежно приводит к неправильному сращению и неудовлетворительному исходу лечения.

Цель исследования — разработать, всесторонне обосновать и внедрить в повседневную практику оптимальный алгоритм лечения пострадавших с нестабильными переломами ДМЛК, а также повысить достоверность прогнозирования течения этого вида повреждений на основе изучения степени влияния каждого из известных КН на структурно-функциональное состояние кисти и кистевого сустава.

Пациенты и методы

Были проанализированы результаты комплексного обследования 129 пациентов (90 женщин и 39 мужчин) в возрасте от 15 до 75 лет, оперированных по поводу неправильно сросшихся переломов ДМЛК в период с апреля 2001 г. по ноябрь 2012 г. включительно. Средние сроки после травмы составили $13,20 \pm 2,21$ нед (от 4,8 до 96). Переломы типа «А» (по классификации АО/ASIF) встречались в 77 (59,7%) случаях, «В» — в 8 (6,2%) и «С» — в 44 (34,1%).

Из всех известных по данным специальной литературы КН мы сочли наиболее значимыми следующие семь:

1. разможнение тыльного кортикального слоя (в области метафиза);
2. тыльное смещение суставной поверхности ДМЛК более 20° ;
3. первоначальное смещение фрагментов по длине на 1 см и более;
4. внутрисуставной характер перелома (типы «В» и «С»);
5. наличие сопутствующего перелома шиловидного отростка локтевой кости;
6. остаточное (после выполнения закрытой репозиции) укорочение лучевой кости на 5 мм и более;
7. внутрисуставное смещение отломков более 2 мм.

Кроме того, в процесс сравнительного анализа были включены 2 КН, ранее описанные нами [7], а именно:

8. наличие линии излома, составляющей 25° и более с перпендикулярной осью лучевой кости в переднезадней проекции;
9. отсутствие сопоставления после репозиции ладонной кортикальной пластинки проксимального и дистального фрагментов лучевой кости в сагиттальной проекции.

Для комплексной оценки структурно-функционального состояния кисти и кистевого сустава как отдельной единицы опорно-двигательной системы мы рассчитывали следующие 6 рентгенометрических и клинических показателей: лучелоктевой угол (ЛЛУ, $^\circ$); ладонную инклинацию (ЛИ, $^\circ$); лучелоктевой индекс (ЛЛИ, мм); лучевое смещение дистального фрагмента (ЛС, мм); общий объ-

ем движений в кистевом суставе (ООД, %) и силу захвата кисти (СЗК, %). Подсчитывали частоту встречаемости каждого из вышеперечисленных КН, а также оценивали степень их влияния на значения изучаемых клинико-рентгенометрических показателей (КРП) кисти и кистевого сустава.

С целью оценки влияния каждого из КН на КРП была применена методика проверки статистических гипотез. Для каждого из 9 КН были выбраны два массива данных: 1) значения КРП в отсутствие КН; 2) значения КРП при наличии КН.

Проверяли статистическую гипотезу «Среднее значение КРП одинаково как при отсутствии КН, так и при его наличии». В случае если гипотеза оказывалась состоятельной, считали, что влияние данного КН на данный КРП отсутствует. Если гипотезу отвергали, делали вывод о наличии влияния КН на КРП [8].

Всего было проведено 54 проверки гипотез (9 КН \times 6 КРП). Предполагали, что обе выборки нормализованы (по закону больших чисел), поскольку при генеральной совокупности в 129 испытаний численность каждой выборки (n_1 и n_2) оказалась больше 30. Принимали, что дисперсии каждой из двух генеральных совокупностей (54 пары дисперсий) неизвестны и неравны, поэтому учитывали выборочные дисперсии s_1 и s_2 , а расчет статистики для сравнения проводили в соответствии с выражением:

$$t = \frac{\bar{X} - \bar{Y}}{\sqrt{\frac{n_1 s_x^2 + n_2 s_y^2}{n_1 + n_2} \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right)}}$$

где множество X — значения признака в отсутствие критерия, множество Y — значения признака при наличии критерия. Поскольку конкурирующей гипотезой было неравенство средних значений X и Y , выбирали двустороннюю критическую область. Брали функцию $\theta(t, k) = 1 - \alpha = 0,95$ для распределения Стьюдента. Выбирали число степеней свободы 127 (129 обследований — 2), уровень значимости для проверки гипотезы выбирали $\alpha = 0,05 = 5\%$. Таким образом, критическая статистика оказалась равна $t_{кр} = 1,96$. При $|t| < t_{кр}$ делали вывод о состоятельности гипотезы — влияния критерия на признак нет, в противном случае гипотезу отвергали, что означало наличие влияния КН на величину КРП.

Результаты исследования и их обсуждение

Из всех рассматриваемых КН переломов ДМЛК наиболее часто (в 74,4% случаев) наблюдали КН № 9 — отсутствие сопоставления ладонной кортикальной пластинки проксимального и дистального отломков после выполнения закрытой ручной репозиции. Несмотря на выполненную первичную закрытую репозицию, именно этот признак наиболее часто встречали при неправильном сращении с укорочением лучевой кости (ЛЛИ = 5,23 мм), смещением отломков в сагиттальной плоскости (ЛС = 2,88 мм)

и уменьшением объема движений в кистевом суставе (ООД = 47,38%).

В 72,9% случаев обнаружили КН № 1 — разможнение тыльного кортикального слоя в области метафиза. Однако несмотря на высокую частоту его определения, по результатам подсчетов, значимого влияния ни на один КРП он не оказывал.

У 70,7% обследованных больных имел место КН № 2 — смещение ладонного наклона суставной поверхности более 20° в тыльную сторону, который оказывал значимое влияние на КРП «ладонная инклинация» (ЛИ = -12,65°).

У 59,4% пациентов диагностировали еще один описанный в литературе КН № 5 — перелом шиловидного отростка локтевой кости, который не вызвал значимого влияния ни на один КРП в данном исследовании.

Среди всех обследованных больных один из предложенных нами критериев нестабильности (КН № 8) — наличие линии излома, составляющей 25° и более с перпендикулярной осью лучевой кости в переднезадней проекции — был выявлен у 55 пострадавших (41,4%). При этом обнаружено значимое влияние этого КН на показатель смещения (ЛС = 4,63 мм).

В 39,9% случаев наблюдали КН № 4 — внутрисуставной перелом, который оказывал значимое влияние на величину лучелоктевого индекса (ЛЛИ = 5,43 мм) и величину смещения отломков во фронтальной плоскости, причем в отсутствие КН показатель ЛС был больше (2,98 мм), чем при его наличии (2,12 мм).

Два из КН, а именно КН № 3 и КН № 6, встречались с одинаковой частотой — в 32,3% случаев. Однако количество КРП, на которые они оказали влияние, варьировало. КН № 3 — первоначальное смещение фрагментов по длине на 1 см и более — значимо влиял на 5 из изучаемых КРП: ЛЛУ (8,07°), ЛЛИ (6,21 мм), ЛС (3,37 мм), ООД (43,72%) и СЗК (21,6%). Критерий нестабильности № 6 — остаточное укорочение лучевой кости более 5 мм (после закрытой репозиции) — оказывал влияние на 4 показателя: ЛЛУ (9,08°), ЛЛИ (6,88 мм), ЛС (3,83 мм) и ООД (44,31%).

На последнем месте по частоте встречаемости (28,6% случаев) оказался КН № 7 — внутрисуставное смещение отломков более 2 мм. Этот критерий оказывал значимое влияние на ЛЛИ (3,99 мм). На основе полученных результатов была сформирована таблица, демонстрирующая влияние каждого из КН на КРП (таблица).

В результате все КН были распределены нами на 3 группы: в 1-ю группу вошли критерии, оказывающие выраженное влияние на КРП (влияют на 3–5 показателей); во 2-ю группу — оказывающие умеренное влияние на КРП (влияют на 1–2 показателя); в 3-ю — слабо влияющие на КРП (влияют на 0 показателей).

Исходя из полученных данных, нами предложен следующий алгоритм лечения больных с переломами ДМЛК. Каждый из КН, входящих в 1-ю группу, соответствует 30 баллам, во 2-ю группу — 15 баллам и в 3-ю — 10 баллам. Любой из КН 1-й группы (30 баллов) позволяет выявить так называемые нерепонируемые переломы (при которых невозможно с помощью закрытой ручной репозиции и гипсовой лонгеты удержать отломки в правильном положении), требующие хирургической коррекции. Сочетание КН остальных групп, набравших в сумме 30 и более баллов, также свидетельствует о нестабильном характере перелома, при котором консервативное лечение не будет эффективным.

Вероятность вторичного смещения даже после хорошо выполненной репозиции остается высокой и составляет от 14,5 до 60% [9–11]. Н.Курп и соавт. (2008) сообщают о том, что при фиксации отломков спицами Киршнера потеря величин ЛЛУ и длины лучевой кости происходит в течение первых 45 дней, а уменьшение ЛИ — на протяжении 3 месяцев после перелома [12]. В этой связи чрезвычайно важно своевременно выявить признаки возможного смещения костных фрагментов.

В 1989 г. M.Lafontain и соавт. на примере 112 переломов описали критерии, обнаружение которых свидетельствовало о нестабильном характере перелома ДМЛК [3]. Это первичное тыльное смещение ладонного наклона суставной поверхности более 20°, разможнение тыль-

Таблица. Влияние критериев нестабильности на значения клинико-рентгенометрических показателей при переломах дистального метаэпифиза лучевой кости

Критерий нестабильности	Клинико-рентгенометрические показатели					
	ЛЛУ, °	ЛИ, °	ЛЛИ, мм	ЛС, мм	ООД, %	СЗК, %
1. Разможнение метафиза (*)	–	–	–	–	–	–
2. Тыльное смещение (**)	–	+	–	–	–	–
3. Смещение на 1 см и более (***)	+	–	+	+	+	+
4. Внутрисуставной перелом (**)	–	–	+	+	–	–
5. Шиловидный отросток (*)	–	–	–	–	–	–
6. Укорочение 5 мм и более (***)	+	–	+	+	+	–
7. Внутрисуставное смещение более 2 мм (**)	–	–	+	–	–	–
8. Линия излома 25° (**)	–	–	–	+	–	–
9. Отсутствие контакта (***)	–	–	+	+	+	–

Влияние КН на КРП: * — слабое; ** — умеренное; *** — выраженное

ного метафиза, внутрисуставной перелом, сопутствующий перелом локтевой кости, возраст пациентов старше 60 лет. При наличии 3 и более критериев перелом ДМЛК считали нестабильным с тенденцией к вторичному смещению отломков в случае консервативного лечения. D.Fernandez и J.Jupiter (1996) также описали критерии, по которым перелом ДМЛК следовало считать нестабильным, среди них — выраженное смещение отломков, разможнение метафизарной зоны, высокая энергия повреждения, наличие костного дефекта между отломками после репозиции [4]. И.О.Голубев и соавт. (2010) дополнили это список новым критерием — укорочение лучевой кости на 5 мм и более [5].

J.Kongsholm и С.Olerud (1989) сообщили о вторичном смещении отломков у половины всех пациентов через 10 дней после выполнения закрытой репозиции и о неправильном сращении отломков у 88% больных после оскольчатых переломов дистального отдела лучевой кости [13]. Это совпадает с данными А.А.Хромова и соавт. (2004), наблюдавшими в 86,4% случаев вторичное смещение отломков лучевой кости при переломах III–IV типов по классификации Frykman [14]. P.Maskenney и соавт. (2006) по результатам обследования 4000 пациентов с переломами ДМЛК пришли к заключению, что ведущими факторами, ухудшающими исход, являются тыльное разможнение, укорочение лучевой кости и увеличение возраста больных [15].

Е.Махни и соавт. (2010), изучая влияние разможнения тыльного метафиза на вторичное смещение, выяснили, что при наличии этого критерия смещение наступало в 62% случаев против 45% при переломах без разможнения ($p < 0,001$) и имело тенденцию к росту с увеличением возраста [6]. В нашем исследовании мы не отметили влияния КН № 1 на КРП. **А.Ladd (2008)** относит к признакам нестабильных переломов внутрисуставное смещение, разможнение костной ткани и ее низкую плотность [16].

В.Lawson и соавт. (2012) среди нескольких КН выделяли 2 независимых статистически значимых фактора, предрасполагающих к вторичному смещению отломков: возраст больных старше 65 лет и наличие внутрисуставного перелома (тип «С» по классификации АО/ASIF). В сочетании с этими факторами имели значение также разможнение тыльного кортикального слоя или наличие 3 и более фрагментов в дистальном отделе лучевой кости [17].

Исследования **М.Lutz и соавт. (2005)** показали, что увеличение глубины суставной поверхности лучевой кости в сагиттальной проекции за счет смещения отломков после внутрисуставных переломов ДМЛК («С2» и «С3» по классификации АО/ASIF) неблагоприятно влияет на функциональный исход, а именно на объем «сгибания–разгибания» в лучезапястном суставе [18]. В выполненном нами исследовании достоверно обосновано, что как КН № 4 (внутрисуставной перелом), так и КН № 7 (внутрисуставное смещение более 2 мм) оказывают влияние на соотношение длин лучевой и локтевой костей (ЛЛИ).

С.Kraemer и соавт. (2013) в ретроспективном исследовании выявили значимую потерю объема движений в

кистевом суставе и силы захватов кисти ($p = 0,001$) у пациентов с 200 переломами ДМЛК при наличии сопутствующего перелома шиловидного отростка локтевой кости [19].

В противовес этому, сравнение 2 групп больных с сочетанными переломами основания шиловидного отростка локтевой кости и ДМЛК, проведенное Y.Zenke и соавт. (2012), констатировало одинаково хорошие результаты как в группе, где выполняли внутреннюю фиксацию шиловидного отростка локтевой кости, так и в группе без его фиксации [20]. В нашем исследовании влияния КН № 5 ни на один из КРП отмечено не было.

Постменопаузальный остеопороз также рассматривается в литературе как КН [21]. К.Nesbitt и соавт. (2004) в качестве статистически значимого фактора для прогнозирования вторичного смещения после приемлемой первичной закрытой репозиции указывают возраст пациентов старше 58 лет [22]. При этом риск потери репозиции достигает 50%. Поскольку средний возраст пациентов в нашем исследовании составил 42,2 года, а 89,4% больных были в возрасте до 60 лет, мы сочли возможным не учитывать влияние остеопороза на развитие смещения отломков у наших пациентов.

Заключение

В обследуемой нами группе больных с неправильно сросшимися переломами ДМЛК наиболее часто выявляли такие критерии нестабильности, как:

- отсутствие сопоставления ладонной кортикальной пластинки проксимального и дистального отломков — 74,4%;
- отклонение ЛИ на 20° и более — 72,9%;
- разможнение тыльного кортикального слоя в метафизарной области — 70,7%;
- перелом шиловидного отростка локтевой кости — 59,4%.

В то же время выраженное влияние на ведущие КРП оказали следующие КН, составившие 1-ю группу:

- первоначальное смещение фрагментов по длине на 1 см и более;
- остаточное (после выполнения репозиции) укорочение лучевой кости более 5 мм;
- отсутствие сопоставления ладонной кортикальной пластинки проксимального и дистального отломков.

Таким образом, существующая концепция лечения больных с переломами ДМЛК предполагает выявление 3 любых из известных КН для обоснования показаний к хирургическому лечению. Результаты проведенного исследования позволили разделить КН на группы в зависимости от степени их влияния на КРП, что предполагает новый дифференцированный подход, а именно возможность в зависимости от наличия диагностированного КН (или набранного количества баллов) определить наиболее эффективный способ лечения. В целом полученные данные могут способствовать улучшению диагностики переломов ДМЛК, прогнозированию их течения и выбору оптимальной тактики лечения этих больных.

Литература

1. Wolf S.W. Avoiding complications of distal radius fracture fixation // Annual Meeting of American Academy of Orthopaedic Surgeons: Proceedings. Chicago, 2006. P.184–185.
2. Schnependahl J., Windolf J., Kaufmann R. Distal radius fractures: current concepts // J Hand Surg Am. 2012. V.37 (8). P.1718–1725.
3. Lafontaine M., Hardy D., Delince P.H. Stability assessment of distal radius fractures // Injury. 1989. V.20 (4). P.208–210.
4. Fernandez D.L., Jupiter J.B. Fractures of the distal radius. A practical approach to management. Berlin–Heidelberg–New York: Springer, 1996. P.114–117.
5. Голубев И.О., Максимов А.А., Ширяева Г.Н. и др. Ошибки и осложнения консервативного лечения переломов дистального метаэпифиза лучевой кости // Матер. 3-го Всерос. съезда кистевых хирургов, 2-го Междунар. конгресса «Современные технологии диагностики, лечения и реабилитации при повреждениях и заболеваниях верхней конечности»: Тезисы докладов. М., 2010. С.36–37.
6. Makhni E.C., Taghnia A., Ewald T. et al. Comminution of the dorsal metaphysis and its effects on the radiographic outcomes of distal radius fractures // J Hand Surg Eur Vol. 2010. V.35 (8). P.652–658.
7. Измалков С.Н., Семенкин О.М. Заявка на изобретение № 2013106012 от 12.02.2013 «Способ диагностики нестабильных переломов дистального метаэпифиза лучевой кости».
8. Кремер Н.Ш. Теория вероятностей и математическая статистика: Учебник для вузов. М.: Юнити-Дана, 2002. 543 с.
9. Castaing J. Les fractures récentes de l'extrémité inférieure du radius chez l'adulte // Rev Chir Orthop. 1964. V.50. P.581–696.
10. Judet J., Judet R., Caracostas. Le traitement des fractures de l'extrémité inférieure du radius // Mém Acad Chir. 1958. V.84. P.103–1041.
11. Farah N., Nassar L., Farah Z., Schuind F. Secondary displacement of distal radius fractures treated by bridging external fixation // J Hand Surg Eur Vol. 2013. V.6. P.1–7.
12. Kurup H.V., Mandalia V.M., Shaju K.A. et al. Late collapse of distal radius fractures after K-wire removal: is it significant? // J Orthop Traumatol. 2008. V.9. P.69–72.
13. Kongsholm J., Olerud C. Plaster cast versus external fixation for unstable intraarticular Colles` fractures // Clin Orthop Relat Res. 1989. V.241. P.57–65.
14. Хромов А.А., Обухов И.Э., Черняев С.Н., Кравченко И.Н. Применение стержневых аппаратов внешней фиксации при лечении больных с переломами дистального метаэпифиза лучевой кости // Матер. Междунар. конгресса «Современные технологии в травматологии и ортопедии: ошибки и осложнения — профилактика, лечение»: Тезисы докладов. М., 2004. С.184–185.
15. Mackenney P.J., McQueen M.M., Elton R. Prediction of instability in distal radius fractures // J Bone Joint Surg Am. 2006. V.88 (9). P.1944–1951.
16. Ladd A.L. Internal fixation: is this the new gold standard? // Annual Meeting of American Academy of Orthopaedic Surgeons: Proceedings. San Francisco, 2008. P.216–218.
17. Lawson B., Makhni M., Kuo P. et al. Predictors of secondary displacement in operatively and non-operatively managed distal radius fractures // Annual Meeting of American Academy of Orthopaedic Surgeons: Proceedings. San Francisco, 2012. P.780–781.
18. Lutz M., Rudisch A., Kralinger F. et al. Sagittal wrist motion of carpal bones following intraarticular fractures of the distal radius // J Hand Surg Br. 2005. V.30 (3). P.282–287.
19. Kraemer S., Meyer H., O`Loughlin P.F. et al. The incidence of ulnocarpal complaints after distal radial fracture in relation to the fracture of the ulnar styloid // J Hand Surg Eur Vol. 2013. V.38 (7). P.710–717.
20. Zenke Y., Sakai A., Oshige T. et al. Treatment with or without internal fixation for ulnar styloid base fractures accompanied by distal radius fractures fixed with volar locking plate // J Hand Surg Eur Vol. 2012. V.17. P.181–190.
21. Fitzpatrick S.K., Casemyr N.E., Zurakowsky D. et al. The effect of osteoporosis on outcomes of operatively treated distal radius fractures // J Hand Surg Am. 2012. V.37 (10). P.2027–2034.
22. Nesbitt K.S., Failla J.M., Les C. Assessment of instability factors in adult distal radius fractures // J Hand Surg Am. 2004. V.29 (6). P.1128–1138.

Информация об авторах:

Измалков Сергей Николаевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой травматологии, ортопедии и поликлинической хирургии Самарского государственного медицинского университета
Адрес: 443099, Самара, ул. Чапаевская, 89
Телефон: (846) 333-7144
E-mail: izmalkov@mail.ru

Нефедов Сергей Александрович, кандидат физико-математических наук, доцент кафедры физики твердого тела и неравновесных систем Самарского государственного университета
Адрес: 443011, Самара, ул. Академика Павлова, 1
Телефон: (846) 334-5436
E-mail: nef2705@yandex.ru

Возможности применения биodeградируемых материалов в травматологии и ортопедии (обзор литературы)

Б.В.Хонинов², О.Н.Сергунин², П.А.Скороглядов¹

¹Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, кафедра травматологии, ортопедии и военно-полевой хирургии педиатрического факультета, Москва (зав. кафедрой — проф. А.В.Скороглядов);

²Городская клиническая больница № 64, Москва (главный врач — проф. О.В.Шарапова)

Проведен анализ литературных данных об использовании изделий из биodeградируемых материалов в травматологии и ортопедии. В настоящее время все более широко применяются имплантаты из полигликолевой и полимолочной кислот, в частности в травматологии — пины и винты. Показана низкая частота явлений остеолита и реакций на инородное тело при использовании этих устройств, длительность контролируемого периода их распада составляет до 18 мес. Преимущество таких имплантатов — возможность полного рассасывания, что избавляет от необходимости операции по удалению устройства и, соответственно, предотвращает повреждение тканей. Приведены данные клинических исследований, которые способствовали внедрению в практику биodeградируемых ортопедических изделий. Сделан вывод о необходимости дальнейших исследований по применению изделий из биodeградируемых материалов в травматологии и ортопедии.

Ключевые слова: имплантаты, биodeградируемые материалы, переломы, фиксация костей, полигликолевая кислота, полимолочная кислота

Biodegradable Materials Application in Traumatology and Orthopedics (Review)

B.V.Khoninov², O.N.Sergunin², P.A.Skoroglyadov¹

¹Pirogov Russian National Research Medical University, Department of Traumatology, Orthopedics and Battle-Field Surgery of Pediatric Faculty, Moscow (Head of the Department — Prof. A.V.Skoroglyadov);

²Municipal Clinical Hospital № 64, Moscow (Chief Doctor — Prof. O.V.Sharapova)

It was performed the analysis of published data on the use of products made of biodegradable materials in traumatology and orthopedics. Currently more and more implants made from polylactic and polyglycolic acids are widely used, in particular, in trauma — pins and screws. Low frequency of the osteolysis and foreign body reactions to the use of these devices was demonstrated, the duration of the controlled period of their decay was up to 18 months. The advantage of these implants is the ability to complete resorption, which eliminates the need for surgery to remove the device and tissue damage accordingly. There were presented the data of clinical studies which contributed to the implementation in practice of biodegradable orthopedic products. It was concluded that further research on the use of products made of biodegradable materials in traumatology and orthopedics is needed.

Key words: implants, biodegradable materials, fractures, bone fixation, polyglycolic acid, polylactic acid

В последние десятилетия в травматологии и ортопедии все более широко используют биodeградируемые материалы (БДМ), история применения имплантатов из которых насчитывает более 25 лет. В настоящее время специалисты обсуждают перспективы использо-

вания БДМ в изделиях для стабилизации переломов, для трансплантации и фиксации костей, особенно губчатых, а также при лечении разрывов связок, сухожилий, менисков и других анатомических структур [1, 2]. Одно из распространенных показаний к применению винтов из БДМ — лечение переломов дистальных метаэпифизов лучевой кости [3]. В ряде исследований показана эффективность фиксации биodeградируемыми имплантатами при коррекции плоскостопия [4].

Однако в отечественной литературе сообщения о применении БДМ в ортопедической практике почти отсутствуют, а зарубежные специалисты считают неизученным ряд вопросов, связанных с их использова-

Для корреспонденции:

Хонинов Бадма Валериевич, врач травматолог-ортопед Городской клинической больницы № 64

Адрес: 117292, Москва, ул. Вавилова, 61
Телефон: (499) 135-9146

E-mail: bhoninov@gmail.com

Статья поступила 05.09.2013, принята к печати 20.02.2014

нием. Дискутируются, в частности, такие проблемы, как уровень риска инфекционных осложнений, механическая стабильность и преимущества использования данных материалов по сравнению с металлическими устройствами [5]. Недостаточными полагают сведения о клинической эффективности и безопасности использования изделий из БДМ в хирургическом лечении патологии опорно-двигательного аппарата, практически отсутствует информация об отдаленных результатах их применения, в частности о функциональном состоянии опорно-двигательного аппарата и качестве жизни таких пациентов в отдаленном периоде после ортопедического лечения.

Цель настоящего исследования — анализ данных литературных источников, посвященных использованию изделий из биodeградируемых материалов в травматологии и ортопедии.

В травматологической практике широко используют металлические изделия, однако это сопряжено с рядом проблем, таких как адаптивная перестройка имплантата (**stress shielding**), **боль, местное раздражение** [6]. Применение такого рода устройств повышает риск развития инфекционных осложнений, асептического некроза [7]. Показано высвобождение ионов металла из таких имплантатов, хотя исследователи до сих пор обсуждают последствия этого явления. Все вышеперечисленные факторы обуславливают необходимость выполнения повторных операций по извлечению имплантатов после восстановления кости [1, 4].

В 1893 г. K.Bischoff и P.Walden синтезировали полигликолевую кислоту (PGA) с **низкой молекулярной массой** [8], в 1962 г. был разработан первый синтетический деградируемый шовный материал из полигликолевой кислоты. Соотношение 90:10 сополимеров гликолида и лактида (полиглактин) было использовано при разработке шовного материала «Викрил», применяемого в хирургической практике с 1975 г. Многолетнее использование полигликолида и полилактида не выявило их токсичности, аллергенности, а также не продемонстрировало риска развития канцерогенных и тератогенных эффектов этих материалов [9].

Полигликолевая кислота представляет собой твердый вязкий кристаллический полимер со средней молекулярной массой от 20 000 до 145 000, точкой плавления при температуре 224–230 °C [9]. Полилактидная кислота — полимер, изначальная молекулярная масса которого составляет от 180 000 до 530 000, с **точкой плавления около 174 °C**. В ортопедических имплантатах более широко применяли поли-L-лактидную кислоту (PLLA), поскольку она сохраняет первоначальную прочность дольше, чем поли-D-лактидная кислота (PDLA).

Использование PGA в качестве материала для изготовления укрепляющих пинов, винтов и пластин для травматологии и ортопедии впервые предложили E.E.Schmitt, R.A.Polistina (1967), после чего началось интенсивное изучение свойств биodeградируемых имплантатов в аспекте их применения для остеосинтеза. Поскольку PGA принадлежит к категории **быстро деградируемых полимеров**, было показано, что устройства из

этого материала, имплантируемые внутрикостно, рассасываются полностью в течение 6 мес. Для PLLA характерен более длительный период деградации — она сохраняется в тканях на протяжении 5 лет после имплантации.

Важнейшим шагом в применении БДМ было создание производства имплантатов из полимолочной кислоты, в том числе изделий, используемых в травматологической практике — пинов и винтов. В ряде исследований при их использовании была продемонстрирована низкая частота проявлений остеолита и развития реакций на инородное тело. Однако чистая полимолочная кислота имеет достаточно длительный период распада (до 5 лет), что не устраивало специалистов. Были разработаны устройства из комбинированного материала на основе полигликолевой и полимолочной кислот (PLGA), обеспечивающие столь же прочную фиксацию, как и имплантаты из чистой PLLA, но с **меньшей длительностью контролируемого периода распада** — 18 мес [1].

Возможности применения биodeградируемых имплантатов были продемонстрированы в экспериментальных исследованиях. Так, D.C.Tunc и соавт. (1986) сообщили об успешной фиксации при экспериментальной остеотомии пяточной кости с помощью литого поли-L-лактидного винта и пластины у собак породы бигль [10]. J.E.Räihä и соавт. (1990) описали успешную фиксацию при остеотомии большого вертела у собак этой же породы с помощью самофиксирующихся полилактидных винтов [11]. O.Böstman и соавт. (1991) тестировали самофиксирующиеся винты PGA для фиксации бедренной кости после остеотомии у кроликов, исследователи сообщили об удовлетворительной фиксации и хорошей переносимости вмешательства, о чем свидетельствовала минимальная реакция тканей [12].

В дальнейшем результаты клинических исследований последних десятилетий способствовали созданию и внедрению в практику биodeградируемых ортопедических изделий. Имплантаты из БДМ позволили в определенной степени сместить акцент при разработке от бионической направленности (т.е. механического замещения) к «биологическому» решению ряда проблем медицинской практики. Кроме того, при создании современных ортопедических имплантатов исследователи, наряду с безопасностью для организма, придают большое значение таким качествам изделий, как прочность, долговечность и экономичность.

На данное время продемонстрирована высокая эффективность использования в травматологической практике винта из PLGA (смесь 85% полимолочной и 15% полигликолевой кислот), которая обусловлена его биомеханическими параметрами (прочность на изгиб, твердость) в сочетании с удовлетворительными характеристиками распада [13]. Основное препятствие к широкому внедрению биodeградируемых имплантатов в ортопедическую практику — это проблема достижения достаточной первоначальной прочности устройств, а также сохранения этой прочности после имплантации в кость. Было показано, что благодаря технике самофиксации (SR) происходит агломерация материала при

высокой температуре и давлении. Начальная прочность винтов PLLA ниже, чем у изделий из PGA, однако прочность первых сохраняется дольше [14]. В целом для данной категории изделий установлено отсутствие различий по показателям жесткости, уровню линейной нагрузки и характеру повреждения по сравнению с металлическими приспособлениями [15]. К преимуществам таких имплантатов относят также возможность полного рассасывания, что избавляет от необходимости последующей операции по удалению устройства и, соответственно, повреждения тканей. Снижается также риск, связанный с адаптивной перестройкой имплантатов и развитием периимплантного остеопороза.

Рассматривая процесс деградации БДМ, следует отметить, что кристаллические полимеры обладают упорядоченной внутренней структурой, вследствие чего деградируют медленно. У аморфных полимеров структура неупорядоченная, поэтому деградация происходит быстрее. Полукристаллические полимеры обладают кристаллической и аморфной (неупорядоченной) структурой зонами. Установлено, что гидролиз начинается в аморфных зонах, не затрагивая сначала кристаллические, которые деградируют медленнее [16].

При использовании первых изделий из БДМ имели место проблемы деградации, а также развития реакции тканей на имплантат. В частности, при использовании в качестве материала PGA отмечено, что такое изделие фактически теряло прочность в течение месяца, а массу — в течение 6–12 мес. Была выявлена вероятность развития побочных реакций, если степень деградации превышает предел тканевой толерантности, рассчитан риск развития побочной тканевой реакции к имплантату из PGA, который составил от 2,0 до 46,7% [1, 12]. В связи с этим сейчас редко используют PGA в производстве биодеградируемых имплантатов. В то же время для поли-L-лактидной кислоты характерна более медленная абсорбция, у этого гомополимера L-лактида более выраженная кристаллическая структура за счет большей упорядоченности полимерной цепи, поэтому, как было отмечено в ряде исследований, для его абсорбции нужно более 5 лет [1, 3, 8].

Новые поколения имплантатов выполнены преимущественно из аморфного материала благодаря контролируемому процессу производства сополимеров. D-лактид, сополимеризуясь с L-лактидом, повышает степень аморфности вещества имплантатов, что, в свою очередь, увеличивает биоабсорбционную способность изделий. По-видимому, идеальный материал должен обладать «средним» временем деградации — около 2 лет, поскольку в этот срок уже достигается цель лечения [5, 10].

Безусловно, такого рода изделиям присущи и некоторые недостатки. В первую очередь к ним следует отнести недостаточную прочность устройств по сравнению с металлическим имплантатом, что способствует, в частности, разлому винта во время установки, а также низкой надежности фиксации [6]. Другие потенциальные недостатки: возможность развития воспалительной реакции при установке биодеградируемых имплантатов;

быстрая потеря первоначальной прочности; относительно высокая частота повторных переломов [6].

Исследователи приводят данные о реакции на чужеродное тело у 11% пациентов при постановке винтов из PGA при лодыжечных переломах [1].

В одном экспериментальном исследовании изучили тип ткани, образующейся на месте биодеградируемого имплантата после рассасывания [1, 2]. Было продемонстрировано низкое содержание губчатого вещества кости и кровеносных элементов в месте рассосавшегося имплантата, а также след от винта, который исследователи расценили как потенциальную зону развития нежелательных явлений.

Следует отметить тот факт, что имплантаты из БДМ — не помеха для визуализации и позволяют использовать магнитно-резонансную томографию как метод обследования при травмах колена и плеча на любой стадии после хирургической имплантации. Другими преимуществами являются возможность биодеградации имплантата при его размещении перпендикулярно подвижной суставной поверхности, а также приемлемая биосовместимость и резорбционные свойства, которые снижают вероятность развития осложнений [4]. Многие производители изготавливают цветные имплантаты, полагая, что визуализация бесцветных устройств в суставе может быть неудовлетворительной.

Исследователи считают, что биодеградируемые имплантаты имеют преимущества при фиксации ряда переломов, в частности стопы и лодыжки, при повреждениях дистального межберцового синдесмоза и смещениях в суставе Лисфранка [17].

Одна из наиболее востребованных областей применения БДМ — артроскопическая хирургия [2], в которой широко применяют такого рода изделия при восстановлении передней крестообразной связки с помощью интерферентных и трансфиксационных винтов. Остеохондральные переломы можно фиксировать с использованием артроскопических технологий и биодеградируемых пинов [2]. Менисковые поддерживающие швы и биодеградируемые шовные фиксаторы дают возможность восстановления мягких тканей при сложных повреждениях колена [9].

Было показано, что использование биодеградируемых интерферентных винтов может стать полноценной альтернативой применению металлических имплантатов в травматологии и ортопедии, поскольку такой подход позволяет, в частности, применять метод МРТ для визуализации трансплантата при контроле процесса сращения костной ткани [2]. G.Lajtai и соавт. продемонстрировали при данном подходе наличие слабо выраженного отека в области хирургического вмешательства, отсутствие выраженной реакции на чужеродный материал, а также полное замещение биодеградируемых интерферентных винтов посредством образования новой кости в месте их использования [18]. Наблюдение в течение 5 лет показало, что применение такого винта является безопасным и клинически эффективным методом фиксации костных блоков при восстановлении передней крестообразной связки; при этом с помощью МРТ была выявлена пол-

ная абсорбция материала устройства и замещение его костной тканью. В качестве дополнительного преимущества использования устройства исследователи отмечают уменьшение дистального диаметра канала в большеберцовой и бедренной кости соответственно в течение 3 и 12 мес наблюдений [19].

Биodeградируемые имплантаты широко используют при патологии плечевого сустава, включая разрывы ротаторной манжетки плеча, нестабильность плечевого сустава и повреждение двуглавой мышцы, где необходимо восстановление составной капсулы плечевого сустава или тенodes сухожилия двуглавой мышцы [20].

Изделия из этих материалов также обладают высоким потенциалом для использования в хирургии позвоночника. J.D.Coe, A.R.Vaccaro (2005) опубликовали данные по применению биodeградируемых имплантатов в качестве межпозвонковых фиксаторов при поясничном межпозвонковом спондилодезе в течение 2 лет. Клинические и рентгенологические результаты позволили авторам рекомендовать использование этих изделий как конструктивную опору между телами позвонков при выполнении трансфораминального поясничного межтелового спондилодеза [21].

В экспериментальных исследованиях F.Kandziora и соавт. (2004) были использованы трикортикальные костные трансплантаты и биodeградируемые кейджи из композита полимера фосфата кальция, которые имплантировали в шейный отдел позвоночника овцы. Продемонстрированы хорошие деструктивные свойства и высокая биомеханическая жесткость изделий, используемых при выполнении межпозвонкового спондилодеза [22]. В то же время в 6 из 8 кейджей из композита полимера фосфата кальция были обнаружены трещины. Несмотря на неясность причин выявленных нарушений, раннее развитие остеолита, связанного с использованием этого материала, позволило авторам усомниться в ценности данного биodeградируемого имплантата [20].

Изучались возможности использования биodeградируемых передних шейных пластин как альтернатива металлическим. В частности, С.Р.Ames и соавт. (2005) показали, что биodeградируемые пластины при этом лучше обеспечивали стабильность, чем рассасывающиеся сетки [23].

Применяют биodeградируемые имплантаты для операций на головке и мыщелках плечевой кости, дистальном отделе лучевой и локтевой костей и в других метафизарных областях. БДМ используют также в сетках для реконструкции вертлужной впадины. Все более широкое использование биodeградируемые имплантаты находят в челюстно-лицевой хирургии, при операциях на черепе, а также при стоматологических операциях [13].

Анализ применения биodeградируемых материалов в педиатрической практике свидетельствует об эффективности применения устройств из этих материалов. Так, O.Vöstman и соавт. (2005) показали, что самофиксирующиеся рассасывающиеся стержни эффективны при фиксации переломов у детей [1]. P.G.Hope и соавт. (1991) оценивали возможности использования самофиксирующихся рассасывающихся стержней с металли-

ческими фиксаторами при переломах локтевой кости у детей [24]. E.K.Partio и соавт. (1992) показали, что винты SR-PLLA являются достаточно прочными для фиксации внесуставного подтаранного артродеза у детей [25].

Первые данные о фиксации переломов лодыжки с помощью рассасывающихся стержней были представлены P.Rokkanen и соавт. в 1985 г. Впоследствии успешные результаты применения самофиксирующихся рассасывающихся стержней были представлены W.Ruf и соавт. (1990) при переломах лодыжки [26], G.Kristensen и соавт. (1990) — при внутрисуставных переломах таранной кости [27]. Некоторые исследователи предложили использование биodeградируемых имплантатов для фиксации остеотомии при вальгусной деформации большого пальца стопы, были получены первые удовлетворительные результаты у 152 прооперированных пациентов с последующим наблюдением в течение 2 лет [28]. Показано, что применение такого рода материалов имеет ряд преимуществ при вмешательствах на стопе, когда необходимо удалять металлическое устройство, в частности, в таких случаях как синдесмозная деструкция и вывих Лисфранка [17].

На данный момент практически отсутствуют работы, посвященные использованию биodeградируемых имплантатов при вмешательствах на кисти. Тем не менее исследователи сообщают о применении системы с мини-пластинами из БДМ для фиксации переломов, остеотомий и артродезов на костях запястий и кистей рук [6]. В предварительных отчетах были представлены результаты применения самофиксирующихся мини-пластин и 1,5 или 2,0 мм винтов из PGLA при переломах и остеотомиях, что давало возможность выполнения остеосинтеза без каких-либо осложнений [3].

Заключение

В настоящее время исследователи сходятся в том, что дальнейшие исследования в области применения изделий из биodeградируемых материалов в травматологической и ортопедической практике должны сконцентрироваться на разработке имплантатов, которые деградируют в течение «среднего» периода времени. В лабораторных условиях были получены многообещающие результаты при оценке высвобождения антибиотика из биорассасывающихся микросфер и гранул. Следует отметить, что сейчас в качестве перспективных рассматривают возможности создания рассасывающихся пластин, в которых будут использованы ковалентные связи с такими веществами, как интерлейкины и факторы роста, что позволит продлить период резорбции материала за счет локально повышенной концентрации факторов роста.

Как свидетельствуют результаты анализа литературных данных, изучение возможностей применения биodeградируемых имплантатов представляет собой активно развивающуюся область научных исследований; в то же время сообщения о применении изделий из биodeградируемых материалов не систематизированы, а отечественные работы по этому направлению отсут-

ствуют. Одним из перспективных направлений в повышении эффективности и безопасности ортопедических вмешательств представляется применение такого рода имплантатов и устройств при переломах. Анализ литературных источников свидетельствует о необходимости дальнейшей разработки и внедрения в практику новых изделий из биodeградируемых материалов, что будет способствовать решению не только медицинских, но и социально-экономических проблем, учитывая высокую частоту патологии и травм опорно-двигательного аппарата.

Литература

- Böstman O.M., Laitinen O.M., Tynnenen O. et al. Tissue restoration after resorption of polyglycolide and poly-l-lactic acid screws // *J Bone Joint Surg Br.* 2005. V.87. P.1575–1580.
- Burkhart S.S. The evolution of clinical applications of biodegradable implants in arthroscopic surgery // *Biomaterials.* 2000. V.21. P.2631–2634.
- Noh J.H., Roh Y.H., Yang B.G. et al. Outcomes of operative treatment of unstable ankle fractures: a comparison of metallic and biodegradable implants // *J Bone Joint Surg Am.* 2012. V.94 (22). P.e166.
- Raikin S.M., Ching A.C. Bioabsorbable fixation in foot and ankle // *Foot Ankle Clin.* 2005. V.10 (4). P.667–684.
- Weil L.S. A comparison of Biofix rods to rigid internal fixation in the treatment of elective osteotomies in foot surgery // *J Foot Surg.* 1992. V.31 (3). P.314.
- Hughes T.B. Bioabsorbable implants in the treatment of hand fractures: an update // *Clin Orthop Relat Res.* 2006. V.445. P.169–174.
- Gristina A.G. Biomaterial-centered infection: microbial adhesion versus tissue integration // *Science.* 1987. V.237. P.1588–1595.
- Higgins N.A. Condensation polymers of hydroxyacetic acid / U.S. Patent № 2676945. 1954.
- Schmitz J.P., Hollinger J.O. A preliminary study of the osteogenic potential of a biodegradable alloplastic-osteoinductive alloimplant // *Clin Orthop Relat Res.* 1988. V.237. P.245–255.
- Tunc D.C., Rohowsky M.V., Zadwadsy J.P. et al. Evaluation of body absorbable screw in avulsion type fractures: The 12th annual meeting of the society of biomaterials, Minneapolis — St.Paul, Minnesota, USA, May 29 — June 1. Abstracts. Minneapolis, MN, 1986. P.168.
- Räihä J.E., Parchman M., Krook L. et al. Fixation of trochanteric osteotomies in laboratory beagles with absorbable screws of polylactic acid // *Vet Comp Orthop Traumatol.* 1990. V.3. P.123–129.
- Böstman O., Pääväranta U., Partio E. et al. Absorbable polyglycolide screws in internal fixation of femoral osteotomies in rabbits // *Acta Orthop Scand.* 1991. V.62. P.587–591.
- Bos R.R., Rozema F.R., Boering G. et al. Degradation of and tissue reaction to biodegradable poly(L-lactide) for use as internal fixation of fractures: a study in rats // *Biomaterials.* 1991. V.12. P.32–36.
- Suuronen R., Pohjonen T., Wessman L. et al. New generation biodegradable plate for fracture fixation: comparison of bending strengths of mandibular osteotomies fixed with absorbable self-reinforced multi-layer poly-L-lactide plates and metallic plates — an experimental study in sheep // *Clin Mater.* 1992. V.9 (2). P.77–84.
- Lee M.C., Jo H., Bae T.S. et al. Analysis of initial fixation strength of press-fit fixation technique in anterior cruciate ligament reconstruction. A comparative study with titanium and bioabsorbable interference screw using porcine lower limb // *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2003. V.11 (2). P.91–98.
- Magnusson L., Ejerhed L., Rostgard-Christensen L. et al. A prospective, randomized, clinical and radiographic study after arthroscopic Bankart reconstruction using 2 different types of absorbable tacks // *Arthroscopy.* 2006. V.22 (2). P.143–151.
- Seitz W.H.Jr., Bachner E.J., Abram L.J. et al. Repair of tibiofibular syndesmosis with a flexible implant // *J Orthop Trauma.* 1991. V.5. P.78–82.
- Lajtai G., Schmeidhuber G., Unger F. et al. Bone tunnel remodeling at the site of biodegradable interference screws used for anterior cruciate ligament reconstruction: 5-year follow-up // *Arthroscopy.* 2001. V.17 (6). P.597–602.
- Simonian P.T., Monson J.T., Larson R.V. Biodegradable interference screw augmentation reduces tunnel expansion after ACL reconstruction // *Am J Knee Surg.* 2001. V.14 (2). P.104–108.
- McFarland E.G., Park H.B., Keyurapan E. et al. Suture anchors and tacks for shoulder surgery, part 1: biology and biomechanics // *Am J Sports Med.* 2005. V.33 (12). P.1918–1923.
- Coe J.D., Vaccaro A.R. Instrumented transforaminal lumbar interbody fusion with bioresorbable polymer implants and iliac crest autograft // *Spine (Phila Pa 1976).* 2005. V.30 (17). P.s76–s83.
- Kandziora F., Pflugmacher R., Scholz M. et al. Bioabsorbable interbody cages in a sheep cervical spine fusion model // *Spine (Phila Pa 1976).* 2004. V.29 (17). P.1845–1855.
- Ames C.P., Acosta F.L.Jr., Chamberlain R.H. et al. Biomechanical analysis of a newly designed bioabsorbable anterior cervical plate. Invited submission from the joint section meeting on disorders of the spine and peripheral nerves, March 2005 // *J Neurosurg Spine.* 2005. V.3 (6). P.465–470.
- Hope P.G., Williamson D.M., Coates C.J., Cole W.G. Biodegradable pin fixation of elbow fractures in children. A randomized trial // *J Bone Joint Surg Br.* 1991. V.73. P.965–968.
- Partio E.K., Merikanto J., Heikkilä J.T. et al. Totally absorbable screws in fixation of subtalar extra articular arthrodesis in children with spastic neuromuscular disease: preliminary report of a randomized prospective study of fourteen arthrodeses fixed with absorbable or metallic screws // *J Pediatr Orthop.* 1992. V.12. P.646–650.
- Ruf W., Schult W., Buhl K. Stabilisierung von Malleolafrakturen und Flakeverletzungen mit resorbierbaren polyglykolid-Stiften (BiofixR) // *Unfallchirurgie.* 1990. Bd.16. S.202–209.
- Kristensen G., Lind T., Lavard P., Olsen P.A. Fracture stage 4 of the lateral talar dome treated arthroscopically using Biofix for fixation // *Arthroscopy.* 1990. V.6. P.242–244.
- Brunetti V.A., Trepal M.J., Jules K.T. Fixation of Austin osteotomy with bioresorbable pins // *J Foot Surg.* 1991. V.30. P.56–65.

Информация об авторах:

Сергунин Олег Николаевич, заведующий травматологическим отделением
Городской клинической больницы № 64
Адрес: 117292, Москва, ул. Вавилова, 61
Телефон: (499) 135-9114
E-mail: sergunin.on@gmail.com

Скороглядов Павел Александрович, кандидат медицинских наук,
ассистент кафедры травматологии, ортопедии и военно-полевой хирургии
педиатрического факультета Российского национального исследовательского
медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117292, Москва, ул. Вавилова, 61
Телефон: (499) 135-9162
E-mail: pskor@bk.ru

Опыт преиндукции родов при преждевременном разрыве плодных оболочек в сроке беременности 34–36 недель

В.А.Новикова¹, Е.Г.Чернобай², С.Р.Аутлева¹, Е.В.Асеева¹,
К.Э.Торосян¹, Г.В.Каменских², Е.В.Глебова³

¹Кубанский государственный медицинский университет, кафедра акушерства, гинекологии и перинатологии факультета повышения квалификации и последипломной подготовки специалистов, Краснодар (зав. кафедрой — проф. Г.А.Пенжоян);

²Краевая клиническая больница № 2, Перинатальный центр, Краснодар (главный врач — проф. Г.А.Пенжоян);

³Детская краевая клиническая больница, Перинатальный центр, Краснодар (главный врач — проф. Е.И.Клещенко)

В исследовании произведена преиндукция родов в сроке беременности $35,6 \pm 1,12$ нед в связи с преждевременным разрывом плодных оболочек (ПРПО) у 50 женщин. Преиндукцию родов проводили с использованием аналога простагландина E_2 . Эффективность преиндукции родов для инициации родовой деятельности при отсутствии достоверного ухудшения перинатальных исходов достигнута в 84% случаев. Выявлены объективные способы оценки динамики трансформации шейки матки по данным УЗИ-мониторинга в зависимости от метода преиндукции родов у женщин с недоношенной беременностью и ПРПО. Проведен анализ особенностей маточно-плодово-плацентарной гемодинамики, сократительной активности матки при преиндукции родов у женщин с ПРПО в сроке беременности 34–36 нед. **Ключевые слова:** преждевременные роды, преждевременный разрыв плодных оболочек, преиндукция родов, простагландин E_2

Experience of Preinduction of Labor in Premature Rupture of Membranes at 34–36 Weeks of Gestation

V.A.Novikova¹, E.G.Chernobay², S.R.Autleva¹, E.V.Aseeva¹,
K.E.Torosyan¹, G.V.Kamenskikh², E.V.Glebova³

¹Kuban State Medical University, Department of Obstetrics, Gynecology and Perinatology, Faculty of Advanced Training and Postgraduate Specialist Training, Krasnodar (Head of the Department — Prof. G.A.Penzhoyan);

²Territorial Clinical Hospital № 2, Perinatal Center, Krasnodar (Chief Doctor — Prof. G.A.Penzhoyan);

³Children's Territorial Clinical Hospital, Perinatal Center, Krasnodar (Chief Doctor — Prof. E.I.Kleschenko)

At 35.6 ± 1.12 weeks of gestation there was performed the preinduction of labor with premature rupture of membranes (PROM) in 50 women. It was performed using an analogue of prostaglandin E_2 . Preinduction of labor efficiency for initiation of delivery in the absence of significant deterioration in perinatal outcomes was achieved in 84% of cases. There were identified objective ways to evaluate the dynamics of the transformation of the cervix by ultrasound monitoring, depending on the method of preinduction of labor in women with preterm pregnancy and PROM. There was performed the analysis of features of utero-fetus-placental hemodynamics, uterine activity during preinduction of labor in women with PROM at 34–36 weeks gestation. **Key words:** preterm labor, premature rupture of membranes, preinduction of labor, prostaglandin E_2

Для корреспонденции:

Новикова Владислава Александровна, доктор медицинских наук, доцент кафедры акушерства, гинекологии и перинатологии факультета повышения квалификации и последипломной подготовки специалистов Кубанского государственного медицинского университета

Адрес: 350063, Краснодар, ул. Седина, 4

Телефон: (861) 222-0114

E-mail: vladislavan@mail.ru

Статья поступила 14.01.2014, принята к печати 20.02.2014

Проблема преждевременных родов (ПР) считается приоритетной для акушеров-гинекологов и неонатологов [1, 2]. Согласно многочисленным исследованиям частота ПР в мире достигла 5–10%, что связано и с внедрением в практику современных репродуктивных технологий [1]. Частота ПР различается в зависимости от срока беременности. В период с 22 до 28 нед беременности она составляет 5–7% всех случаев ПР, с 29 до

34 нед беременности — 33–42%, с 34 до 37 нед беременности — 50–60% [1, 2]. Особой проблемой ПР является преждевременный разрыв плодных оболочек (ПРПО) [2–7]. При доношенном сроке беременности ПРПО сопровождается началом родов в течение последующих 24 ч в 90% случаев, а при недоношенном — лишь в 50%. В пределах первых суток после ПРПО спонтанные роды в 26% случаев начинаются при массе плода 500–1000 г, в 51% — при массе плода 1000–2500 г, в 81% — при массе плода более 2500 г [1].

Инфекционный фактор обладает доказанным риском по преждевременному излитию околоплодных вод [1, 7, 8]. В сроке беременности 22–27 нед ПР чаще обусловлены инфекционной этиологией и врожденной наследственной патологией плода; в 28–33 нед инфекционная этиология преобладает только в 50% случаев, с 34 нед ПР обусловлены множеством других причин, не связанных с инфекцией [1]. Причинами ПРПО могут быть бактериальный вагиноз, многоплодная беременность, многоводие, преждевременное сокращение миометрия, кровотечение в I триместре беременности, никотиновая зависимость, ПР или ПРПО в анамнезе [1, 3]. Известно, что при ПРПО в клетках хориона, амниона и децидуа вырабатываются провоспалительные цитокины, способствующие повышенному образованию утеротонинов в децидуа, миометрии и плаценте, инициирующие ремоделирование миометрия [7, 8]. Однако остается неясным, почему при ПРПО и высоком риске угрожающих ПР регулярная сократительная деятельность матки развивается не во всех случаях и безводный промежуток может продолжаться дни и месяцы.

Преждевременный разрыв плодных оболочек при недоношенной беременности требует выбора тактики ведения беременности. Учитывая то, что при ПР недоношенность, гипоплазия легких могут привести к неонатальной смерти, при ПРПО возможна выжидательная тактика. Тактика пролонгирования беременности зависит от гестационного срока. При гестационном сроке 28–31 нед ценна каждая неделя, в 32–34 нед — каждые 2–3 дня, после 34 нед беременности выжидательная тактика не оправдана [1]. Действительно, при ПР и ПРПО необходимо оценивать риски: 1) риск выжидательной тактики (плодовые риски — недоношенность, неонатальный сепсис, легочная гипоплазия, респираторный дистресс-синдром, контрактуры и деформации, компрессия пуповины; материнские риски — преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты, хориоамнионит, сепсис, послеродовая гипотония матки, лихорадка и эндометрит в пуэрперии); 2) риск активно-выжидательной тактики (преиндукция, индукция родов); 3) риск активной тактики (кесарево сечение) [3, 9]. Активная тактика также характеризуется возможными рисками: необходимостью родовозбуждения, которое может осложниться: гиперстимуляцией матки, увеличением частоты кесарева сечения (КС), болью, дискомфортом, недоношенностью с возможными осложнениями для новорожденного (респираторный дистресс-синдром, внутричерепное кровоизлияние, некротизирующий энтероколит), развитием септических осложнений у матери. Однако преимуществом активной тактики является предупреждение

инфекции. Необходимо учитывать, что частота инфекции и КС возрастают в случае родовозбуждения после 72-часового безводного периода [1, 5].

Прогнозируемы возможные осложнения преиндукции родов при ПРПО и недоношенной беременности: гиперстимуляция матки, увеличение частоты родоразрешения путем операции КС. Преиндукция родов необходима при биологически незрелой шейке матки, что объяснимо при недоношенной беременности [1, 10–13]. До настоящего времени достоверной доказательной базы по конкретной методике преиндукции родов при ПРПО и недоношенной беременности, по отдаленным эффектам действия различных методов преиндукции родов на состояние матери и ребенка, нет. При изучении ресурсов MEDLINE и Cochrane Library за период 1980–2008 гг. выяснилось, что из 34 исследований (мета-анализ или рандомизированные контролируемые исследования) преиндукции и индукции родов при ПРПО и недоношенной беременности посвящено только одно исследование — мета-анализ, выполненный L.Hartling и соавт. в 2006 г. [11]. В многочисленных публикациях, обзорах, посвященных преиндукции/индукции родов при ПРПО и ПР, подчеркивается, что исследования по данному вопросу продолжают проводиться, так как отсутствует доказательная база для однозначно трактуемых выводов. Таким образом, проблема выбора выжидательной, активно-выжидательной или активной тактики при ПРПО и недоношенной беременности актуальна до настоящего времени.

Цель работы — оценить эффективность преиндукции ПР в сроке беременности 34–36 нед при ПРПО.

Пациенты и методы

На клинических базах кафедры акушерства, гинекологии и перинатологии ФПК и ППС КубГМУ (в Краевом перинатальном центре ГБУЗ ККБ № 2, Краевом перинатальном центре ГБУЗ «ДККБ» ДЗ КК) обследованы 200 беременных женщин с ПРПО. Срок беременности составил $35,6 \pm 1,12$ нед (34–36 нед), средний возраст — $27,40 \pm 2,75$ года. У 50 женщин была произведена преиндукция родов с использованием аналога простагландина E_2 (Динопростон гель *per vaginum*; 0,5–1,0 мг динопростона в одной дозе). Преиндукция родов производилась после разведения плодных оболочек через 24 ч после ПРПО. Группу контроля составили 100 женщин, у которых развились спонтанные ПР в сроке 34–36 нед при ПРПО. Критерии включения: срок беременности 34–36 нед, желанная беременность, преждевременный разрыв плодных оболочек, передний вид затылочного предлежания. Критерии исключения: необходимость применения дополнительного метода индукции родов (окситоцин при неэффективности простагландина); патология, препятствующая продвижению головки плода по родовому каналу: узкий таз; опухоли малого таза или матки, препятствующие рождению плода; неправильные положения плода; крупные размеры плода; разгибательные предлежания головки; преэклампсия; декомпенсированная хроническая плацентарная недостаточность; экстрагенитальная патология в стадии декомпенсации; гистопатические из-

менения миометрия; пороки развития матки; гипоплазия матки; миома матки; многоплодная беременность; тяжелые формы гемолитической болезни плода.

Оценку «зрелости» шейки матки проводили по шкале E.H.Bishop (1964). УЗИ выполняли с помощью аппаратов экспертного класса Voluson-730, Philips HD11 (трансвагинальный доступ и трансперинеальный доступ). Для измерения параметров шейки матки использовали линейный датчик с частотой 7,5 МГц, интравагинальный датчик с частотой 7,5–12 МГц, трансабдоминальный датчик с частотой 3,5 МГц. При УЗИ оценивали длину шейки матки, диаметр внутреннего зева, толщину шейки матки на уровне внутреннего зева, толщину передней стенки нижнего сегмента матки. Кроме того, промежуточным доступом определяли расстояние от промежности до подлежащей части, аналогично исследованиям Т.М.Еggebo и соавт. (2006) и А.Ф.Барбера и соавт. (2009) [14, 15]. С целью оценки васкуляризации шейки матки применяли энергетическую доплерографию, в динамике оценивали количество локусов кровотока в шейке матки.

Диагностика ПРПО основывалась на визуальной оценке, «кашлевой» пробе, данных тест-системы AmniSure.

Для статистического анализа полученных результатов исследования использовали статистические пакеты «SPSS v15.0», «Systat v11.00.01», «Microsoft Excel 2007». Рассчитывали числовые характеристики вариационного ряда (M , m), достоверности различий выборок по t -критерию.

Результаты исследования и их обсуждение

При рассмотрении протоколов цервикометрии, проводимой в I–II триместрах беременности, у доминирующего числа женщин отмечены ультразвуковые маркеры риска ПР. У большинства женщин, за исключением пациенток с истмико-цервикальной недостаточностью, выявлены значительные изменения функции шейки матки, характерные для угрожающего/начавшегося спонтанного аборта (укорочение длины шейки матки менее 25 мм в сроке беременности 24–31 нед). Раскрытие цервикального канала более 1,0 см в сроке до 21 нед беременности практически у 50% женщин расценено как условие для инфицирования нижнего полюса плодного пузыря и ПРПО. К сожалению, протокол цервикометрии не отражал консистенцию шейки матки, что крайне важно для дополнительной оценки факторов риска ПР и ПРПО.

Рассматривая генитальную инфекцию как основной фактор риска ПРПО, мы изучили культуральный состав содержимого цервикального канала, околоплодных вод, содержимого полости матки в раннем послеродовом периоде. При сравнении культурального состава исследуемых сред ни в одном случае не было выявлено абсолютного совпадения (качественного и количественного). Действительно, основными возбудителями в клинически значимых титрах были: *Ureaplasma urealyticum*, *Chlamydia*, *Gardnerella vaginalis*, *Enterococcus faecialis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis*, *Candida albicans*, *Candida brucei*, *Kocuria rosea*. Однако у женщин основной и контрольной групп в цервикальном канале исходно преобла-

дали *Enterococcus faecialis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis*. В 14 и 24% случаев выявлена *Ureaplasma urealyticum*. В околоплодных водах в значительно меньшей степени выявлены *Enterococcus faecialis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis*. При исследовании культурального состава содержимого полости матки в раннем послеродовом периоде выяснилось, что практически у всех обследованных определялись *Enterococcus faecialis*, *Escherichia coli*. Так же, как и при исследовании флоры цервикального канала, обнаружена *Ureaplasma urealyticum* в клинически значимом титре, но уступающая по частоте *Enterococcus faecialis*, *Escherichia coli*. Таким образом, инфекционный фактор риска безусловно доминировал у женщин основной и контрольной групп. Однако отсутствует достоверное межгрупповое отличие в культуральном составе содержимого цервикального канала, околоплодных вод, содержимого полости матки при спонтанном начале родовой деятельности или необходимости преиндукции родов при ПРПО в сроке беременности 34–36 нед.

При анализе осложнений течения настоящей беременности были выявлены потенциальные факторы риска ПР и ПРПО. У всех женщин групп сравнения во всех триместрах беременности имелись признаки угрожающего спонтанного аборта или угрожающих ПР. Кроме того, более чем у 1/3 женщин основной и контрольной групп были симптомы начавшегося спонтанного аборта в I триместре беременности, также более чем у 1/3 женщин основной и контрольной групп I триместр осложнился отслойкой хориона (размеры 10–1,5 мм × 2,2–3,5 мм × 3,2–6,2 мм). Выявлены признаки первичной плацентарной недостаточности (помимо отслойки, кольцевидная форма хориона) у 6 и 12% женщин. Было отмечено отсутствие преэклампсии у женщин основной и контрольной групп. Это, вероятно, связано с отсутствием у них значимой экстрагенитальной патологии. Несмотря на первичную плацентарную недостаточность (ПН) и неоднократные эпизоды угрожающего/начавшегося спонтанного аборта, проводимая симптоматическая терапия, динамическое наблюдение, по всей вероятности, способствовали полноценной инвазии трофобласта. Тем не менее компенсированная ПН была выявлена у 10 и 25% женщин основной и контрольной групп в III триместре беременности. Заслуживает внимания наличие анемии у обследованных женщин как фактора риска ПР и ПРПО, которая выявлена только в легкой степени у 6 и 14% женщин основной и контрольной групп начиная с I триместра беременности. Отметим, что анемия во II триместре беременности была диагностирована только у тех же женщин, у которых в I триместре беременности диагностировалась ретрохориальная гематома.

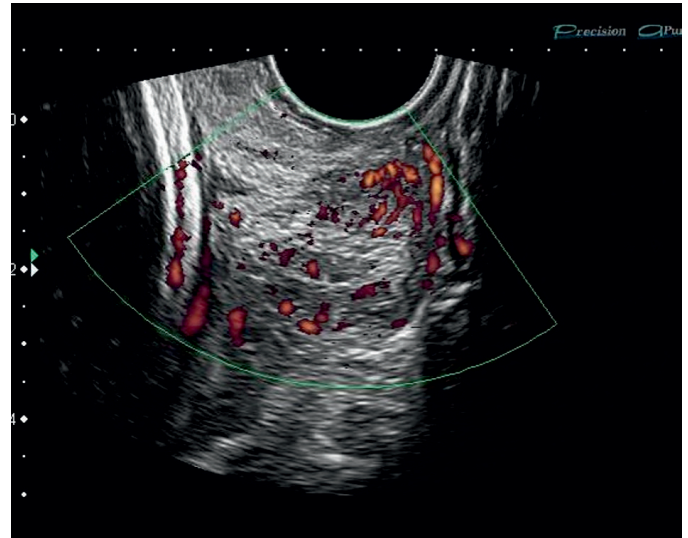
Частота многоводия была различной в группах сравнения и колебалась от 6 до 22%. Однако у женщин основной группы многоводие наблюдалось достоверно чаще, чем в группе контроля (в 22% случаев против 6%, $p < 0,05$) при среднем индексе амниотической жидкости $20,6 \pm 0,32$ в основной группе против $19,6 \pm 0,2$ в контроле. По-видимому, одной из основных причин развития ПРПО у этих женщин явилось перерастяжение матки избыточным количеством околоплодных вод.

Надо особо отметить, что у женщин основной и контрольной групп ПРПО происходил без начала регулярной родовой деятельности. У женщин основной группы, кроме подтекания околоплодных вод, не было никаких дополнительных симптомов начала ПР, таких как повышение базального тонуса, кровянистые выделения из половых путей, регулярная сократительная активность матки. У женщин группы контроля в 16% наблюдений отмечались слизисто-кровянистые выделения из половых путей в незначительном количестве как следствие раскрытия маточного зева, у 80% выявлены незначительные, кратковременные, непродолжительные и самостоятельно купировавшиеся схваткообразные боли внизу живота, незначительные боли в пояснице. У всех женщин группы контроля, в отличие от женщин основной группы, периодически регистрировали повышенный базальный тонус — до 10 мм рт.ст. У женщин группы контроля развитие родовой деятельности отмечалось в течение первых суток после ПРПО. При средней длительности родов $6,38 \pm 0,21$ ч у 75% женщин безводный промежуток составил 12 ч и менее, у 21% — более 18 ч и менее, у 4% — 24 ч и менее. Таким образом, можно предположить, что у женщин группы контроля ПРПО был проявлением ПР. Вероятно, начавшиеся ПР, сопровождавшиеся характерными биологическими изменениями шейки матки, явились причиной для формирования плодного пузыря вплоть до ПРПО. У женщин основной группы длительность безводного периода была достоверно больше, чем в группе контроля. При средней длительности родов $6,92 \pm 0,22$ ч безводный промежуток составил $28,45 \pm 1,5$ ч (19–48 ч) ($p < 0,01$).

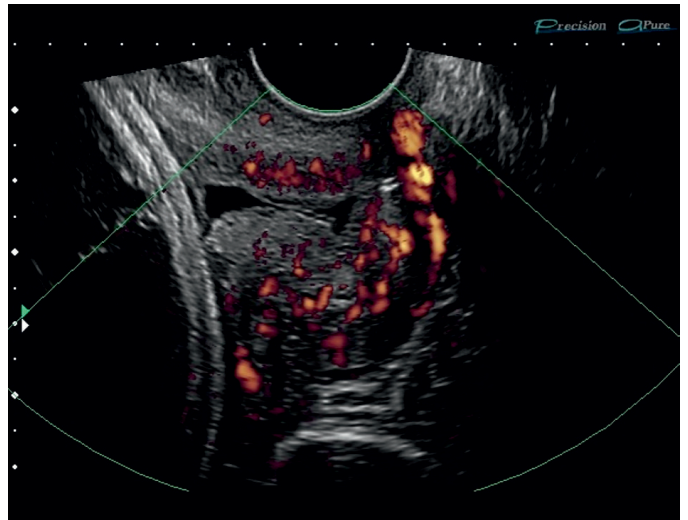
Для развития регулярной родовой деятельности доза Динопростона, приведшая к преиндукции родов, составила $1,44 \pm 0,07$ мг. При этом у 48% повторнородящих женщин однократная дозировка составила 0,5 мг, но 44% повторнородящих женщин понадобилась вторая доза Динопростона — 0,5 мг. У 52% первородящих женщин однократная дозировка составила 1,0 мг Динопростона, но 46% первородящих женщин понадобилась вторая доза Динопростона — 1,0 мг. Таким образом, 90% женщин потребовалось двукратное введение Динопростона для преиндукции родов.

«Зрелость» шейки матки по шкале Бишопа с началом родов у женщин основной группы соответствовала условиям для преиндукции родов — $7,2 \pm 0,26$ балла, в группе контроля — $7,4 \pm 0,22$ балла. По данным УЗИ средняя длина шейки матки перед преиндукцией родов в основной группе составила $21,3 \pm 0,15$ мм ($p < 0,05$), в группе контроля — $10,94 \pm 0,2$ мм. С началом регулярной родовой деятельности средняя длина шейки матки в основной группе составила $8,4 \pm 0,1$ мм ($p > 0,05$), в группе контроля — $8,0 \pm 0,2$ мм.

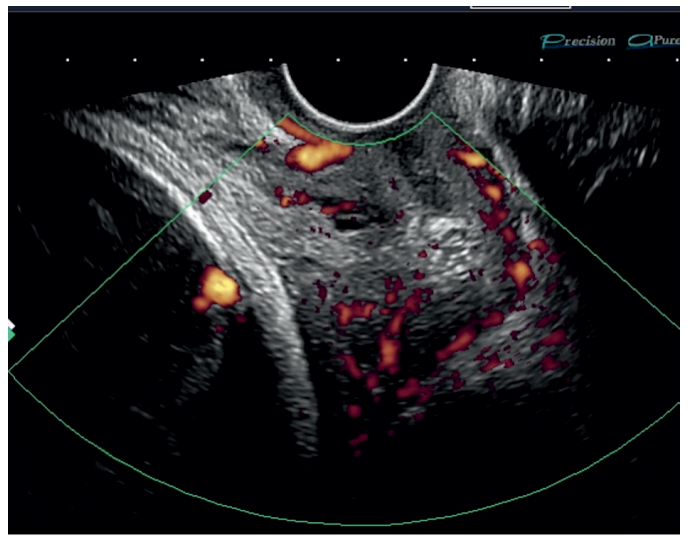
Диаметр внутреннего зева у женщин всех групп исходно был около 20 мм: в основной группе составил $18,4 \pm 0,25$ мм ($p > 0,05$), в группе контроля — $22,1 \pm 0,20$ мм. Установлено, что при отсутствии характерной симптоматики начавшейся регулярной родовой деятельности диаметр внутреннего зева значительно увеличился в основной группе — до $26,0 \pm 1,3$ мм. Следовательно, в сроке беременности $35,6 \pm 1,12$ нед при ПРПО регулярная родовая деятельность, сопровождающаяся биологической



А



Б



В

Рисунок. Энергетическая доплерография шейки матки: А — исходная (24 локуса васкуляризации); Б — после преиндукции родов (34 локуса васкуляризации); В — после преиндукции родов (48 локусов васкуляризации).

трансформацией шейки матки, может начаться задолго до ее клинических проявлений.

При оценке васкуляризации шейки матки с использованием энергетической доплерометрии выяснилось, что у женщин основной группы увеличение числа локусов на 50% и более свидетельствует о положительной динамике преиндукции родов (рисунок); наличие в шейке матки 48 и более локусов васкуляризации стало фактором прогноза развития регулярной родовой деятельности в течение ближайших 18–24 ч.

Время от начала преиндукции родов до начала регулярной родовой деятельности составило в основной группе $18,42 \pm 1,08$ ч ($p < 0,01$), в группе контроля время от ПРПО до начала регулярной родовой деятельности составило $7,7 \pm 0,28$ ч.

При оценке продвижения головки по родовому каналу при помощи трансперинеального УЗИ выяснилось, что среднее расстояние от головки до промежности перед преиндукцией родов в основной группе составило $7,57 \pm 0,08$ см, с началом регулярной родовой деятельности в основной группе — $6,65 \pm 0,07$ см, в группе контроля — $5,42 \pm 0,06$ см. Очевидно, что у женщин с ПРПО и преиндукцией родов в сроке беременности 34–36 нед происходило раскрытие цервикального канала, укорочение шейки матки, продвижение головки по родовому каналу без характерной клинической картины в начальной фазе родов.

Оценка продолжительности родов была в некоторой степени условной, так как выявить действительное начало регулярной родовой деятельности у женщин в основной группе не представилось возможным из-за отсутствия характерной симптоматики начала регулярной сократительной активности матки. Средняя продолжительность родов составила в основной группе $6,92 \pm 0,22$ ч ($p > 0,05$), в группе контроля — $6,38 \pm 0,21$ ч. Все роды происходили в условиях длительной эпидуральной анальгезии. При оценке сократительной активности матки в родах установлено, что у женщин всех групп ее показатели были в пределах нормы. При этом у женщин основной группы средний базальный тонус матки вне схватки был достоверно выше — $10,4 \pm 0,20$ мм рт.ст. ($p < 0,05$), чем у женщин в группе контроля — $9,5 \pm 0,2$ мм рт.ст. Частота схваток за 10 мин в основной группе составила $4,1 \pm 0,11$ ($p < 0,05$), в группе контроля — $3,3 \pm 0,12$. Продолжительность схватки в основной группе составила $76 \pm 1,1$ с ($p < 0,05$), в группе контроля — $62 \pm 0,7$ с. Длительность систолы схватки в основной группе составила $41,0 \pm 0,8$ с ($p < 0,05$), в группе контроля — $32,0 \pm 0,3$ с. Длительность диастолы схватки в основной группе составила $34,4 \pm 0,4$ с ($p < 0,05$), в группе контроля — $37,3 \pm 0,2$ с. Значит, в сроке беременности 34–36 нед при ПРПО преиндукция родов простагландином обуславливает достоверно более высокий уровень сократительной активности матки. Однако ни в одном наблюдении не было проявлений гипертонуса и тахисистолии матки.

При интранатальной диагностике функционального состояния маточно-плодово-плацентарной гемодинамики выяснилось следующее. Только у женщин основной группы выявлено нарушение маточно-плодово-плацентарной гемодинамики. До начала преиндукции родов у 10% женщин

было незначительное нарушение маточно-плацентарной гемодинамики — систолидиастолическое отношение кривых скоростей кровотока (СДО КСК) маточной артерии составило $2,18 \pm 0,01$ у.е. После преиндукции родов выявлено значительное увеличение числа женщин с незначительным нарушением маточно-плацентарного кровотока, но без значительного изменения показателей СДО КСК маточных артерий. Аналогичные изменения обнаружены при нарушении плодово-плацентарного кровотока, выявленного также только у женщин основной группы и только после преиндукции родов: в 8% случаях в основной группе (СДО КСК артерии пуповины — $3,3 \pm 0,01$ у.е.). Маточно-плодово-плацентарное нарушение гемодинамики отмечено также только у женщин основной группы и только после преиндукции родов: в 6% случаев (СДО КСК маточной артерии — $2,19 \pm 0,01$ у.е.; СДО КСК артерии пуповины — $3,25 \pm 0,01$ у.е.).

При анализе метода родоразрешения выяснилось, что у женщин основной группы частота КС (18%) была достоверно выше, чем в группе контроля (5%). Большинство операций в основной группе были выполнены по ургентным показаниям. Так, в 10% случаев родоразрешение путем КС было обосновано преждевременной отслойкой нормально расположенной плаценты, в 4% случаев — изменением положения плода на косое/поперечное. В 4% случаев показанием к КС было ухудшение функционального состояния плода по данным кардиотокографии (брадикардия, длительные глубокие децелерации, появление меконеальной окраски околоплодных вод).

При оценке состояния новорожденного по шкале Апгар на 1-й и 5-й минуте наблюдения межгрупповых отличий не выявлено. На 1-й минуте состояние новорожденного по шкале Апгар в основной группе оценено в $6,82 \pm 0,01$ балла ($p > 0,05$), в группе контроля — $6,85 \pm 0,01$ балла. На 5-й минуте состояние новорожденного по шкале Апгар в основной группе оценено в $7,15 \pm 0,01$ балла ($p > 0,05$), в группе контроля — $7,18 \pm 0,01$ балла. В настоящем исследовании невозможно достоверно утверждать, что состояние новорожденного было обусловлено преиндукцией родов простагландином E_2 , длительным безводным промежутком или недоношенностью. Тем не менее преиндукция родов простагландином E_2 не привела к достоверному ухудшению состояния новорожденного.

Заключение

Преиндукция ПР в сроке беременности 34–36 нед при ПРПО остается проблемой, требующей дальнейшего углубленного изучения. Сохраняется множество вопросов, касающихся исходной биологической готовности организма к родовой деятельности при недоношенной беременности, возможности развития спонтанной родовой деятельности при ПРПО и при необходимости — проведения преиндукции родов. Изучение особенностей рецепторного аппарата матки (количество рецепторов утеротонинов и утеротропинов, их генотип, возможный полиморфизм), транскриптома миометрия, экспрессии в миометрии простагландин E -синтетазы, ее изоформ до

начала родовой деятельности и после нее поможет прогнозировать особенности сократительной активности матки, эффективность преиндукции родов. Дальнейшие исследования различных методов оценки эффективности преиндукции родов в различные сроки гестации позволят титровать дозу преиндуктора родов при ПРПО, особенно при недоношенной беременности.

Литература

1. Клинические рекомендации. Акушерство и гинекология. 4-е изд., перераб. и доп. / Под ред. В.Н.Серова, Г.Т.Сухих. М.: ГОЭТАР-Медиа, 2014. 1024 с.
2. Adeniji A.O., Atanda O.O.A. Interventions and neonatal outcomes in patients with premature rupture of fetal membranes at and beyond 34 weeks gestational age at a tertiary health facility in Nigeria // *British Journal of Medicine & Medical Research*. 2013. V.3 (4). P.1388–1397.
3. Алеев И.А. Преждевременный разрыв плодных оболочек. Информационное письмо / Под ред. В.Е.Радзинского, И.М.Ордянец. М.: Медиабюро Status Praesens, 2011. 20 с.
4. Alabama Perinatal Excellence Collaborative (APEC). Guidelines: Premature rupture of membranes. Protocol 9, version 3. 2013. P.7.
5. Buchanan S.L., Crowther C.A., Levett K.M. et al. Planned early birth versus expectant management for women with preterm prelabour rupture of membranes prior to 37 weeks' gestation for improving pregnancy outcome // *Cochrane Database Syst Rev*. 2010 Mar 17. Issue 3. CD004735. doi: 10.1002/14651858.CD004735.pub3.
6. Carroll S., Knowles S. Clinical practice guideline: preterm prelabour rupture of the membranes / Institute of Obstetricians and Gynaecologists, Royal College of Physicians of Ireland and Directorate of Strategy and Clinical Care, Health Service Executive. 2013. Version 1.0. Guideline №24. P.19.
7. Mohr T. Premature rupture of the membranes // *Gynekol Endokrinol*. 2009. V.5 (1). P.28–36.
8. Romero R., Chaiworapongsa T., Savasan Z.A. et al. Clinical chorioamnionitis is characterized by changes in the expression of the alarmin HMGB1 and one of its receptors, sRAGE // *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2012. V.25. P.558–567.
9. Баев О.Р. Медикаментозная подготовка шейки матки к родам и родовозбуждение. Клинический протокол. М.: Планида, 2013. 24 с.
10. Dowswell T., Kelly A.J., Livio S. et al. Different methods for the induction of labour in outpatient settings // *Cochrane Database Syst Rev*. 2010 Aug 4. Issue 8. CD007701. doi: 10.1002/14651858.CD007701.pub2.
11. Mozurkewich E.L., Chilimigras J.L., Berman D.R. et al. Methods of induction of labour: a systematic review [Electronic resource] // *PMC [Official website]*. *BMC Pregnancy & Childbirth*. 27.10.2011. doi: 10.1186/1471-2393-11-84.
- URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3224350/> (accessed: 28.11.2013).
12. Novikova V.A., Tkachenko L.V., Autleva S.R., Rybalka E.V. The effectiveness of preinduction of preterm labor in case of prom at 34–36 weeks of the gestation // *Textbook of The 18-th World Congress on Building Controversies in Obstetrics, Gynecology and Infertility (COGI)*: Editor Z.Ben-Rafael. Milano–Italy, 2014. P.172–176.
13. WHO recommendations for induction of labour. Switzerland, 2011. P.39.
14. Barbera A.F., Pombar X., Perugino G. et al. A new method to assess fetal head descent in labor with transperineal ultrasound // *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2009. V.33. P.313–319.
15. Eggebo T.M., Gjessing L.K., Heien C. et al. Prediction of labor and delivery by transperineal ultrasound in pregnancies with prelabor rupture of membranes at term // *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2006. V.27. P.387–391.

Информация об авторах:

Чернобай Елена Георгиевна, кандидат медицинских наук, заведующая вторым акушерским отделением Перинатального центра Краевой клинической больницы № 2
 Адрес: 350012, Краснодар, ул. Красных партизан, 6/2
 Телефон: (861) 222-0209
 E-mail: vladislavan@mail.ru

Аутлева Сусанна Руслановна, аспирант кафедры акушерства, гинекологии и перинатологии ФПК и ППС Кубанского государственного медицинского университета
 Адрес: 350063, Краснодар, ул. Седина, 4
 Телефон: (861) 222-0114
 E-mail: vladislavan@mail.ru

Асеева Евгения Владимировна, аспирант кафедры акушерства, гинекологии и перинатологии ФПК и ППС Кубанского государственного медицинского университета
 Адрес: 350063, Краснодар, ул. Седина, 4
 Телефон: (861) 222-0114
 E-mail: vladislavan@mail.ru

Торосян Кристина Эдуартовна, аспирант кафедры акушерства, гинекологии и перинатологии ФПК и ППС Кубанского государственного медицинского университета
 Адрес: 350063, Краснодар, ул. Седина, 4
 Телефон: (861) 222-0114
 E-mail: vladislavan@mail.ru

Каменских Гаянэ Валериевна, врач акушер-гинеколог второго акушерского отделения Перинатального центра Краевой клинической больницы № 2
 Адрес: 350012, Краснодар, ул. Красных партизан, 6/2
 Телефон: (861) 222-0209
 E-mail: vladislavan@mail.ru

Глебова Евгения Владимировна, врач акушер-гинеколог, врач ультразвуковой диагностики Перинатального центра Детской краевой клинической больницы
 Адрес: 350007, Краснодар, ул. Площадь Победы, 1
 Телефон: (861) 265-8003
 E-mail: vladislavan@mail.ru

Роль полиморфизма генов ферментов системы обмена катехоламинов и эксцизионной репарации ДНК в генезе невынашивания беременности

О.В.Макаров, К.В.Морозова, В.С.Гончарова, Н.Н.Луценко

Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, кафедра акушерства и гинекологии № 1 лечебного факультета, Москва (зав. кафедрой — проф. О.В.Макаров)

Невынашивание беременности по-прежнему занимает ведущее место среди основных проблем современной медицины. В последние десятилетия особое внимание уделяется системным генетическим предикторам невынашивания беременности. За процессы обмена катехоламинов в организме отвечают специальные ферменты, одним из них является катехол-о-метилтрансфераза, функциональная активность которого генетически детерминирована. Система эксцизионной репарации ДНК при участии фермента 8-оксогуанин-ДНК-гликозилазы обеспечивает поддержание исходной структуры ДНК, что крайне важно для гомеостаза организма. В исследовании проведено генотипирование 274 пациенток на наличие полиморфизма rs4680 гена *COMT* и полиморфизма rs1052133 гена *OGG1* и определено их влияние на течение беременности. Установлено, что носительство генотипов A/A и G/A rs4680 гена *COMT* и генотипов G/G и C/G rs1052133 гена *OGG1* ассоциировано с повышенным риском невынашивания беременности.

Ключевые слова: невынашивание беременности, полиморфизм генов, эксцизионная репарация ДНК, катехоламины

The Role of Gene Enzymes Polymorphism of Catecholamines Exchange System and DNA Excision Reparation in the Genesis of Miscarriage

O.V.Makarov, K.V.Morozova, V.S.Goncharova, N.N.Lutsenko

Pirogov Russian National Research Medical University, Department of Obstetrics and Gynecology № 1 of Medical Faculty, Moscow (Head of the Department — Prof. O.V.Makarov)

Miscarriage still occupies a leading place among the main problems of medicine. In recent decades, special attention is paid to the system of genetic predictors of miscarriage. Special ferments are responsible for catecholamines exchange in the body, one of which is the catechol-o-methyltransferase, functional activity of which is genetically determined. DNA excision reparation system with the participation of the enzyme 8-oxoguanine-DNA glycosylase maintains the original structure of DNA, which is very important for the homeostasis of the organism. In our study we conducted genotyping of 274 patients for the presence of polymorphism of rs4680 gene *COMT* and polymorphism of rs1052133 gene *OGG1* and determined their impact on the course of pregnancy. It was found that carriage of A/A and G/A rs4680 genotypes of *COMT* gene and G/G and C/G rs1052133 genotypes of *OGG1* gene was associated with an increased risk of miscarriage.

Key words: miscarriage, polymorphism of genes, DNA excision reparation, catecholamines

Несмотря на активное развитие современной медицины, невынашивание беременности остается одной из наиболее актуальных и нерешенных до настоящего вре-

мени проблем. Согласно статистическим данным около 15–20% всех клинически установленных беременностей заканчиваются самопроизвольным выкидышем [1]. Более половины из них приходится на I триместр беременности, во II триместре происходит снижение частоты выкидышей до 20%, в III триместре — до 7–10% и далее не изменяется вплоть до родов. Среди основных причин невынашивания беременности выделяют анатомические, инфекционные, иммунологические, эндокринные и другие комплексные факторы. Несмотря на многочисленные научные изыскания, в 30% случаев причину самопроизвольных выкидышей установить не удается, поэтому большую

Для корреспонденции:

Морозова Ксения Владимировна, аспирант кафедры акушерства и гинекологии № 1 лечебного факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова

Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1

Телефон: (499) 613-5640

E-mail: morozovack@mail.ru

Статья поступила 15.01.2014, принята к печати 20.02.2014

актуальность представляет изучение глубинных процессов в организме, предрасполагающих к репродуктивным потерям. В последние годы пристальное внимание ученых обращено на исследование генетических факторов предрасположенности к мультифакториальным заболеваниям, включая невынашивание беременности [1]. Среди множества причин следует отдельно упомянуть негативное влияние стресса на организм беременных, так как в современных условиях жизни подавляющее большинство женщин вынужденно испытывать на себе его дестабилизирующее воздействие.

При стрессе в организме резко возрастает активность многих систем, включая повышенную выработку катехоламинов как основных нейромедиаторов передачи информации в ЦНС. Гиперпродукция катехоламинов влечет за собой мобилизацию всех систем организма, что носит приспособительный характер, однако в условиях длительного воздействия возникает истощение защитных систем с активацией разрушающих механизмов [2].

В организме за метаболизм и элиминацию катехоламинов отвечает целый каскад реакций, протекающих при участии фермента катехол-О-метилтрансферазы, выработка которого регулируется экспрессией гена *COMT*. При полноценном функционировании ферментативной системы происходит поддержание катехоламинов на физиологическом уровне. Однако при снижении активности катехол-О-метилтрансферазы возникает чрезмерное их накопление, что напрямую воздействует на органы-мишени, в том числе и на матку, приводя к изменению ее тонуса и нарушению маточно-плацентарного кровотока [3, 4].

Другая важная функция фермента катехол-О-метилтрансферазы — осуществление элиминации эстрогенов [5, 6]. При снижении активности фермента происходит накопление катехолэстрогенов, которые, в свою очередь, оказывают генотоксическое воздействие на молекулы ДНК, вызывая их прямое повреждение и усиливая мутагенез [5].

За период жизненного цикла в каждой клетке под действием эндогенных и экзогенных факторов происходит от 10^5 до 10^{10} мутаций в молекуле ДНК, которые имеют положительное значение, являясь основой эволюции, но также могут приводить к развитию целого ряда заболеваний при недостаточности репаративной системы [7]. Исходную структуру ДНК поддерживает слаженная работа всех звеньев системы репарации ДНК. Один из самых сложных механизмов репарации — эксцизионная репарация ДНК, а наиболее важный фермент такой репарации — 8-оксогуанин-ДНК-гликозилаза, кодируемая геном *OGG1* [7]. Изменения в структуре гена *OGG1* могут сопровождаться экспрессией фермента 8-оксогуанин-ДНК-гликозилазы со сниженной активностью, что приводит к уменьшению эффективности репарации и усилению мутагенеза. Все вышеперечисленные процессы негативно влияют на гомеостаз организма, который особенно важен для формирования и развития эмбриона.

В последнее время установлено, что полиморфизм генов, кодирующих выработку ферментов, может приводить к значительным изменениям их активности, что, в свою очередь, отражается на их функциональной состоятельно-

сти. Полиморфизм генов неоспоримо связан с развитием многих мультифакториальных заболеваний [7–10].

Цель исследования — изучение влияния носительства аллелей полиморфизма rs4680 гена *COMT* и полиморфизма rs1052133 гена *OGG1* на исход первой половины беременности.

Пациенты и методы

Объектом исследования были 274 женщины, 151 из которых имели в анамнезе 2 и более эпизодов потери беременности на сроке плода более 7 нед гестации, включая случаи анэмбрионии и беременности, наступившие в результате ЭКО. Группу контроля составили 123 женщины с двумя и более нормальными беременностями в анамнезе, протекавшими без угрозы прерывания и закончившимися самопроизвольными родами. Критерием включения пациенток в контрольную группу также было отсутствие эпизодов невынашивания беременности в анамнезе. Все отобранные женщины были славянской национальности, а также проживали в идентичных территориально-климатических условиях (Москва и Московская обл.).

Всем пациенткам, включенным в наше исследование, провели полное клинико-лабораторное обследование в целях исключения явных причин невынашивания. Обязательным исследованием для основной группы также было кариотипирование абортусов для исключения грубой аномалии кариотипа плода как фактора прерывания беременности.

Были проведены молекулярно-генетические исследования, материалом для которых служила периферическая кровь обследованных женщин. Для этого осуществляли забор 5 мл венозной крови в пробирку, содержащую консервант — раствор K_3EDTA , в соотношении 1:10, с дальнейшим хранением образцов при температуре $-20... -80$ °C вплоть до постановки реакции. Выделение ДНК производили с использованием наборов реактивов Diatom DNA Prep 200 (ООО «Лаборатория Изоген», Россия) согласно протоколу, заявленному производителем.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием критерия χ^2 . Для оценки достоверности различий частот бинарных показателей использовали трендовый тест Армитажа. Вклады различных генотипов в заболеваемость определяли с помощью традиционного для таких исследований показателя отношения шансов (OR, odds ratio).

Результаты исследования и их обсуждение

Предметом исследования был однонуклеотидный полиморфизм rs4680 гена *COMT*, при котором возникает замена азотистого основания гуанина на аденин в структуре нуклеотида, в результате чего в молекуле белка аминокислота валин замещается метионином [2]. В популяции европеоидов наиболее часто встречается гетерозиготный генотип G/A (около 45%), гомозигота по мутантному аллелю А наблюдается у 30% европеоидов и самый редкий гомозиготный генотип G/G — у

17% европеоидов. Согласно ранее проведенным исследованиям данную мутацию сопровождает изменение активности экспрессируемого фермента катехол-О-метилтрансферазы [2, 11]. Несмотря на столь активное исследование однонуклеотидного полиморфизма rs4680 гена *COMT*, его возможная роль в предрасположенности к репродуктивным потерям ранее не изучалась. Нам представлялось интересным проследить связь носительства аллелей rs4680 гена *COMT* и риска невынашивания первой половины беременности.

По результатам проведенного генотипирования установлено, что распределение генотипов в основной и контрольной группах соответствовало равновесию Харди–Вайнберга. Гомозиготный генотип A/A у женщин с репродуктивными потерями составил 29% ($n = 26$), что несколько выше по сравнению с группой здоровых женщин, однако разница не была достоверна. Гетерозиготный генотип G/A в основной группе выявлен у 57,80% ($n = 52$), что близко к группе контроля, где частота встречаемости составила 42,47% ($n = 48$), достоверной разницы также не установлено. Гомозиготу по дикому аллелю G, при котором происходит выработка полноценного фермента катехол-О-

метилтрансферазы, наблюдали у 37 (33%) здоровых женщин, тогда как в группе пациенток с невынашиванием беременности частота встречаемости была достоверно ниже и составила 13,3% ($n = 12$), $\chi^2 = 0,31$, $p = 0,0013$ (рис. 1).

По результатам проведенного аддитивного теста Кохрана–Армитажа выявлено, что минорный аллель A у пациенток с невынашиванием беременности наследовался по доминантной модели, согласно которой оба генотипа A/A и G/A являются рисковыми в отношении репродуктивных потерь у этих пациенток ($\chi^2 = 5,47$; $p = 0,02$). Было также установлено, что, по сравнению с аллелем G, носительство аллеля A ассоциировано с повышенным риском невынашивания первой половины беременности (OR = 1,61; $p = 0,02$; 95% df — 1,06–2,43).

Мы обратили внимание на тот факт, что у пациенток с привычным невынашиванием беременности, которые составили основную группу, частота миомы матки, аденомиоза и фиброзно-кистозной мастопатии была значительно выше. Поэтому было решено проследить связь носительства аллелей rs4680 (G 1947A) гена *COMT* с частотой развития вышеперечисленных эстрогензависимых заболеваний (рис. 2).

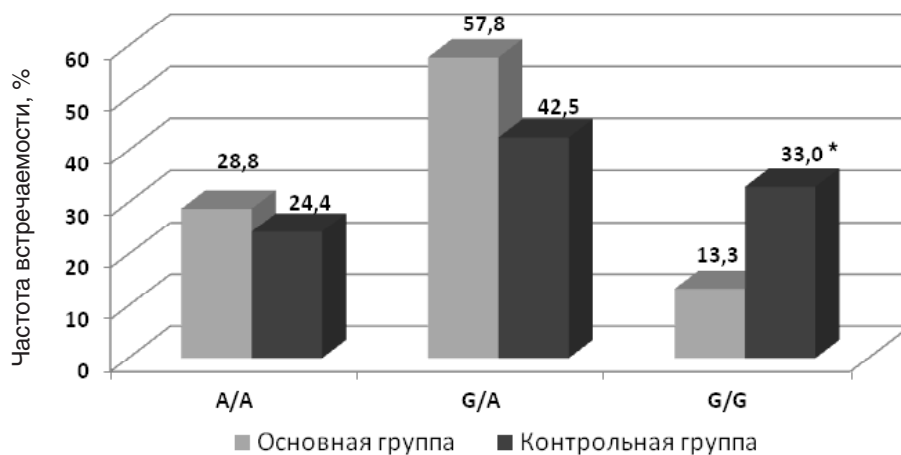


Рис. 1. Распределение генотипов полиморфного локуса rs4680 (G1947A) гена *COMT* у пациенток основной и контрольной групп. * — $p < 0,05$ при сравнении с соответствующим значением основной группы.

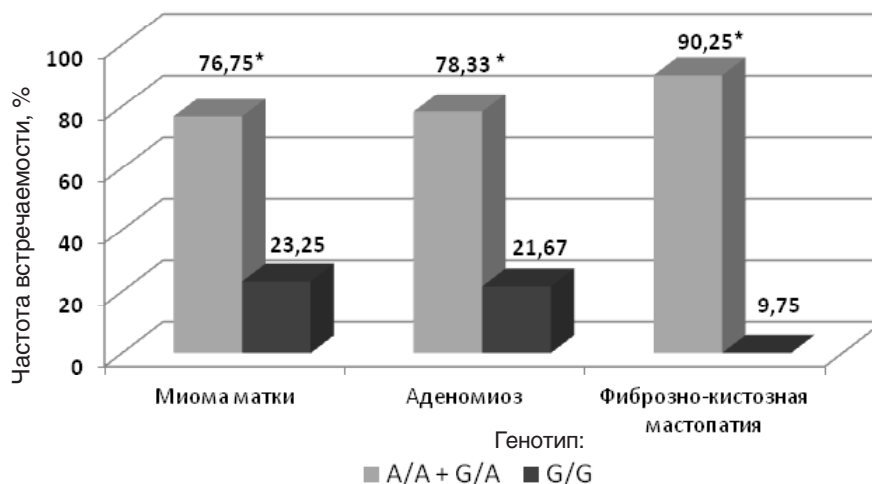


Рис. 2. Распределение частоты встречаемости эстрогензависимых заболеваний в зависимости от генотипа G1947A rs4680 гена *COMT*. * — $p < 0,05$ при сравнении с соответствующим значением генотипа rs4680 G/G *COMT* (с нормальной активностью фермента).

В нашем исследовании среди женщин носителей аллеля А в гомо- и гетерозиготном состоянии аденомиоз встречался достоверно чаще ($\chi^2 = 2,78$; $p = 0,0004$). Установлена также более частая заболеваемость миомой матки при наличии генотипов А/А и G/A ($\chi^2 = 3,35$; $p = 0,0003$). Более 90% носителей мутантного аллеля А в гомо- и гетерозиготном состоянии были подвержены развитию фибронокистозной мастопатии, тогда как у женщин с генотипом G/G данная патология отмечена крайне редко ($\chi^2 = 28,71$; $p < 0,0001$) (см. рис. 2).

Полученные результаты позволяют предположить, что носительство аллеля А rs4680 гена *COMT*, сопровождающееся снижением активности экспрессируемого фермента катехол-о-метилтрансферазы, может определять чрезмерное накопление катехолэстрогенов с активизацией их генотоксических свойств, в результате чего возможно увеличение вероятности развития не только соматических заболеваний различной локализации, но и риска осложненного течения беременности.

В клетках человека все процессы реализуются на основе информации, заложенной в молекуле ДНК, поэтому поддержание стабильности генома крайне важно для гомеостаза организма. Сохранение исходной структуры ДНК происходит благодаря слаженному взаимодействию репаративных механизмов, одним из которых является система эксцизионной репарации [12]. Среди основных ферментов эксцизионной репарации ДНК можно выделить 8-оксогуанин-ДНК-гликозилазу (*OGG1*), при участии которой происходит восстановление поврежденных и окисленных оснований. Однонуклеотидные замены, возникающие в случае нарушения структуры гена *OGG1*, по-разному влияют на функциональную способность экспрессируемого фермента [7]. В данном исследовании нами изучен один из наиболее значимых полиморфных вариантов rs1052133 гена *OGG1*, который характеризуется изменением нуклеотидной последовательности с заменой азотистого основания цитозин на гуанин, что в свою очередь приводит к замене аминокислоты серин на цистеин в молекуле белка. Согласно

данным литературы носительство минорного аллеля G ассоциировано с уязвимостью репаративной системы и, как следствие, развитием многих мультифакторных заболеваний, в том числе и онкологических [12–15]. Недавно установлена роль аллеля G в развитии спонтанных хромосомных aberrаций в условиях радиационного загрязнения [7]. Авторами было принято решение проанализировать влияние носительства полиморфных аллелей rs1052133 гена *OGG1* на течение беременности, особенно учитывая тот факт, что подобные исследования в контексте невынашивания беременности отсутствуют.

В результате проведенного генотипирования установлено, что распределение генотипов rs1052133 гена *OGG1* соответствовало равновесию Харди–Вайнберга. Дикий аллель С в гомозиготном состоянии был выявлен у 54 (59%) пациенток с невынашиванием беременности, тогда как в группе контроля его наблюдали несколько чаще, в 87 (72%) случаях. Полученные данные совпали с общепопуляционными для европеоидов (60%), а разница между группами не была статистически значима (рис. 3). Гетерозиготный генотип C/G в основной группе отмечен в 33 (36,3%) случаях, что практически совпало с показателями в группе здоровых женщин — 33 (27,2%) и соответствовало данным по популяции европеоидов в целом — 30% (см. рис. 3). Минорный аллель G в гомозиготном состоянии выявлен у 4 (4,39%) пациенток с невынашиванием беременности, тогда как среди здоровых женщин установлен всего один случай носительства генотипа G/G в нашем исследовании ($\chi^2 = 4,1$; $p = 0,04$). Статистически значимая разница указывает на неблагоприятный характер генотипа G/G (см. рис. 3).

Согласно проведенному статистическому анализу выявлена доминантная модель наследования аллеля G, что характеризует оба генотипа G/G и C/G как рискованные. Установлено также, что носительство аллеля G характеризуется повышенным риском репродуктивных потерь в первые 10 нед гестации (OR = 1,72; $p = 0,04$; 95% df — 0,34–0,99).

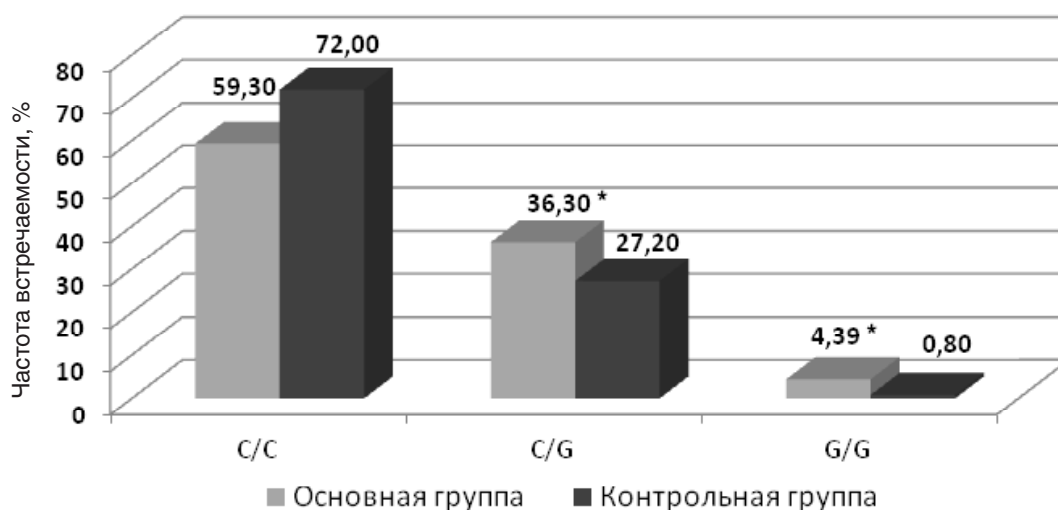


Рис. 3. Распределение генотипов полиморфного локуса rs1052133 (C977G) гена *OGG1* у пациенток основной и контрольной групп.
* — $p < 0,05$ при сравнении с соответствующим значением контрольной группы.

Заключение

Установленная взаимосвязь носительства полиморфных вариантов генов ферментов обмена катехоламинов и эксцизионной репарации ДНК с повышенным риском невынашивания беременности имеет большое клиническое значение. В комплексе прекоцепционной подготовки пациенток с репродуктивными потерями в анамнезе исследование на предмет носительства генотипов A/A и G/A в локусе rs4680 гена *COMT* и генотипов G/G и C/G в локусе rs1052133 гена *OGG1* позволит выделить группы риска по неблагоприятному течению беременности с последующей разработкой профилактических и терапевтических мероприятий, направленных на снижение числа репродуктивных потерь.

Литература

1. Баранов В.С., Айламазян Э.К. Экологические и генетические причины нарушения репродуктивного здоровья и их профилактика // Журн. акуш. и женск. бол. 2007. Т.LVI. Вып.1. С.3–10.
2. Feng Y., Zhao X., Zhou C. et al. The associations between the Val158Met in the catechol-O-methyltransferase (COMT) gene and the risk of uterine leiomyoma (ULM) // *Gene*. 2013. V.529 (2). P.296–299.
3. Tiihonen J., Hallikainen T., Lachman H. et al. Association between the functional variant of the catechol-O-methyltransferase (COMT) gene and type 1 alcoholism // *Mol Psychiatry*. 1999. V.4 (3). P.286–289.
4. Wang X., Wang Z., Wu Y. et al. Association analysis of the catechol-O-methyltransferase /methylene tetrahydrofolate reductase genes and cognition in late-onset depression // *Psychiatry Clin Neurosci*. 2013 Dec 25. doi: 10.1111/pcn.12133. PMID:24373005.
5. Cavalieri E., Frenkel K., Liehr J.G. et al. Estrogens as endogenous genotoxic agents — DNA adducts and mutations // *J Natl Cancer Inst Monogr*. 2000. №27. P.75–93.
6. Середа Е.Е., Кондакова И.В., Слонимская Е.М. Ферменты метаболизма эстрогенов и рецепторы как факторы риска развития и прогноза при раке молочной железы // *Сибирск. онкол. журн*. 2004. №1. С.35–43.
7. Salnikova L., Chumachenko A., Belopolskaya O., Rubanovich A. Correlations between DNA polymorphism and frequencies of gamma-radiation induced and spontaneous cytogenetic damage // *Health Phys*. 2012. V.103 (1). P.37–41.
8. Zhang J., Zhou J., Zhang P. et al. A meta-analysis of the association between the hOGG1 Ser326Cys polymorphism and the risk of esophageal squamous cell carcinoma // *PLoS One*. 2013. V.8 (6). e65742. doi: 10.1371.
9. Zhang H., Xu Y., Zhang Z., Li L. The hOGG1 Ser326Cys polymorphism and prostate cancer risk: a meta-analysis of 2584 cases and 3234 controls // *BMC Cancer*. 2011. V.11. P.391.
10. Kuraoka I., Suzuki K., Ito S. et al. RNA polymerase II bypasses 8-oxoguanine in the presence of transcription elongation factor TFIIIS // *DNA Repair (Amst)*. 2007. V.6 (6). P.841–851.
11. Houston J.P., Kohler J., Ostbye K.M. et al. Association of catechol-O-methyltransferase variants with duloxetine response in major depressive disorder // *Psychiatry Res*. 2011. V.189 (3). P.475–477.
12. Chen X., Liu X., Wang J. et al. Functional polymorphisms of the hOGG1 gene confer risk to type 2 epithelial ovarian cancer in Chinese // *Int J Gynecol Cancer*. 2011. V.21 (8). P.1407–1413.
13. Maga G., Villani G., Crespan E. et al. 8-oxo-guanine bypass by human DNA polymerases in the presence of auxiliary proteins // *Nature*. 2007. V.447. P.606–608.
14. Plum G.E., Grollman A.P., Johnson F., Breslauer K.J. Influence of the oxidatively damaged adduct 8-oxodeoxyguanosine on the conformation, energetics, and thermodynamic stability of a DNA duplex // *Biochemistry*. 1995. V.34 (49). P.16148–16160.
15. Sun C., Liu X., Zhang H. et al. Functional polymorphism of hOGG1 gene is associated with type 2 diabetes mellitus in Chinese population // *Mol Cell Endocrinol*. 2010. V.325 (1–2). P.128–134.

Информация об авторах:

Макаров Олег Васильевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой акушерства и гинекологии № 1 лечебного факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (499) 237-4033
E-mail: profmakarov@mail.ru

Гончарова Варвара Сергеевна, аспирант кафедры акушерства и гинекологии № 1 лечебного факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (499) 613-5640
E-mail: v_seredenina@mail.ru

Луценко Николай Николаевич, кандидат медицинских наук, доцент кафедры акушерства и гинекологии № 1 лечебного факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (499) 613-5640
E-mail: lnn55@mail.ru

Применение робот-ассистированных операций в гинекологии (обзор литературы)

Н.И.Насырова^{1,2}, Л.А.Озолина¹, М.С.Борисова¹, Н.Г.Аскерова¹

¹Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, кафедра акушерства и гинекологии № 1 лечебного факультета, Москва (зав. кафедрой — проф. О.В.Макаров);

²Центральная клиническая больница гражданской авиации, Москва (главный врач — проф. Н.Б.Забродина)

В статье представлен обзор литературы, посвященный использованию робота «Da Vinci» при выполнении операций в гинекологии и онкогинекологии. Обсуждается опыт нескольких авторских коллективов, которые провели анализ применения робот-ассистированных операций по поводу рака тела матки, рака шейки матки, миомы матки и патологии маточных труб в сравнении с аналогичными операциями, выполненными без робота лапароскопическим или лапаротомическим доступом. Установлено, что применение робототехники значительно улучшает качество выполнения операции, при этом также снижаются кровопотеря, болевой синдром в послеоперационном периоде и продолжительность нахождения в стационаре. Вместе с тем при отсутствии должного опыта продолжительность операции удлиняется, увеличивается также и стоимость операции из-за высоких цен на расходные материалы. Однако, как отмечают авторы, после пятидесяти успешно проведенных с помощью робота операций их продолжительность уменьшается и становится сопоставимой с традиционными операциями, а стоимость расходных материалов в ближайшем будущем будет снижаться. Именно поэтому данный метод оперативного лечения в гинекологии можно считать прогрессивным и перспективным.

Ключевые слова: робот-ассистированные операции, рак тела матки, рак шейки матки, миома матки, патология маточных труб

Robot Assisted Operations in Gynecology (Review)

N.I.Nasyrova^{1,2}, L.A.Ozolinya¹, M.S.Borisova¹, N.G.Askerova¹

¹Pirogov Russian National Research Medical University, Department of Obstetrics and Gynecology № 1 of Medical Faculty, Moscow (Head of the Department — Prof. O.V.Makarov);

²Central Clinical Hospital of Civil Aviation, Moscow (Chief Doctor — Prof. N.B.Zabrodina)

The article presents a review of literature on the use of the «Da Vinci» surgical robot when conducting gynecological and oncogynecological surgeries. The experience of a few authorial collectives which have analyzed the use of robot assisted surgeries concerning the endometrial cancer, cervical cancer, hysteromyoma and the tubal pathology is discussed and compared to the similar surgeries performed without a robot by a laparoscopic or laparotomic access. The results of the comparative analysis have shown that the use of the robotics significantly improves the quality of the surgery and there is a decrease in loss of blood, pain syndrome during the postsurgical period as well as the time spent in the in-patient department. On the other hand, without proper experience the duration of the surgery becomes longer and the cost of the surgery goes up, considering the high cost of the materials used. However, as noted by the authors, after fifty successfully performed operations conducted by the robot their duration reduces and becomes comparable with the traditional operations, and the cost of the materials used is going to go down in the near future. That is why this method of surgical treatment in gynaecology considered as a progressive and perspective one.

Key words: robot assisted operations, endometrial cancer, cervical cancer, hysteromyoma, tubal pathology

На современном этапе развития медицины все большее значение приобретают высокотехнологичные ме-

тодики лечения. Эта тенденция достоверно прослеживается в таких областях, как общая хирургия, урология, кардиоваскулярная хирургия и многие другие. В базе данных Национальной медицинской библиотеки США в настоящее время содержится более 72 тыс. научных статей по высокотехнологичной хирургии, и это количество увеличивается изо дня в день. Ниже представлен обзор современного состояния вопроса робот-ассистированных операций в гинекологии.

Робот-ассистированные операции в гинекологическую практику были внедрены относительно недавно, в 2005 г. [1]. Уже через год на основании исследования А.Р.Advincula

Для корреспонденции:

Озолина Людмила Анатольевна, доктор медицинских наук, профессор кафедры акушерства и гинекологии № 1 лечебного факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова

Адрес: 125367, Москва, Ивановское ш., 7

Телефон: (495) 490-0261

E-mail: ozolinya@yandex.ru

Статья поступила 20.01.2014, принята к печати 20.02.2014

и соавт. (2006) были сделаны выводы о преимуществах такого подхода: относительно более высокая безопасность в связи с увеличением точности действия инструментами и улучшением визуализации (трехмерное изображение), уменьшение кровопотери, потребности в обезболивании после операции и др. В 2008 г. в Rochester General Hospital (США) были подведены итоги выполнения первых 110 операций различных объемов с использованием системы «Da Vinci» (рис. 1, 2), и на основе полученных данных проведены анализ и оценка безопасности, эффективности и исхода операций такого типа [2]. С того момента, по свидетельству J.E.Cho, A.H.Shamshirsaz, C.Nezhat и соавт. [3], роботизированная хирургия в гинекологии является одной из наиболее быстро развивающихся областей высокотехнологичной медицины.

Перечень объемов оперативных вмешательств, выполняемых при помощи минимально инвазивной робот-ассистированной методики, весьма широк и включает

такие операции, как гистерэктомия, миомэктомия, туботомия и неосальпингостомия, сакрокольпопексия, лимфаденэктомия, трахелэктомия после перенесенной ранее супрацервикальной гистерэктомии и многие другие. Преимуществами нового типа оперативного лечения, по данным H.W.R.Schreuder и R.H.M.Verheijen [4], являются снижение интенсивности болевых ощущений пациентами в послеоперационном периоде, лучший косметический эффект, снижение объема кровопотери и уменьшение продолжительности пребывания больных в стационаре. Помимо вышеперечисленных к преимуществам малоинвазивной хирургии с использованием робота «Da Vinci» относится минимизация негативного влияния человеческого фактора во время проведения оперативного вмешательства и, следовательно, уменьшение вероятности ятрогении. По мнению С.С.G.Chen и Т.Falcone, робот-ассистированная хирургия нивелирует фактор тремора рук, делает движения инструмента более четкими и плав-



Рис. 1. Подготовка к гинекологической операции с применением робота «Da Vinci».



Рис. 2. Выполнение гинекологической операции с помощью робота «Da Vinci».

ными, а также улучшает визуализацию операционного поля по сравнению с таковой при классической лапароскопии и лапаротомии [5]. Однако у скептиков возникает резонный вопрос: «Оправдывает ли себя использование данной методики с экономической точки зрения?» Уже в 2010 г. коллектив авторов из Saint Augustinus Hospital (Бельгия) во главе с Peter van Dam провели исследование, подтверждающее экономическую целесообразность использования малоинвазивной робот-ассистированной хирургии в гинекологической практике [6]. Несомненно, стоимость оборудования относительно высока, однако взаимозаменяемость модулей и возможность использования таких устройств, как монитор, видеокамера и прочее, при других типах оперативных вмешательств (лапароскопия, гистероскопия и др.) позволяет частично оправдать затраты [7]. Подобным же образом стоимость малоинвазивной робот-ассистированной хирургии в гинекологии оправдывается за счет снижения средней длительности оперативного вмешательства, уменьшения продолжительности пребывания в стационаре, укорочения сроков реабилитационного периода и, следовательно, скорейшего восстановления трудоспособности пациента.

Ниже приведены данные анализа работ некоторых авторитетных исследователей, практикующих в сфере роботизированных оперативных вмешательств в гинекологии. Проведено сравнение по нескольким параметрам в зависимости от объема оперативного вмешательства и нозологических форм заболеваний.

Тотальная гистерэктомия с удалением забрюшинных лимфоузлов при раке эндометрия

В 2007 г. J.F.Vogges и соавт. провели анализ 144 оперативных вмешательств по поводу рака эндометрия [8].

Из них робот-ассистированных — 43, выполненных традиционным лапароскопическим доступом — 101. Были получены следующие результаты: время операции увеличивалось при использовании робота на 28 мин в сравнении с лапароскопией, время госпитализации при использовании робота было на 0,2 дня короче, а количество удаленных лимфоузлов составило в среднем 6 при использовании робота и 3 — при лапароскопическом доступе ($p > 0,05$). В 2008 г. тот же коллектив авторов приводит данные статистической обработки результатов аналогичных оперативных вмешательств с использованием робота «Da Vinci» у пациенток, страдающих ожирением, в сравнении с группой пациенток с нормальным индексом массы тела (табл. 1).

Показано, что время операции с использованием робот-ассистированной методики у таких пациенток удлиняется на 26 мин относительно группы пациенток с нормальным индексом массы тела, однако количество удаленных лимфоузлов увеличивается на 3, а количество койко-дней пребывания в стационаре уменьшается на 0,3, что в данном контексте является статистически значимым.

В том же 2008 г. J.F.Vogges и соавт. провели сравнение результатов робот-ассистированных тотальных гистерэктомий с удалением забрюшинных лимфоузлов при раке эндометрия и результатов аналогичных операций, выполненных лапаротомическим доступом (103 и 138 больных соответственно, общее число — 241) [9] (табл. 2).

Как видно из табл. 2, имели место статистически значимые различия между операциями, выполненными с помощью робота, и традиционной лапаротомией по некоторым показателям. Заслуживает особого внимания факт удаления в среднем 18 лимфатических узлов, в том числе и парааортальных, при использовании робота по сравнению с 6–8 лимфоузлами — при лапаротомическом доступе.

Таблица 1. Сравнительная характеристика показателей операций тотальной гистерэктомии, проведенных лапароскопическим доступом и робот-ассистированным методом, у пациенток с индексом массы тела, равным 21–25 кг/м² (Borges J.F., 2008) ($n = 144$)

Особенности операции	Da Vinci ($n = 43$)	Традиционная лапароскопия ($n = 101$)
Время оперативного вмешательства, мин	51	22*
Количество койко-дней, проведенных в стационаре	1,6	1,8*
Кровопотеря во время операции, мл	8	71
Среднее количество удаленных лимфатических узлов	6	3*
Отдаленные осложнения, %	24,4	26,8

* — достоверные различия между группами ($p < 0,05$)

Таблица 2. Сравнительная характеристика показателей операций тотальной гистерэктомии, проведенных лапаротомическим доступом и робот-ассистированным методом (Borges J. F., 2008) ($n = 241$)

Особенности операции	Da Vinci ($n = 103$)	Лапаротомия ($n = 138$)
Время оперативного вмешательства, мин	144	44*
Количество койко-дней, проведенных в стационаре	1,8	5,2*
Кровопотеря во время операции, мл	30	191*
Среднее количество удаленных лимфатических узлов	18	8*
Отдаленные осложнения, %	8,6	24,4*

* — достоверные различия между группами ($p < 0,05$)

D.S.Veljovic и соавт. провели аналогичное сравнение в группе из 156 пациенток: у 25 проведено оперативное вмешательство при помощи робота и у 131 — лапаротомическим доступом [10]. По данным этого коллектива авторов, количество койко-дней, проведенных пациенткой в стационаре, после робот-ассистированной операции сократилось на 3,6 дня в сравнении с группой после лапаротомии, а кровопотеря в среднем составила 191 мл при роботизированном вмешательстве и 252 мл — при лапаротомическом доступе.

Таким образом, обеими группами исследователей были получены схожие результаты. Роботизированная тотальная гистерэктомия с удалением забрюшинных лимфоузлов сокращает длительность времени пребывания пациентки в стационаре и значительно снижает кровопотерю в сравнении с лапаротомическим доступом, а время оперативного вмешательства остается примерно одинаковым; также отсутствует статистически достоверная разница в количестве осложнений.

Радикальная гистерэктомия по поводу рака шейки матки

Нами были изучены данные 3 авторских коллективов, использовавших робототехнику при оперативном лечении по поводу вышеуказанной патологии. B.Sert и V.Abeler (2006) произвели 15 оперативных вмешательств: из них 7 — с использованием робота и 8 — традиционным лапароскопическим доступом [11] (табл. 3).

Как видно из табл. 3, время оперативного вмешательства при использовании робота уменьшилось на 26 мин; среднее количество койко-дней, проведенных в стационаре, составило всего 0,7 (против 1,5); кровопотеря во время операции была незначительная — 43 мл; однако среднее количество удаленных лимфоузлов — всего 2 против 6 — при традиционной лапароскопии. Аналогичное исследование было проведено J.F.Margina и соавт. (2008) [12] (табл. 4).

В данном сравнительном исследовании авторским коллективом получены аналогичные результаты, как у B.Sert, V.Abeler (2006). Авторы отметили достоверное уменьшение количества койко-дней в послеоперационном периоде и кровопотери во время операции, хотя последняя не была сама по себе значимой и при традиционной лапароскопии.

F.R.Nezhat и соавт. в 2008 г. подвергли оперативному вмешательству 43 пациенток с раком шейки матки: 13 — при помощи робот-ассистированной методики, 30 — традиционным лапароскопическим доступом [13]. Время операции при использовании робота составило 59 мин, количество проведенных в стационаре койко-дней — 4, кровопотеря — 89 мл, в среднем удалили 6 лимфоузлов, не выявлено осложнений и рецидивов в послеоперационном периоде при применении робота, выживаемость в течение 5 лет составила 100%.

Таким образом, можно заключить, что использование робота при радикальной гистерэктомии по поводу рака шейки матки укорачивает время операции, уменьшает ко-

Таблица 3. Сравнительная характеристика показателей операций радикальной гистерэктомии по поводу рака шейки матки, проведенных с использованием робота и традиционным лапароскопическим методом (Sert B., Abeler V., 2006) (n = 15)

Особенности операции	Da Vinci (n = 7)	Лапароскопия (n = 8)
Время оперативного вмешательства, мин	31	57*
Количество койко-дней, проведенных в стационаре	0,7	1,5
Кровопотеря во время операции, мл	43	103*
Среднее количество удаленных лимфатических узлов	2	6*
Отдаленные осложнения, %	0	1,4
Количество рецидивов в течение 5 лет	0	0
Пятилетняя выживаемость, %	100	100

* — достоверные различия между группами (p < 0,05)

Таблица 4. Сравнительная характеристика показателей операций радикальной гистерэктомии по поводу рака шейки матки, проведенных лапароскопическим доступом и робот-ассистированным методом (Margina J.F., 2008) (n = 58)

Особенности операции	Da Vinci (n = 27)	Лапароскопия (n = 31)
Время оперативного вмешательства, мин	39	37
Количество койко-дней, проведенных в стационаре	1,1	4,0*
Кровопотеря во время операции, мл	75	135*
Среднее количество удаленных лимфатических узлов	6	6
Отдаленные осложнения, %	0	1,2
Количество рецидивов в течение 5 лет	0	0
Пятилетняя выживаемость, %	100	100

* — достоверные различия между группами (p < 0,05)

Таблица 5. Сравнительная характеристика показателей операций гистерэктомии по поводу доброкачественной патологии матки, проведенных лапароскопическим доступом и робот-ассистированным методом (Payne T.N. и соавт., 2008) (n = 200)

Особенности операции	Da Vinci (n = 100)	Лапароскопия (n = 100)
Время оперативного вмешательства, мин	70	45*
Количество койко-дней, проведенных в стационаре	0,8	1,3*
Кровопотеря во время операции, мл	60	112*
Отдаленные осложнения, %	12,8	16,4

* — достоверные различия между группами (p < 0,05)

личество дней пребывания в стационаре после оперативного вмешательства, а также снижает кровопотерю. Количество удаленных лимфоузлов, осложнений, рецидивов, а также выживаемость в течение 5 лет при данном заболевании равнозначны как при традиционной лапароскопии, так и при применении робототехники.

Примерно такие же выводы можно сделать при сравнении операций по поводу рака шейки матки, выполненных при помощи робота и лапаротомическим доступом. J.F.Boggess и соавт. (2008) провели оперативные вмешательства у 100 пациенток по поводу рака шейки матки: у 51 — при помощи робота, у 49 — лапаротомическим доступом [9]. Подобные результаты были получены J.F.Magrina и соавт. (2008): из 62 пациенток с раком шейки матки 27 были прооперированы при использовании робота и 35 — лапаротомическим доступом [12]. Резюмируем результаты обоих исследований: оперативному вмешательству подверглись 162 пациентки: 78 из них выполнена тотальная гистерэктомия при помощи робототехники, 84 — операцию произвели лапаротомическим доступом. Время оперативного вмешательства при использовании робота сократилось в среднем на 34 мин, количество койко-дней, проведенных в стационаре, — в 2 раза (2 койко-дня после оперативного вмешательства при помощи «Da Vinci», 4 — после лапаротомического вмешательства), кровопотеря при робототехнике была в среднем ниже на 318 мл. Количество удаленных лимфоузлов, объем трансфузии и послеоперационные осложнения были одинаковы при использовании обеих методик.

Гистерэктомия при доброкачественной патологии матки

T.N.Payne и F.R.Dauterive (2008) провели анализ 200 оперативных вмешательств по поводу доброкачественной патологии матки: 100 пациенток были прооперированы при использовании робота, 100 — подверглись традиционному лапароскопическому вмешательству [14] (табл. 5).

Использование робототехники (табл. 5) позволило снизить кровопотерю на 52 мл, количество проведенных в стационаре койко-дней — на 0,5; однако время робот-ассистированной операции увеличилось на 25 мин. Статистически достоверной разницы в количестве осложнений при обеих методиках выявлено не было. Таким образом, преимуществом оперативного вмешательства с использованием робототехники в данном случае явилось лишь небольшое снижение кровопотери в сравнении с традици-

онной лапароскопией, а также меньшее количество койко-дней, проведенных в стационаре в послеоперационном периоде.

Операции по восстановлению проходимости маточных труб при бесплодии

Нами были проанализированы 2 исследования. A.K.Rodgers и соавт. (2007) произвели оперативные вмешательства с целью восстановления проходимости маточных труб у 67 пациенток, причем 26 из них были прооперированы при помощи робототехники, 41 — лапаротомическим доступом [15]. В свою очередь, P.Dharia и соавт. (2008) провели 18 робот-ассистированных оперативных вмешательств, а 10 пациенток были ими прооперированы лапаротомическим доступом [16]. Длительность операций с использованием робота «Da Vinci» у обоих авторов была достоверно больше (соответственно на 46 и 48 мин), чем при лапаротомическом доступе, однако несколько уменьшилась продолжительность пребывания пациентов в стационаре. Объем кровопотери во время операций, проведенных обоими авторскими коллективами, при одном и другом доступе был равнозначным, а осложнений в послеоперационном периоде было достоверно больше после лапаротомии (4 и 4,5% соответственно при использовании робототехники против 15 и 11,8% — после лапаротомии). Временная нетрудоспособность пациенток после робот-ассистированных операций достоверно снижалась (на 14 и 17 дней соответственно), так же как и потребность в применении обезболивающих препаратов в послеоперационном периоде [15, 16]. Вместе с тем количество беременностей (маточных и экстраматочных) было одинаковым как после вмешательства при помощи робота «Da Vinci», так и после лапаротомии. Однако было отмечено, что стоимость робот-ассистированного оперативного вмешательства возрастала в 10 раз в сравнении с лапаротомией.

Миомэктомия с использованием робототехники

В 2007 г. A.P.Advincula и соавт. проанализировали исходы миомэктомии у 58 пациенток: у 29 — после выполнения операции с использованием робототехники, у 29 — после лапаротомии [17]. Использование робота «Da Vinci» увеличивало время миомэктомии (в среднем на 80 мин, p < 0,05), но при этом кровопотеря во время операции сокращалась в среднем на 170 мл, а время пребывания в стационаре — на 2 дня (p > 0,05). При этом стоимость миом-

эктомии при использовании робота возростала в 6,8 раза по сравнению с лапаротомией.

Таким образом, малоинвазивная робот-ассистированная методика оперативного лечения позволяет гинекологам перейти на новый уровень оказания высокотехнологичной медицинской помощи, продвигаясь за пределы классической лапаротомии и лапароскопии, что приводит к улучшению качества выполнения операций и реабилитации больных после операции. Однако только дальнейшее совершенствование нового метода и накопление опыта позволит сделать окончательные выводы, оправдано ли использование робототехники в гинекологической практике.

Литература

1. Advincula A.P. Surgical techniques: robot-assisted laparoscopic hysterectomy with the da Vinci surgical system // *Int J Med Robot.* 2006. V.2 (4). P.305–311.
2. Piquion-Joseph J.M., Nayar A., Ghazaryan A. et al. Robot-assisted gynecological surgery in a community setting // *J Robot Surg.* V.3 (2). P.61–64.
3. Cho J.E., Shamshirsaz A.H., Nezhat C. et al. New technologies for reproductive medicine: laparoscopy, endoscopy, robotic surgery and gynecology. A review of the literature // *Minerva Ginecol.* 2010. V.62 (2). P.137–167.
4. Schreuder H.W.R., Verheijen R.H.M. Robotic surgery // *BJOG.* 2009. V.116 (2). P.198–213.
5. Chen C.C.G., Falcone T. Robotic gynecologic surgery: past, present and future // *Clin Obstet Gynecol.* 2009. V.52 (3). P.335–343.
6. Van Dam P., Hauspy J., Verkinderen L. et al. Are costs of robot-assisted surgery warranted for gynecological procedures? [Electronic resource] // *Obstet Gynecol Int* [Official website]. 2011. V.2011. Art. ID 973830. URL: <http://www.hindawi.com/journals/ogi/2011/973830/> (accessed: 10.11.2013).
7. Lotan Y. Economics of robotics in urology // *Curr Opin Urol.* 2010. V.20 (1). P.92–97.
8. Boggess J.F., Gehrig P.A., Cantrell L. et al. A comparative study of 3 surgical methods for hysterectomy with staging for endometrial cancer: robotic assistance, laparoscopy, laparotomy // *Am J Obstet Gynecol.* 2008 Oct. V.199 (4). P.360–369.
9. Boggess J.F., Gehrig P.A., Cantrell L. et al. A case-control study of robot-assisted type III radical hysterectomy with pelvic lymph node dissection compared with open radical hysterectomy // *Am J Obstet Gynecol.* 2008 Oct. V.199 (4). P.357.
10. Veljovich D.S., Paley P.J., Drescher C.W. et al. Robotic surgery in gynecologic oncology: program initiation and outcomes after the first year with comparison with laparotomy for endometrial cancer staging // *Am J Obstet Gynecol.* 2008 Jun. V.198 (6). P.679.
11. Sert B., Abeler V. Robotic radical hysterectomy in early-stage cervical carcinoma patients, comparing results with total laparoscopic radical hysterectomy cases. The future is now? // *Int J Med Robot.* 2007 Sep. V.3 (3). P.224–228.
12. Magrina J.F., Kho R.M., Weaver A.L. et al. Robotic radical hysterectomy: comparison with laparoscopy and laparotomy // *Gynecol Oncol.* 2008 Apr. V.109 (1). P.86–91.
13. Nezhat F.R., Datta M.S., Liu C. et al. Robotic radical hysterectomy versus total laparoscopic radical hysterectomy with pelvic lymphadenectomy for treatment of early cervical cancer // *JSL.* 2008 Jul. V.12 (3). P.227–237.
14. Payne T.N., Dauterive F.R. A comparison of total laparoscopic hysterectomy to robotically assisted hysterectomy: surgical outcomes in a community practice // *J Minim Invasive Gynecol.* 2008 May. V.15 (3). P.286–291.
15. Rodgers A.K., Goldberg J.M., Hammel J.P., Falcone T. Tubal anastomosis by robotic compared with outpatient minilaparotomy // *Obstet Gynecol.* 2007 Jun. V.109 (6). P.1375–1380.
16. Dharia Patel S.P., Steinkampf M.P., Whitten S.J., Malizia B.A. Robotic tubal anastomosis: surgical technique and cost effectiveness // *Fertil Steril.* 2008 Oct. V.90 (4). P.1175–1179.
17. Advincula A.P., Xu X., Goudeau S., Ransom S.B. Robot-assisted laparoscopic myomectomy versus abdominal myomectomy: a comparison of short-term surgical outcomes and immediate costs // *J Minim Invasive Gynecol.* 2007 Nov. V.14 (6). P.698–705.

Информация об авторах:

Насырова Наиля Ильдаровна, кандидат медицинских наук, заведующая гинекологическим отделением Центральной клинической больницы гражданской авиации, доцент кафедры акушерства и гинекологии № 1 лечебного факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
 Адрес: 125367, Москва, Ивановское ш., 7
 Телефон: (495) 490-0261
 E-mail: ni_nasyrova@mail.ru

Борисова Мария Сергеевна, студентка лечебного факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
 Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
 Телефон: (495) 490-0261
 E-mail: mafka91@mail.ru

Аскерова Нюбар Габил кызы, студентка лечебного факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
 Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
 Телефон: (495) 490-0261
 E-mail: ladyarmelade_07@mail.ru

Технологии клеточной иммунотерапии в лечении больных со злокачественными новообразованиями

К.С.Титов^{1,2}, Л.В.Демидов^{1,3}, И.Ж.Шубина¹,
В.А.Хайленко^{1,2}, М.В.Киселевский¹, А.С.Вихрова³

¹Российский онкологический научный центр им. Н.Н.Блохина РАМН, Москва
(директор — акад. РАН и РАМН, проф. М.И.Давыдов);

²Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, Москва
(ректор — проф. А.Г.Камкин);

³Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М.Сеченова
(ректор — чл.-кор. РАМН, проф. П.В.Глыбочко)

В работе проведена оценка клинической эффективности и безопасности применения методов клеточной противоопухолевой иммунотерапии — вакцин на основе аутологических дендритных клеток и аллогенных лимфокин-активированных киллерных (ЛАК) клеток в комбинации с рекомбинантным интерлейкином-2 (ИЛ-2). В исследование были включены пациенты с меланомой кожи III–IV стадий и больные с опухолевыми серозитами, резистентные к системной противоопухолевой терапии. Сделано заключение о безопасности, иммунологической компетентности и умеренной эффективности вакцины на основе дендритных клеток у больных с меланомой кожи в терапевтическом и профилактическом режимах. Показано также, что внутриспиральная ИЛ-2/ЛАК-иммунотерапия высокоэффективна и хорошо переносима при лечении больных с опухолевыми серозитами.

Ключевые слова: клеточная иммунотерапия, дендритные клетки, интерлейкин-2, ЛАК-клетки

Technologies of Cell Immunotherapy in Treatment of Cancer Patients

K.S.Titov^{1,2}, L.V.Demidov^{1,3}, I.Zh.Shubina¹,
V.A.Khaylenko^{1,2}, M.V.Kiselevsky¹, A.S.Vikhrova³

¹Blokhin Russian Cancer Research Center of RAMS, Moscow
(Director — Acad. of RAS and RAMS, Prof. M.I.Davydov);

²Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow
(Rector — Prof. A.G.Kamkin);

³I.M.Sechenov First Moscow State Medical University
(Rector — Corr. Member of RAMS, Prof. P.V.Glybochko)

The study evaluated clinical efficacy and safety of the use of cells antitumor immunotherapy methods — vaccines based on autologous dendritic and allogenic LAK-cells in combination with recombinant interleukin-2 (IL-2). The clinical study involved cancer patients with skin melanoma of grades III–IV and patients with metastatic effusions resistant to systemic chemotherapy. The data led to the conclusion of safety, immune competence and reasonable effectiveness of DC-based vaccines in therapeutic and prophylactic schemes in patients with skin melanoma. The results showed that intra-cavity IL-2/LAK-immunotherapy was highly effective and well tolerated in treatment of patients with metastatic effusions.

Key words: cell immunotherapy, dendritic cells, interleukin-2, LAK-cells

В последнее время лечение с применением клеточной иммунотерапии все чаще эффективно исполь-

зуют в онкологии. Накопленные за последние несколько десятилетий данные убедительно свидетельствуют об определенной роли иммунной системы организма при возникновении, развитии и прогрессии злокачественных новообразований [1, 2]. У многих онкологических больных отмечен противоопухолевый клеточный и (или) гуморальный иммунный ответ на опухоль-ассоциированные антигены [3].

Тем не менее опухолевые клетки могут «ускользнуть» от иммунобиологического надзора и активно пролиферировать. Недостаточная эффективность иммунной системы при злокачественных новообразованиях обусловлена

Для корреспонденции:

Титов Константин Сергеевич, кандидат медицинских наук, доцент кафедры онкологии Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова, хирург-онколог отделения биотерапии опухолей Российского онкологического научного центра им. Н.Н.Блохина РАМН

Адрес: 115478, Москва, Каширское ш., 23

Телефон: (499) 324-9004

E-mail: ks-titov@mail.ru

Статья поступила 06.02.2014, принята к печати 20.02.2014

не только особенностями опухолевых клеток (отсутствием специфических антигенов, быстрым делением, гетерогенностью, их устойчивостью к цитотоксическому действию эффекторов противоопухолевого иммунитета и т.п.), но также и низким уровнем активации цитотоксических лимфоцитов и плохой биодоступностью самой опухоли. Кроме того, опухолевые клетки секретируют иммуносупрессорные факторы, угнетающие киллерную активность и пролиферацию лимфоцитов [4].

Для повышения эффективности системы противоопухолевого иммунитета используют различные иммуномодуляторы и активированные иммунокомпетентные клетки. Одним из наиболее популярных методов иммунотерапии является противоопухолевая дендритно-клеточная (ДК) вакциноterapia [5–7]. Однако многочисленные клинические исследования по противоопухолевым вакцинам, применяемым при лечении солидных злокачественных опухолей, продемонстрировали интересные, но довольно скромные результаты, и только некоторые вакцины успешно прошли все этапы клинических исследований и были зарегистрированы для лечения определенных видов опухолей за рубежом. В связи с этим изучение противоопухолевой ДК-вакцины при меланоме кожи, для которой выявлено большое количество опухоль-ассоциированных антигенов, представляется перспективным подходом клеточной иммунотерапии в онкологии.

Другой интересный метод клеточной терапии — адоптивная (от англ. *adoptive* — **привнесенный**) иммунотерапия — основан на экстракорпоральной генерации в присутствии рекомбинантного интерлейкина-2 (ИЛ-2) лимфокин-активированных киллеров (ЛАК) с их последующим введением в организм больного. Для реализации лизиса клеток-мишеней ЛАК, как и натуральным киллерам, не нужна антигенная презентация, сигналом для киллинга служит отсутствие или слабая экспрессия на опухолевых клетках главного комплекса гистосовместимости (англ. HLA, Human Leucocyte Antigens). Нередко низко- и недифференцированные опухолевые клетки на различных стадиях своей прогрессии теряют HLA и, соответственно, становятся уязвимыми для натуральных киллеров и ЛАК. Группа американских ученых во главе со Стивом Розенбергом в начале 90-х гг. прошлого столетия проводила первые клинические исследования системного введения ИЛ-2 в комбинации с ЛАК-клетками. Клиническая эффективность данного вида клеточной терапии составила не более 20–25% [8, 9].

В последние годы появились новые сведения об эффективном применении ИЛ-2/ЛАК-иммунотерапии при различных злокачественных новообразованиях [10, 11]. Наилучшие клинические эффекты были получены при локальных введениях ИЛ-2 и ЛАК, в частности при внутрисплетальном лечении опухолевых серозитов [12, 13]. Внутрисплетальное введение ИЛ-2 и аутологичных ЛАК-клеток продемонстрировало высокую эффективность и хорошую переносимость, при этом в наиболее крупном исследовании общий объективный ответ на внутрисплетальную клеточную иммунотерапию составил 94,5% [14]. Ранее было показано, что донорские (аллогенные) ЛАК обладают более высокой противоопухолевой цитотоксичностью, чем аутологичные

ЛАК онкологических больных, также они показали хорошую клиническую эффективность и удовлетворительную переносимость [13, 15]. Для того чтобы компенсировать недостаточную численность аутологичных лимфоцитов в опухолевых экссудатах и нивелировать супрессорную активность Т-регуляторных клеток, для иммунотерапии опухолевых серозитов было предложено использовать аллогенные ЛАК-клетки в комбинации с отечественным препаратом «Ронколейкин» (рекомбинантный ИЛ-2 человека, ООО «Биотех», Россия).

Цель исследования — оценить клиническую эффективность и переносимость различных методов клеточной иммунотерапии у больных со злокачественными опухолями III–IV стадий.

Пациенты и методы

В РОНЦ им. Н.Н.Блохина были проведены I–II фазы клинических исследований по изучению переносимости, клинической и иммунологической эффективности аутологичной ДК-вакцины у больных с меланомой кожи, полученной на основании разрешения Центрального этического комитета и Минздрава России.

ДК-вакцину изготавливали по разработанной в РОНЦ им. Н.Н.Блохина методике: ДК получали из моноцитов периферической крови пациентов, извлеченных с помощью центрифугирования путем лейкофереза, далее их отбирали и отмывали от других клеток, затем инкубировали в термостате (5% CO₂, 37 °C). Через 1,5 ч к адгезированным к пластику клеткам (преимущественно моноцитам) добавляли ГМ-КСФ (80 нг/мл) и ИЛ-4 (10 нг/мл), а на 7-е сутки культивирования — 200 нг ФНО- α и 2500 нг ПГЕ₂. Через 48 ч свободноплавающие клетки собирали и проводили их иммунофенотипирование. ДК нагружали антигенами опухолевого лизата, полученного из операционного материала, и инкубировали в течение 2 ч. ДК-вакцину вводили пациентам внутривенно в дозе от $1,0 \times 10^6$ до $5,0 \times 10^6$ клеток, интервалы между вакцинациями составляли от 2 до 6 нед, вакцинации проводили до прогрессирования заболевания.

При этом ДК-вакцину исследовали в двух режимах: в терапевтическом — у 17 больных с прогрессирующим метастатическим меланомой после предшествующего стандартного противоопухолевого лечения, а также в профилактическом режиме у 63 больных меланомой кожи III–IVa стадий после радикального хирургического лечения для профилактики прогрессирования опухоли. Пациентам также проводили иммунологический мониторинг, оценивали местные реакции (реакции гиперчувствительности замедленного типа, РГЗТ) и переносимость данного лечения. Данную группу сравнивали с однородной по стадиям контрольной группой из 52 пациентов с меланомой кожи, которые после хирургического лечения находились под динамическим наблюдением онколога, т.е. каждые 3 мес проходили контрольные обследования до выявления прогрессирования заболевания.

Было проведено научное исследование клинической эффективности и переносимости внутрисплетальной иммунотерапии у больных с опухолевыми серозитами, резистент-

ных к системной терапии, с использованием аллогенных ЛАК-клеток в комбинации с «Ронколейкином» (утвержденное на ученом совете НИИ клинической онкологии РОНЦ им. Н.Н.Блохина в 2003 г.).

В исследование были включены 94 больных с экссудативными формами злокачественных новообразований. Из них 30 пациентов с односторонними опухолевыми плевритами (рак молочной железы — 16 человек, рак яичников — 7, немелкоклеточный рак легкого — 5 и рак почки — 2), 41 пациент с опухолевыми асцитами (рак яичников — 23, желудка — 11, толстой кишки — 4, поджелудочной железы — 2, Фатерова сосочка — 1) и 23 больных с опухолевыми перикардитами (немелкоклеточный рак легкого — 9, рак молочной железы — 9, рак яичников — 4, мезотелиома плевры — 1). Во всех случаях онкологический диагноз был морфологически подтвержден. Лечение проходили 27 (28,7%) мужчин и 67 (71,3%) женщин в возрасте от 18 до 75 лет.

Все больные до начала иммунотерапии получали комбинированное (хирургическое и лекарственное лечение: химио-, гормоно- или таргетная терапия от 2 до 3 линий) или комплексное лечение (хирургическое и лучевое лечение и лекарственная терапия также от 2 до 3 линий). На момент включения в исследование по изучению внутриполостной иммунотерапии большинство пациентов уже имели резистентность к различным видам противоопухолевой системной терапии.

Объем экссудата при его первичной эвакуации составил при плеврите от 1,5 до 5,5 л, при асците — от 3,0 до 10,0 л, а при перикардите — от 100 до 600 мл. Серозные полости дренировали по стандартным методикам с установкой в них дренажа на время проведения клеточной иммунотерапии. Перед началом внутриполостной иммунотерапии, в середине и по ее окончании производили взятие экссудата на цитологическое исследование для оценки наличия и регрессии опухолевого процесса, а также количества и типов лимфоидных клеток.

Аллогенные ЛАК генерировали из мононуклеарных клеток (МНК) здоровых доноров, полученных путем лейкофереза в отделении переливания крови, далее выделяли по стандартной методике на одноступенчатом градиенте плотности фиколла-урографина ($\rho = 1,077$ г/мл). Через сутки инкубации МНК в полной культуральной среде на основе RPMI-1640 в присутствии ИЛ-2 отбирали суспензию не прилипших к пластику клеток и продолжали инкубировать их в полной культуральной среде с ИЛ-2 (1000 МЕ/мл) в течение 72 ч для генерации ЛАК. Пролиферативную активность ЛАК измеряли в колориметрическом тесте с использованием витального красителя AlamarBlue (BioSource, США) в стерильных условиях, используя ламинарный бокс с горизонтальным потоком воздуха (JuanVFS 90). После проведения соответствующих тестов на цитотоксическую активность и иммунофенотипирования полученные ЛАК-клетки в стерильных емкостях передавали в клинику для внутриполостного введения больным с опухолевыми серозитами.

Перед началом проведения внутриполостной биотерапии пораженную опухолью серозную полость дренировали по стандартным методикам с установкой в нее системы «Плеврокан» на 7 дней при перикардите, на 14 дней при плеврите и на 21 день при асците. Далее, после цитологи-

ческой верификации опухолевого серозита в серозную полость вводили Ронколейкин (ИЛ-2) по 1 млн МЕ ежедневно (№ 5 при перикардите, № 10 при плеврите и № 15 при асците) и в случае комбинированной иммунотерапии — ЛАК-клетки по 100–150 млн клеток от 2 до 6 раз за время лечения. Перед введением биопрепаратов серозная полость максимально осушалась. После окончания иммунотерапии дренаж удаляли из серозной полости. Объективный эффект от иммунотерапии оценивали с помощью лучевых методов диагностики через 3–4 нед после завершения данного лечения и далее каждые 3 мес.

Для оценки силы связи количественных признаков использовали непараметрический корреляционный анализ Спирмена, качественных признаков — метод вычисления ранговой корреляции по Кендаллу. Сравнение выживаемости производили с помощью Log-rank теста. Различия между группами считали статистически значимыми при $p < 0,05$. Для статистического анализа использовали программное обеспечение «IBM SPSS Statistics 19» и «MedCalc v. 11.6.0.0».

Результаты исследования и их обсуждение

На фоне вакцинотерапии из 17 больных с метастатической меланомой кожи, включенных в исследование, объективные ответы (полные и частичные) были отмечены у 2 (11,8%) пациентов. При этом ответы включали 1 полную регрессию (полное исчезновение метастатических очагов), продолжительность жизни данного пациента составила 60 мес, и 1 частичную регрессию опухоли (уменьшение метастазов более чем на 30% их исходных размеров), продолжительность жизни составила 30 мес. У 5 (29,4%) из 17 пациентов отмечена стабилизация опухолевого процесса продолжительностью от 5 до 16 мес. Контроль над заболеванием, включавший в себя объективные ответы и стабилизацию болезни, был достигнут у 7 (41,2%) пациентов. Иммунологическую эффективность вакцины оценивали с помощью РГЗТ, у 3 пациентов на фоне вакцинаций возникла аутоиммунная депигментация кожи (витилиго). Побочные эффекты были выражены минимально и включали умеренную гипертермию и местные постинъекционные реакции (гиперемия/эритема).

Группу из 63 больных с меланомой кожи III–IVa стадий после радикального хирургического лечения, в которой аутологичную ДК-вакцину изучали в профилактическом режиме, сравнивали с группой динамического наблюдения, т.е. с 52 пациентами, которым после хирургического вмешательства дополнительного противоопухолевого лечения не проводили. Важно отметить, что сравниваемые группы были однородны по клиническим и прогностическим факторам. ДК-вакцина вызывала достоверное улучшение показателей безрецидивной выживаемости (медиана времени до прогрессирования болезни в группе с применением вакцины составила 10 мес в сравнении с 4,8 мес в группе наблюдения, $p > 0,05$), было достигнуто снижение риска прогрессирования заболевания на 55% по сравнению с группой наблюдения. Отмечена также тенденция к увеличению общей 3-летней выживаемости у вакцинируемых пациентов по сравнению с группой на-

блюдения (63 и 50% соответственно, $p > 0,05$). У более половины пациентов (31 больной) была зарегистрирована максимальная степень положительной РГЗТ, а у 4 пациентов отмечены случаи витилиго. Изучаемая в клинических исследованиях ДК-вакциноterapia метастатической меланомы кожи, несмотря на малую эффективность, равную со стандартной в России химиотерапией Дакарбазином, также показала наличие иммунного ответа у пациентов и лучшую переносимость в сравнении с химиопрепаратами.

До начала внутриполостной иммунотерапии у 75% больных в удаленном из серозной полости экссудате обнаруживали множество опухолевых клеток, у 25% — единичные, у всех больных присутствовали лимфоидные клетки от 1–3 до 12–16 в поле зрения, а также отмечали мезотелиоциты и гистиоидные клетки (рис. 1, А). В середине иммунотерапии в экссудате опухолевые клетки либо от-

сутствовали, либо были представлены в незначительном количестве, как правило, преобладали клетки типа иммунобластов (ЛАК) 15–20 в поле зрения, единично встречались клетки мезотелия, эозинофилы — 4–6 в поле зрения (рис. 1, Б). По окончании иммунотерапии в подавляющем большинстве случаев опухолевые клетки отсутствовали, по-прежнему преобладали ЛАК-клетки, клетки мезотелия также были представлены единично (рис. 1, В).

На рис. 2 приведены компьютерные томограммы больного с метастатическим раком правого легкого (аденокарцинома), у которого через 1 мес после завершения внутриплевральной ИЛ-2/ЛАК-иммунотерапии была зарегистрирована полная регрессия опухолевого плеврита.

При опухолевых плевритах общий объективный эффект был отмечен у 28 (93,3%) пациентов: полное прекращение экссудации — у 17 (56,7%) больных, частичная регрессия — у 11 (36,7%); отсутствие эффекта — у 2 (6,7%).

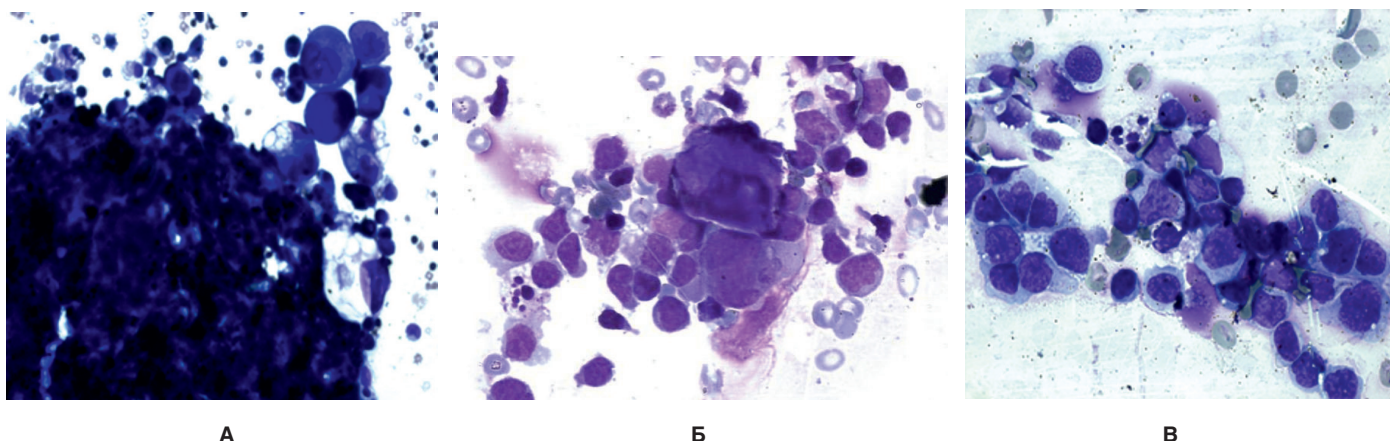


Рис. 1. **Метастатический рак яичников, состояние после комбинированного лечения (хирургическое лечение с последующими тремя линиями химиотерапии).** Больная Б. Прогрессирование болезни: канцероматоз брюшины, опухолевый асцит. Состояния после внутрибрюшинной ИЛ-2/ЛАК-иммунотерапии. Полная регрессия асцита и частичная регрессия метастазов по брюшине. Цитограмма опухолевого экссудата до начала внутрибрюшинной иммунотерапии (А). Представлен конгломерат опухолевых клеток, а также незначительное количество зрелых лимфоцитов. Окраска азур-эозином. Ув. 400. Цитограммы опухолевого экссудата в середине (Б) и после внутрибрюшинной иммунотерапии (В). Видны единичные опухолевые клетки в стадии деградации, окруженные активированными лимфоцитами типа иммунобластов (пролимфоцитов), в конце иммунотерапии в остаточных количествах асцита опухолевые клетки отсутствовали, отмечены апоптотические тельца и активированные лимфоциты. Окраска азур-эозином. Ув. 900.

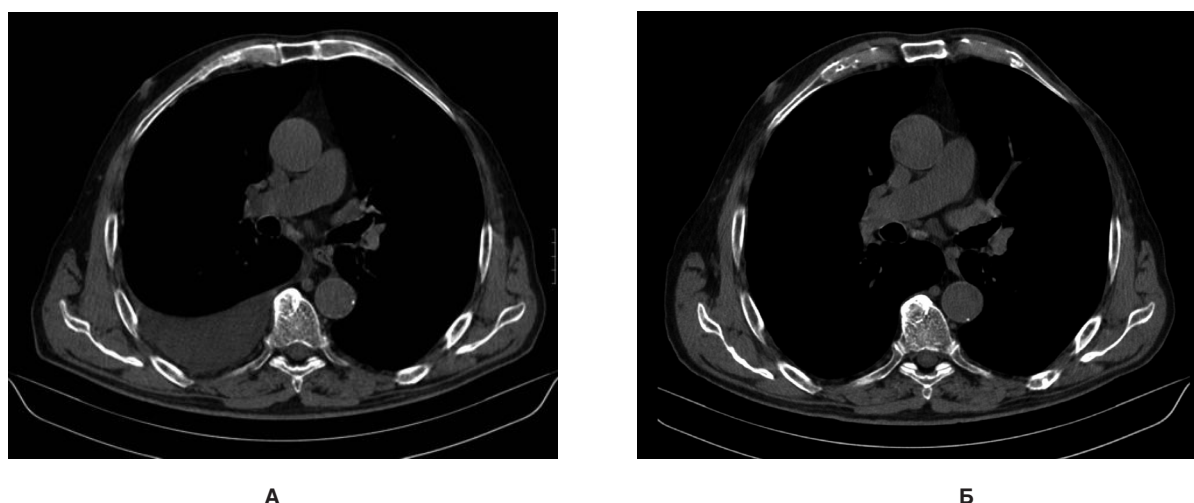


Рис. 2. **Компьютерная томограмма больного с метастатическим центральным раком правого легкого.** Больной К. Рак правого легкого. Метастазы по плевре справа. Опухолевый плеврит справа. Наличие экссудата в правой плевральной полости: до внутриплевральной иммунотерапии (А) и через 1 мес после ее завершения (Б). Цитологические показатели по окончании иммунотерапии прямо коррелировали с положительными клиническими эффектами.

У 4 (13,3%) больных в различные сроки были выявлены рецидивы плеврита после внутривнутриплевральной ИЛ-2/ЛАК-иммунотерапии. Время продолжительности ответа на внутривнутриплевральную ИЛ-2/ЛАК-иммунотерапию у больных с клиническими эффектами составило 8,5 мес.

При опухолевых асцитах общий объективный эффект отмечен у 30 (73,2%) больных: полное прекращение экссудации — у 16 (39,0%), частичная регрессия — у 14 (34,1%); отсутствие эффекта — у 11 (26,8%) пациентов. У 8 (19,5%) больных в различные сроки были выявлены рецидивы асцита после иммунотерапии. Время продолжительности ответа на внутривнутрибрюшинную ИЛ-2/ЛАК-иммунотерапию у больных с клиническими эффектами составило 5,1 мес.

При опухолевых перикардитах общий объективный эффект был отмечен у 22 (95,7%) больных: полное прекращение экссудации — у 14 (60,9%), частичная регрессия — у 8 (34,8%); отсутствие эффекта — у 1 (4,3%) пациента. У 2 (8,7%) больных в различные сроки были выявлены рецидивы перикардита после иммунотерапии. Время продолжительности ответа на внутривнутриперикардальную ИЛ-2/ЛАК-иммунотерапию у больных с клиническими эффектами составило 3,4 мес.

Пациенты в основном хорошо переносили внутривнутриполостную иммунотерапию. В отличие от цитостатической химиотерапии иммунотерапия имела гораздо меньше побочных эффектов, главным образом умеренную гипертермию. Субфебрильную температуру (до 37,5 °С) отмечали у 6 больных, фебрильную (до 39,0 °С) — у 2 пациентов, у остальных 15 больных проведение иммунотерапии повышением температуры тела не сопровождалось. Как правило, реакция гипертермии у больных проявлялась после 1–2-го введения ИЛ-2 и ЛАК-клеток, наступала через 1–2 ч после начала иммунотерапии и наблюдалась в течение 3–4 ч, после чего происходило постепенное снижение температуры до исходных значений без применения антипиретиков.

Вместе с тем гипертермию не следует расценивать только как побочную реакцию иммунотерапии, она главным образом является проявлением специфического действия ИЛ-2 и ЛАК-стимуляции системы противоопухолевого иммунитета.

Предложенный метод клеточной иммунотерапии с использованием отечественного рекомбинантного интерлейкина-2 («Ронколейкин») и аллогенных ЛАК-клеток представляет собой эффективный и безопасный метод лечения больных с опухолевыми серозитами, резистентных к системной противоопухолевой терапии. Данный вид лечения также улучшает качество жизни больных и может быть рекомендован для применения в отечественной онкологической практике.

Поскольку система активированных натуральных киллеров (ЛАК) стимулирует звено врожденного иммунитета, а активность дендритных клеток направлена на стимуляцию специфического звена клеточного иммунитета, в дальнейшем целесообразна разработка терапевтических подходов для стимуляции одновременно двух звеньев иммунитета в целях повышения эффективности противоопухолевой клеточной иммунотерапии.

Выводы

1. Вакциноterapia аутологичными дендритными клетками у больных с метастатической меланомой кожи, резистентной к стандартному лекарственному лечению, малоэффективна. Объективные ответы (полные и частичные) были отмечены у 2 (11,8%) больных, однако медиана общей выживаемости пациентов на фоне вакцины составила 17 мес, что существенно выше данных исторического контроля (6–8 мес).

2. На фоне применения профилактической дендритноклеточной вакцины отмечено достоверное увеличение безрецидивной выживаемости пациентов с меланомой кожи по сравнению с группой динамического наблюдения (медиана времени до прогрессирования в группе вакцины составила 10,0 мес по сравнению с 4,8 мес в группе наблюдения; $p < 0,05$), также отмечена тенденция к увеличению общей выживаемости в профилактической группе по сравнению с группой наблюдения ($p = 0,22$). Данный вид лечения пациенты переносили удовлетворительно.

3. Внутривнутриполостная ИЛ-2/ЛАК-иммунотерапия у больных с опухолевыми серозитами, резистентных к системной терапии, характеризуется высокой клинической эффективностью и позволяет достичь объективного ответа при опухолевых плевритах (93,3%, продолжительность ответа 8,5 мес), опухолевых асцитах (73,2%, 5,1 мес) и опухолевых перикардитах (95,7%, 3,4 мес).

4. Данный вид иммунотерапии был хорошо переносим пациентами и практически не вызывал побочных эффектов, за исключением умеренных и обратимых проявлений гриппоподобного синдрома.

Литература

- Xue S.A., Stauss H.J. Enhancing immune responses for cancer therapy // *Cell Mol Immunol*. 2007. V.4 (3). P.173–184.
- Manjili M.H. Revisiting cancer immunoediting by understanding cancer immune complexity // *J Pathol*. 2011. V.224 (1). P.5–9.
- Wang E., Panelli M.C., Monsurró V., Marincola F.M. A global approach to tumor immunology // *Cell Mol Immunol*. 2004. V.1 (4). P.256–265.
- Sutlu T., Alici E. Natural killer cell-based immunotherapy in cancer: current insights and future prospects // *J Intern Med*. 2009. №1. P.154–181.
- Jäger E., Karbach J., Gnjatic S. et al. Recombinant vaccinia/fowlpox NY-ESO-1 vaccines induce both humoral and cellular NY-ESO-1-specific immune responses in cancer patients // *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2006. V.103 (39). P.14453–14458.
- Provinciali M. Immunosenescence and cancer vaccines // *Cancer Immunol Immunother*. 2009. V.58 (12). P.1959–1967.
- Parmiani G., De Filippo A., Novellino L., Castelli C. Unique human tumor antigens: immunobiology and use in clinical trials // *J Immunol*. 2007. V.178 (4). P.1975–1979.
- June C.H. Adoptive T cell therapy for cancer in the clinic // *J Clin Invest*. 2007. V.117 (6). P.1466–1476.
- Rosenberg S.A., Lotze M.T., Yang J.C. et al. Prospective randomized trial of high-dose interleukin-2 alone or in conjunction with lymphokine-activated killer cells for the treatment of patients with advanced cancer // *J Natl Cancer Inst*. 1993. V.85 (8). P.622–632.
- Hontscha C., Borck Y., Zhou H. et al. Clinical trials on CIK cells: first report of the international registry on CIK cells (IRCC) // *J Cancer Res Clin Oncol*. 2011. V.137 (2). P.305–310.

11. Sangiolo D. Cytokine induced killer cells as promising immunotherapy for solid tumors // J Cancer. 2011. №2. P.363–368.
12. Liu X., Li D., Zhang C. et al. Treatment of 121 patients with malignant effusion due to advanced lung cancer by intrapleural transfer of autologous or allogeneic LAK cells combined with rIL-2 // Chin Med Sci J. 1993. V.8 (3). P.186–189.
13. Давыдов М.И., Нормантович В.А., Киселевский М.В. и др. Адоптивная иммунотерапия при опухолевых плевритах: клинико-лабораторное исследование // Рос. онкол. журн. 2000. №6. С.14–17.
14. Киселевский М.В. Адоптивная иммунотерапия при злокачественных опухолях // Вестн. РАМН. 2003. №1. С.40–44.
15. Ruggeri L., Capanni M., Urbani E. et al. Effectiveness of donor natural killer cell alloreactivity in mismatched hematopoietic transplants // Science. 2002. V.295. P.2097–2100.

Информация об авторах:

Демидов Лев Вадимович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделением биотерапии опухолей Российского онкологического научного центра им. Н.Н.Блохина РАМН, профессор кафедры онкологии Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М.Сеченова
Адрес: 115478, Москва, Каширское ш., 23
Телефон: (499) 324-1504
E-mail: demidov.lev@gmail.com

Шубина Ирина Жановна, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории клеточного иммунитета Российского онкологического научного центра им. Н.Н.Блохина РАМН
Адрес: 115478, Москва, Каширское ш., 24
Телефон: (499) 612-8039
E-mail: irinashubina@mail.ru

Хайленко Виктор Алексеевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой онкологии Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова, ведущий научный сотрудник хирургического отделения диагностики опухолей Российского онкологического научного центра им. Н.Н.Блохина РАМН
Адрес: 115478, Москва, Каширское ш., 23
Телефон: (499) 324-1280
E-mail: v.khaylenko@mail.ru

Киселевский Михаил Валентинович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией клеточного иммунитета Российского онкологического научного центра им. Н.Н.Блохина РАМН
Адрес: 115478, Москва, Каширское ш., 24
Телефон: (499) 324-2794
E-mail: kisele@inbox.ru

Вихрова Анастасия Сергеевна, врач-онколог, старший лаборант кафедры онкологии лечебного факультета Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М.Сеченова
Адрес: 115478, Москва, Каширское ш., 23
Телефон: (499) 324-9004
E-mail: semencova_a.s.@mail.ru

ИЗ ЖИЗНИ УНИВЕРСИТЕТА

Учебники и монографии

Глаукома. Национальное руководство / Под ред. Е.А.Егорова. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. 824 с.

Проблема глаукомы — одна из самых сложных и спорных в офтальмологии. Эта болезнь, как сейчас принято считать, объединяет большую группу заболеваний глаз с различной этиологией, преимущественно хроническим течением, серьезным прогнозом, имеющих ряд общих особенностей в патогенезе, клинике и методах лечения. Глаукома на сегодняшний день остается важной проблемой как с медицинской, так и с социальной точки зрения. В книге рассмотрены различные методы диагностики и лечения: медикаментозная и нейротропная терапия, физиотерапия, хирургическое лечение и т.д. Представлены новые лазерные технологии в лечении этого заболевания. Книга предназначена для практикующих врачей, студентов высших медицинских учебных заведений и слушателей системы дополнительного последиplomного профессионального образования.

Детская колопроктология: Руководство для врачей / Под ред. А.В.Гераськина, А.Ф.Дронова, А.Н.Смирнова. М.: Контэнт, 2012. 664 с.

В руководстве обобщен опыт ведущих специалистов в области детской колопроктологии. Представлена семиотика заболеваний толстой кишки и органов промежности, освещены современные методы их диагностики и хирургического лечения с использованием новейших малоинвазивных технологий. Большое внимание уделено вопросам диетотерапии, медикаментозного, физиотерапевтического, функционального и санаторно-курортного лечения. Руководство представляет интерес для педиатров, гастроэнтерологов, детских хирургов, студентов высших медицинских учебных заведений.

Учебник-практикум по детским болезням / Под ред. Р.Г.Артамонова. М.: Видар-М, 2013. 312 с.

Учебник-практикум написан коллективом кафедры педиатрии Российского научно-исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова. Авторы предлагают иной, чем информационный, вариант учебника, с помощью которого можно осуществлять интерактивный принцип обучения. Учебник включает раздел, в котором представлены выписки из историй болезни по нозологиям, и большой справочный раздел, содержащий иллюстративный материал, нормативы лабораторных анализов, описания техники определения клинических симптомов, терминологический и лекарственный справочники и много других материалов, предназначенных для того, чтобы помочь студенту осуществить вместе с преподавателем клинический разбор нозологических форм на практических занятиях. Учебник-практикум предназначен для проведения практических занятий со студентами лечебного факультета, по тематике соответствует учебному плану по педиатрии для лечебного факультета, также может быть полезным врачам при подготовке к сертификационным экзаменам.

Методы диагностики местно-распространенного рака предстательной железы (обзор литературы)

В.И.Широкоград¹, С.Б.Петерсон², С.В.Чулкова³, Д.И.Володин¹,
В.В.Капустин¹, А.В.Егорова², Н.В.Лепкова², А.И.Беневский²

¹Московская городская онкологическая больница № 62

(главный врач — проф. А.Н.Махсон);

²Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова,
кафедра онкологии и лучевой терапии лечебного факультета, Москва

(зав. кафедрой — проф. С.Б.Петерсон);

³Российский онкологический научный центр им. Н.Н.Блохина РАМН, Москва

(директор — акад. РАН и РАМН, проф. М.И.Давыдов)

Статья носит обзорный характер и посвящена одной из актуальных тем онкологии — диагностике местно-распространенного рака предстательной железы. Представлено современное состояние вопроса и выделены основные дискуссионные стороны данной проблемы. Изложены основные методы диагностики: пальцевое ректальное исследование, исследование простатспецифического антигена, ультразвуковое исследование, МРТ, биопсия предстательной железы.

Ключевые слова: местно-распространенный рак предстательной железы, магнитно-резонансная томография, ультразвуковое исследование предстательной железы

Methods of Diagnosis of Locally Advanced Prostate Cancer (Review)

V.I.Shirokorad¹, S.B.Peterson², S.V.Chulkova³, D.I.Volodin¹,
V.V.Kapustin¹, A.V.Egorova², N.V.Lepkova², A.I.Benevskiy²

¹Moscow City Cancer Hospital № 62

(Chief Doctor — Prof. A.N.Makhson);

²Pirogov Russian National Research Medical University,
Department of Oncology and Radiotherapy of Medical Faculty, Moscow

(Head of the Department — Prof. S.B.Peterson);

³N.N.Blokhin Russian Cancer Research Center of RAMS, Moscow

(Director — Acad. of RAS and RAMS, Prof. M.I.Davydov)

The paper is devoted to a review and one of the actual topics of oncology — diagnosis of locally advanced prostate cancer. It provides the current status of the problem and highlights the major debated parties of the issue. The article describes the main methods of diagnosis: digital rectal examination, prostate specific antigen study, ultrasound, magnetic resonance imaging, biopsy of the prostate.

Key words: locally advanced prostate cancer, magnetic resonance imaging, ultrasonography of the prostate

В структуре заболеваемости злокачественными новообразованиями мужского населения в России рак

предстательной железы (РПЖ) занимает второе место (10,7%). С 2004 по 2009 г. прирост абсолютного числа заболевших составил 65,5% [1]. За 2011 г. в Москве на учет поставлены 3610 пациентов с РПЖ, что составляет 61% ($n = 5910$) общего количества пациентов с онкоурологической патологией. Из них 21,6% ($n = 780$) больных имеют III стадию заболевания.

Таким образом, на сегодняшний день на первый план выходит разработка методов диагностики не только ранних стадий этой болезни, но и местно-распространенного РПЖ.

Для корреспонденции:

Чулкова Светлана Васильевна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории иммунологии гемопоэза Российского онкологического научного центра им. Н.Н.Блохина РАМН

Адрес: 115478, Москва, Каширское ш., 24

Телефон: (495) 324-1430

E-mail: chulkova@mail.ru

Статья поступила 18.09.2013, принята к печати 20.02.2014

Пальцевое ректальное исследование

Известно, что РПЖ проявляется наличием локального уплотнения в органе. На этом основано применение трансректальной пальпации — стандартного метода исследования предстательной железы. Пальцевое ректальное исследование (ПРИ) — самый простой, дешевый и безопасный метод диагностики РПЖ. Однако он не отличается достоверностью, поскольку на ранней стадии можно выявить уплотнения в периферической зоне, допуская ошибки у 80% больных [2]. Кроме того, особое значение имеет квалификация уролога. Чувствительность метода, по мнению ряда авторов, составляет 45–92%, при специфичности до 48–97% [2, 3].

Ультразвуковая диагностика

В настоящее время ультразвуковые методы исследования в диагностике РПЖ заняли свое место и имеют определенную последовательность. Так, В.Н.Шолохов [4], J.M.Kelly и соавт. [5] считают, что начинать исследование простаты необходимо именно трансабдоминальным доступом, чтобы получить общее представление о состоянии органов таза, а затем переходить к трансректальному ультразвуковому исследованию (ТРУЗИ). На сегодняшний день ТРУЗИ в диагностике РПЖ, особенно в сочетании с прицельной биопсией, имеет неоспоримые преимущества перед систематической биопсией и повышает уровень диагностики РПЖ в два раза [6].

Трансректальное ультразвуковое исследование позволяет не только визуализировать опухолевое образование, но и выявить признаки пенетрации капсулы, опухолевой инфильтрации семенных пузырьков, перипростатической клетчатки, мочевого пузыря. Таким образом, ТРУЗИ может использоваться для оценки степени местного распространения опухолевого процесса и определения стадии заболевания. По данным различных авторов, от 39 до 50% опухолей предстательной железы имеют изоэхогенную структуру, т.е. не отличаются от окружающих тканей. В большинстве случаев это высокодифференцированные опухоли или опухоли, инфильтрирующие ткань предстательной железы. По данным А.В.Зубарева, С.М.Алферова, В.Е.Гажоновой, ультразвуковая картина при РПЖ зависит от размера, времени существования опухолевого узла и сопутствующих неопухолевых заболеваний предстательной железы, а не от гистологической градации опухоли [7, 8].

По данным литературы, чувствительность ТРУЗИ колеблется в пределах от 48 до 96%, а специфичность данного метода составляет 66–94% [8, 9].

Простатспецифический антиген

Значительный прогресс в диагностике РПЖ в конце XX и начале XXI столетия произошел в связи с внедрением в клиническую практику методов определения онкомаркеров.

В сыворотке крови человека простатспецифический антиген (ПСА) находится преимущественно в виде комплексов с различными экстрацеллюлярными белковыми

ингибиторами протеаз. Уровень общего ПСА (ОПСА) в сыворотке крови в норме составляет 4 нг/мл, что примерно в миллион раз меньше его содержания в эякуляте.

С 1986 г. ПСА-тест получил широкое распространение в связи с направлением больных на раннюю диагностику РПЖ и использованием в комбинации с ПРИ. Отрицательные результаты ПРИ и повышенный уровень ПСА дают основания для дальнейшего обследования пациента с помощью ТРУЗИ и (или) биопсии простаты. Во избежание ложноположительных результатов не рекомендуется проводить определение уровня ПСА после катания на велосипеде, эякуляции, массажа, а также взятия биопсии.

Диагностика РПЖ базируется не только на вышеприведенных тестах, но также на биопсии предстательной железы под контролем УЗИ с последующим морфологическим исследованием биоптатов.

По данным К.Л.Локшина и соавт. [10] и В.Н.Шолохова [4], предсказанное положительное значение теста для ПРИ, ПСА и ТРУЗИ составляет соответственно 43, 40 и 34%. Однако при сочетанном использовании трех методов этот показатель достигает 68%.

Исходя из вышеизложенного ни ТРУЗИ, ни определение уровня ПСА не могут служить самостоятельными методами диагностики РПЖ.

Корреляция уровня ПСА и степени злокачественности карциномы по Глиссону при микроскопическом исследовании изучалась различными исследователями. Т.А.Стэйм впервые выявил корреляцию между уровнем ПСА и степенью злокачественности опухоли. В настоящее время установлено, что увеличение ПСА до 15 нг/мл и выше в сочетании с низкой дифференцировкой опухоли (7 или выше по шкале Глисона) в 50% случаев указывает на экстракапсулярную инвазию [11].

Чувствительность теста на ПСА равна 84%, при низкой специфичности — 7,5%. Низкая специфичность указывает на то, что увеличение концентрации ПСА нередко происходит и при заболеваниях неопухолевой природы, что согласуется с литературными данными [2, 11, 13].

Роль биопсии в диагностике рака предстательной железы

РПЖ чаще всего возникает первично в периферической зоне. Аденокарцинома может быть различной степени дифференцировки — от очень высокодифференцированной до резко анаплазированной. Необходимо отметить, что в 70–85% случаев отмечается наличие первично-множественных очагов рака в предстательной железе. Именно поэтому оценка направленности и степени дифференцировки опухоли должна учитывать все зоны поражения предстательной железы [6]. Наряду с делением карциномы простаты по степени дифференцировки на высоко-, умеренно- и низкодифференцированную в последние годы широкое распространение получила оценка дифференцировки по схеме D.F.Gleason [13]. Она основана прежде всего на гистологических критериях и производится при исследовании препаратов на малом и среднем увеличении. При этом оценивается преобладающая (первичная) структурная характеристика опухоли и вторая по

значимости (вторичная) характеристика. Последняя должна занимать не менее 5% площади опухоли. Каждая из них оценивается по 5-балльной шкале, где 1 балл присваивается наиболее дифференцированным опухолям, а 5 баллов — наименее дифференцированным.

Поскольку при анализе выживаемости больных D.F.Gleason обнаружил, что в случаях, где опухоль имела неодинаковое строение в разных участках, уровень смертности оказался между двух ожидаемых значений, он предложил использовать оба показателя, что и составляет сумму Глисона. Величина этой суммы, таким образом, колеблется от 2 (1 + 1) до 10 (5 + 5) баллов.

Одинаковые цифры суммируются, когда опухоль имеет однотипную характеристику по дифференцировке в разных участках. Сумма Глисона оказалась чрезвычайно точным прогностическим признаком. Особенно значимыми являются показатели ниже 4 и от 8 до 10, в первом случае свидетельствующие о благоприятном прогнозе, а во втором — о высоком проценте инвазии капсулы простаты, семенных пузырьков и метастатическом поражении лимфатических узлов. Однако 75% опухолей имеют сумму Глисона от 5 до 7 баллов [13].

По данным литературы, пункционная биопсия предстательной железы под контролем УЗИ позволяет верифицировать морфологический диагноз РПЖ лишь у 56,7% пациентов [2, 3], в связи с чем они подвергаются многократным биопсиям.

Магнитно-резонансная томография

Задачи магнитно-резонансной томографии (МРТ) в диагностике РПЖ следующие: определение стадии заболевания, оценка инвазии капсулы, выхода опухоли за ее пределы, а также оценка состояния тазовых лимфатических узлов.

Рак предстательной железы на МР-томограммах в 67% случаев может выявляться как гипоинтенсивный фокус в периферической зоне органа. Для него характерен дефект интенсивности МР-сигналов в дорсальных отделах органа от 10 мм и более с относительно низкой их интенсивностью по отношению к остальным участкам предстательной железы. Большинство авторов придерживаются мнения, что при РПЖ в основном прослеживаются неоднородные очаги низкой интенсивности в периферической зоне, придающие органу «узловатый» вид. Данные очаги проявляются неоднородными сигналами низкой интенсивности на T1-взвешенных МР-изображениях и увеличением интенсивности на T2-изображениях. При использовании такой методики очаги с низкой интенсивностью МР-сигналов соответствуют данным о локализации узла, установленным ПРИ, в случаях местно-распространенного РПЖ [12, 15]. Исследователи единодушны в том, что основным признаком внекапсулярного распространения рака по данным МРТ являются изменения сигналов от перипростатического венозного сплетения, парапростатической жировой клетчатки, семенных пузырьков.

Чувствительность МРТ составляет 88,9%, что сравнимо с ее специфичностью — 82,7%, а негативное предска-

зательное значение — 92,3%. По данным европейских авторов, точность МРТ в определении стадии РПЖ колеблется в пределах от 54 до 87% [9, 12, 16].

Таким образом, диагностика местно-распространенного РПЖ не может основываться на каком-то одном из рассмотренных методов, поскольку ни один из них не обладает 100% чувствительностью и специфичностью. Адекватная диагностика местно-распространенного РПЖ — основа для правильного подбора терапии конкретному пациенту, поэтому необходим комплексный подход: определение уровня ПСА, проведение ПРИ, УЗИ, ТРУЗИ, МРТ, прицельной биопсии предстательной железы с правильной интерпретацией данных морфологом.

Литература

1. Давыдов М.И., Аксель Е.М. Статистика злокачественных новообразований в России и странах СНГ в 2009 г. // Вестн. РОНЦ. 2011. Т.22. №3. С.58.
2. Матвеев Б.П., Бухаркин Б.В., Матвеев В.Б. Рак предстательной железы. М.: Агропринт, 1999. 153 с.
3. Бухаркин Б.В., Подрегульский К.Э. Рак предстательной железы // Онкол. клин. РЖ. 1999. Т.1. №1. С.5–8.
4. Шолохов В.Н. Ультразвуковая диагностика рака предстательной железы: роль и место в диагностическом комплексе // Актуальные вопросы лечения онкологических заболеваний: Матер. 3-й Всерос. научн. конф. с участием стран СНГ. Сборник работ. М., 1999. С.36–38.
5. Kelly J.M., Lers W.R., Rickards D. Prostate cancer and the role of color Doppler ultrasound // Radiology. 1993. V.189. P.153–156.
6. Шолохов В.Н., Вишняков А.А. Современные методы ультразвуковой диагностики рака предстательной железы // Онкол. клин. РЖ. 1999. Т.1. №1. С.7–8.
7. Зубарев А.В., Алферов С.М., Гажонова В.Е. Современная лучевая диагностика рака предстательной железы // Современные возможности диагностики и лечения рака предстательной железы: Матер. Межд. научн.-практ. конф., Москва, 7 апреля 2004 г. М., 2004. С.11–18.
8. Гажонова В.Е. Ультразвуковая, цветовая ангиография предстательной железы: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 1998. 25 с.
9. Громов А.И. Ультразвуковое исследование предстательной железы. М.: Биоинформсервис, 1999. 136 с.
10. Локшин К.Л., Демидко Ю.Л., Спивак Л.Г. Трансректальная доплерография в обследовании больного раком предстательной железы // Сбор. матер. Пленума Всероссийского общества урологов. М., 1999. С.95.
11. Stamey T.A., Chen Z., Prestigiacomo A. Serum prostate specific antigen binding alpha 1-antichymotrypsin: influence of cancer volume, location and therapeutic selection of resistant clones // J Urol (Baltimore). 1994. V.152 (5 Pt 1). P.1510–1514.
12. Engelbrecht M.R., Jager G.J., Severens J.L. Patient selection for magnetic resonance imaging of prostate cancer // Eur Urol. 2001. V.40 (3). P.300–307.
13. Gleason D.F. Classification of prostatic carcinomas // Cancer Chemother Rep. 1966. V.50 (3). P.125–128.
14. Parkin D.M., Pisani P., Ferlay J. Estimates of the worldwide incidence of eighteen major cancers in 1985 // Int J Cancer. 1993. V.54 (4). P.594–606.
15. Huch Böni R.A., Boner J.A., Lütolf U.M. et al. Contrast-enhanced endorectal coil MRI in local staging of prostate carcinoma // J Comput Assist Tomogr. 1995. V.19 (2). P.232–237.
16. Hole K.H., Axcrone K., Lie A.K. et al. Routine pelvic MRI using phased-array coil for detection of extraprostatic tumour extension: accuracy and clinical significance // Eur Radiol. 2013. V.23 (4). P.1158–1166.

Информация об авторах:

Широкорад Валерий Иванович, доктор медицинских наук, заведующий урологическим отделением Московской городской онкологической больницы № 62
Адрес: 143423, МО, Красногорский р-н, п/о Степановское, пос. Истра, стр. 27
Телефон: (495) 536-0200
E-mail: volodin_666@mail.ru

Капустин Владимир Викторович, кандидат медицинских наук, заведующий отделением ультразвуковой диагностики Московской городской онкологической больницы № 62
Адрес: 143423, МО, Красногорский р-н, п/о Степановское, пос. Истра, стр. 27
Телефон: (495) 536-0200
E-mail: volodin_666@mail.ru

Петерсон Сергей Борисович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой онкологии и лучевой терапии лечебного факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (495) 324-9684
E-mail: chulkova@mail.ru

Егорова Ангелина Владимировна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры онкологии и лучевой терапии лечебного факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (495) 324-9684
E-mail: sapphir5@mail.ru

Лепкова Наталья Васильевна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры онкологии и лучевой терапии лечебного факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (495) 324-9684
E-mail: sapphir5@mail.ru

Беневский Александр Иванович, кандидат медицинских наук, доцент кафедры онкологии и лучевой терапии лечебного факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (495) 324-9684
E-mail: sapphir5@mail.ru

Володин Денис Игоревич, врач-онколог онкоурологического кабинета Московской городской онкологической больницы № 62
Адрес: 143423, МО, Красногорский район, п/о Степановское, пос. Истра, стр. 27
Телефон: (495) 536-0180
E-mail: volodin_666@mail.ru

ИЗ ЖИЗНИ УНИВЕРСИТЕТА

Учебники и монографии

Ревматология: Учебное пособие / Под ред. проф. Н.А.Шостак. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. 448 с.

В пособие вошли сведения по важному аспекту внутренней медицины — ревматическим заболеваниям, объединяющим болезни суставов, позвоночника, ревматические болезни сердца, диффузные заболевания соединительной ткани, а также проблемы соединительнотканной дисплазии. Изложены современные представления о механизмах развития болезней и методах исследования в ревматологии. Представлены ведущие клинические синдромы, приводится алгоритм дифференциальной диагностики по наиболее распространенным проявлениям ревматических заболеваний. Отражены вопросы критериального диагноза и современные терапевтические подходы к лечению. Для оптимизации образовательного процесса приводится тестовый контроль. Пособие предназначено для врачей общей практики, терапевтов, ревматологов, специалистов смежных специальностей, а также студентов медицинских вузов.

Организация медицинской помощи населению: Учебно-методическое пособие для студентов / Под ред. Н.В.Полуниной, Ю.П.Лисицина. М.: ИД «МЕДПРАКТИКА-М», 2013.

В учебно-методическом пособии представлены особенности оказания медицинской помощи различным группам населения, рассмотрены основные виды медицинской документации, которая ведется в лечебно-профилактических учреждениях, изложены особенности осуществления экспертизы временной нетрудоспособности, даны основы оценки деятельности медицинских учреждений. Пособие содержит типовые задания, образцы их выполнения, варианты индивидуальных заданий, контрольные вопросы к каждой теме. Учебно-методическое пособие предназначено для студентов и преподавателей лечебных, педиатрических, клинико-психологических факультетов медицинских вузов. Пособие может быть полезным врачам-интернам, клиническим ординаторам, аспирантам медицинских вузов.

Модулирующая роль простагландина E_2 в холинергической регуляции сердечной деятельности у нормотензивных животных

А.Ю.Рунихин¹, Г.В.Порядин², В.И.Савчук³

¹Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, кафедра эндокринологии и диабетологии факультета усовершенствования врачей, Москва (зав. кафедрой — проф. И.Ю.Демидова);

²Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, кафедра патофизиологии и клинической патофизиологии лечебного факультета, Москва (зав. кафедрой — акад. РАМН, проф. Г.В.Порядин);

³Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, НИИ фундаментальных и прикладных биомедицинских исследований, Москва (директор — проф. А.П.Эттингер)

Цель исследования — оценить влияние простагландина E_2 (PGE_2) на холинергическую регуляцию сердца. На 88 здоровых кошках установлено, что PGE_2 обладает кардиодепрессорным эффектом, в реализации которого участвуют блуждающие нервы. Под влиянием PGE_2 возрастает активность немиелинизированных С-афферентных волокон вагуса, что приводит к ваготонии. Ваготонический эффект PGE_2 является одним из механизмов его кардиодепрессорного и антигипертензивного действия. Модулирующее влияние PGE_2 на холинергическую иннервацию может повысить эффективность контроля артериального давления и улучшить морфофункциональное состояние жизненно важных органов.

Ключевые слова: простагландин E_2 , блуждающий нерв, С-афферентные волокна, антигипертензивный эффект

Prostaglandin E_2 Modulating Cholinergic Regulation of Cardiovascular System in Normotensive Animals

A.Yu.Runikhin¹, G.V.Poryadin², V.I.Savchuk³

¹Pirogov Russian National Research Medical University, Department of Endocrinology and Diabetology of Doctors Improvement Faculty, Moscow (Head of the Department — Prof. I.Yu.Demidova);

²Pirogov Russian National Research Medical University, Department of Pathophysiology and Clinical Pathophysiology of Medical Faculty, Moscow (Head of the Department — Acad. of RAMS, Prof. G.V.Poryadin);

³Pirogov Russian National Research Medical University, Institute for Fundamental and Applied Biomedical Research, Moscow (Director — Prof. A.P.Oettinger)

The aim of the study was the evaluation of prostaglandin E_2 (PGE_2) influence on cholinergic cardiac innervation. Our experimental investigation established that PGE_2 induced cardiodepressor effect in normotensive cats ($n = 88$) due to *vagus nerves* activation. PGE_2 stimulated vagal C-afferent fibers thus leading to vagotonia. Vagotonic effect of PGE_2 is one of the mechanisms for myocardium contractility and antihypertensive action. PGE_2 modulating cholinergic influence may improve blood pressure control and morphology and function of vital organs.

Key words: prostaglandin E_2 , vagus nerve, C-afferent fibers, antihypertensive effect

Для корреспонденции:

Савчук Вера Игоревна, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник НИИ фундаментальных и прикладных биомедицинских исследований Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова

Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1

Телефоны: (495) 434-4400

E-mail: runikhinau@mail.ru

Статья поступила 02.09.2013, принята к печати 20.02.2014

В настоящее время установлено, что простагландин E_2 (PGE_2) является эндогенным регулятором сократительной функции сердца [1, 2], мощным артериальным вазодилататором [2, 3], улучшает кровоснабжение миокарда, почек, головного мозга [2, 4]. Физиологические эффекты действия PGE_2 на кардиомиоциты и гладкомышечные клетки сосудов обусловлены его влиянием на аденилатциклазную систему клеток посредством

стимуляции PGE₂-рецепторов и модуляции активности β₂-адренорецепторов [2, 5, 6]. В экспериментальных исследованиях было показано, что PGE₂ оказывает не только прямое воздействие на клетки-мишени внутренних органов, но и модулирует их вегетативную регуляцию, уменьшая чрезмерную симпатотонию [1, 4, 7–9]. В меньшей степени изучено воздействие PGE₂ на парасимпатическую регуляцию функций внутренних органов.

Наше исследование посвящено изучению влияния простагландина E₂ на холинергическую (вагусную) регуляцию органов кровообращения.

Материалы и методы

Опыты проведены на 88 нормотензивных здоровых кошках (с массой тела 2,5–3 кг), наркотизированных нембуталом (40 мг/кг), в условиях управляемого дыхания с контролем за pH, pO₂ и pCO₂. PGE₂ (50 мкг/кг) вводили болюсно в ушко левого предсердия. Такой способ введения предотвращал быструю инактивацию PGE₂ в легких.

Уровень АД измеряли датчиком, введенным в бедренную артерию. Среднее динамическое АД (АД_{ср}) определяли как сумму величин диастолического и 1/3 пульсового АД. Для оценки влияния PGE₂ на кардиогемодинамику при помощи введенного через сонную артерию зонда-электрода регистрировали конечное систолическое давление в левом желудочке (КСД_{лж}), скорость его нарастания в ЛЖ (dp/dt-с) как показатель уровня сократительной активности ЛЖ и скорость снижения давления в ЛЖ (dp/dt-р), которая характеризовала расслабление миокарда в диастоле. Все показатели регистрировались в автоматическом режиме на мингографе.

Выполнено 4 серии исследований. В 1-й серии изучали влияние PGE₂ на показатели системной и внутрисердечной гемодинамики у 28 кошек с сохранной (интактной) вегетативной иннервацией. Во 2-й серии у 10 кошек исследовали влияние PGE₂ на системную и внутрисердечную гемодинамику после двусторонней ваготомии. В 3-й серии у 20 кошек изучали модулирующее влияние PGE₂ на гемодинамические параметры в условиях электрической стимуляции вагуса. В 4-й серии у 30 кошек изучали роль миелинизированных (А) и немиелинизированных (С) волокон вагуса в реализации кардиотропного эффекта PGE₂, для чего проводили селективную или тотальную термоблокаду кардиальных афферентных волокон вагуса. С этой целью после пересечения левого блуждающего нерва расщепляли правый блуждающий нерв на тонкие филаменты и из них выделяли афферентные кардиальные волокна, синхронно регистрируя биоэлектрические импульсы, соответствующие различным фазам сердечного цикла. Для достижения селективной термоблокады миелинизированных А-афферентных нервных проводников афферентные волокна охлаждали до +8 °С с помощью специального термодиода. При охлаждении афферентных волокон до +2 °С вызывали тотальную блокаду А- и С-афферентных волокон вагуса.

Для статистической обработки данных использовали пакет программ «Statistica v. 6.0», применяли *t*-критерий Стьюдента.

На проведение экспериментов получено разрешение Этического комитета РНИМУ им. Н.И.Пирогова (протокол № 85 от 15.12.2008).

Результаты исследования и их обсуждение

Все животные, включенные в исследование, были нормотензивными — систолическое и диастолическое АД колебалось в пределах 117–124 и 70–77 мм рт.ст. соответственно.

В 1-й серии опытов у кошек с интактной бульбарной иннервацией до применения PGE₂ гемодинамические показатели были следующими: АД — 118 ± 2,3/70 ± 1,5 мм рт.ст. (АД_{ср} = 86 ± 1,8 мм рт.ст.), КСД_{лж} = 127 ± 2,2 мм рт.ст., dp/dt-с = 5506 ± 351 мм рт.ст./с, dp/dt-р = 5145 ± 501 мм рт.ст./с. После введения в ушко левого предсердия PGE₂ в дозе 50 мкг/кг через 5–15 с развивался гипотензивный эффект, который достигал максимума через 60–70 с, когда снижение АД_{ср} составляло 40 ± 3,1 мм рт.ст. (46,5%; *p* < 0,01). Под влиянием PGE₂ также снизились КСД_{лж} на 56 ± 3,9 мм рт.ст. (44,1%; *p* < 0,01), сократительная способность ЛЖ (dp/dt-с) на 3056 ± 325 мм рт.ст./с (55,5%; *p* < 0,01) и скорость расслабления миокарда ЛЖ (dp/dt-р) на 2933 ± 756 мм рт.ст./с (57%; *p* < 0,05) (рис. 1).

Ранее механизм гипотензивного действия PGE₂ связывали только с расширением резистивных сосудов [2]. Полученные нами данные свидетельствуют, что отчасти гипотензивный эффект PGE₂ может быть связан со снижением сократительной способности миокарда. Индуцированное PGE₂ снижение скорости расслабления миокарда может усиливать кардиодепрессорный эффект за счет уменьшения диастолического наполнения ЛЖ.

Во 2-й серии опытов у кошек, подвергнутых двусторонней ваготомии, до введения PGE₂ гемодинамические показатели были следующими: АД — 122 ± 3,8/74 ± 2,4 мм рт.ст. (АД_{ср} = 90 ± 3,6 мм рт.ст.), КСД_{лж} = 133 ± 4,0 мм рт.ст.,

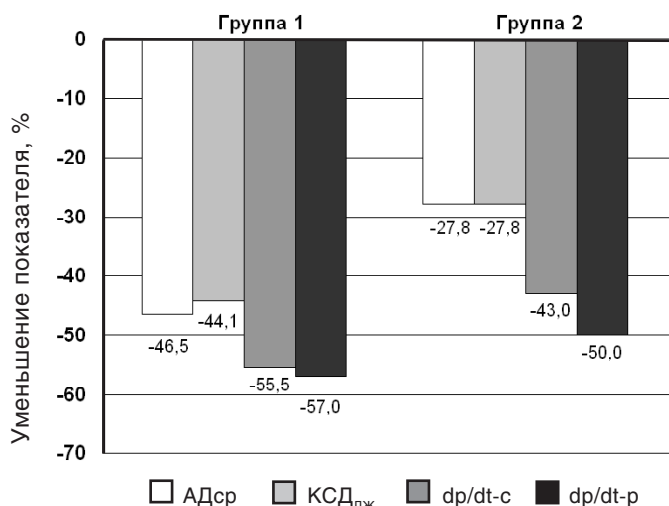


Рис. 1. Влияние PGE₂ (50 мкг/кг внутрисердечно) на гемодинамику у кошек с интактной иннервацией (группа 1) и после двусторонней ваготомии (группа 2).

Здесь и на рис. 2 и 3: АД_{ср} — среднее динамическое АД; КСД_{лж} — конечное систолическое давление в левом желудочке сердца; dp/dt-с — скорость нарастания давления в левом желудочке; dp/dt-р — скорость расслабления миокарда левого желудочка.

$dp/dt-c = 5874 \pm 410$ мм рт.ст./с, $dp/dt-p = 5303 \pm 441$ мм рт.ст./с. В ответ на введение ПГЕ₂ общая направленность изменения всех показателей у них была такой же, как у животных с интактными блуждающими нервами, а именно: АД_{ср} снизилось на $25 \pm 2,9$ мм рт.ст. (27,8%; $p < 0,01$), КСД_{лж} — на $37 \pm 2,0$ мм рт.ст. (27,8%; $p < 0,001$), $dp/dt-c$ — на 2526 ± 346 мм рт.ст./с (43,0%; $p < 0,001$), $dp/dt-p$ — на 2651 ± 273 мм рт.ст./с (50%; $p < 0,001$) (см. рис. 1). Вместе с тем обращает внимание, что после парасимпатической денервации (по сравнению с кошками с сохранной иннервацией) ПГЕ₂ снижал АД_{ср} в 1,7 раза меньше ($p < 0,01$), КСД_{лж} — в 1,6 раза меньше ($p < 0,01$), сократимость миокарда ЛЖ — в 1,3 раза меньше ($p < 0,05$).

Сопоставление данных, полученных в 1-й и 2-й сериях опытов, свидетельствует, что частичная парасимпатическая денервация ослабляет гипотензивный и кардиогемодинамические эффекты ПГЕ₂. Это позволило сформулировать принципиальное положение о том, что гипотензивный эффект ПГЕ₂ является результатом не только прямого вазодилатирующего действия, но также связан с его модулирующим воздействием на парасимпатическую регуляцию системы кровообращения.

В 3-й серии опытов исследовали гемодинамический эффект ПГЕ₂ на фоне экспериментального усиления холинергических влияний путем электрической стимуляции правого блуждающего нерва. Для электрической стимуляции выделенных афферентных волокон вагуса использовали платиновые биполярные электроды с межполюсным расстоянием 2 мм, нанося раздражение величиной 5 В с длительностью каждого импульса 1 мс и общей продолжительностью стимуляции 5 с.

Проведено сравнение интенсивности рефлекторных реакций на стимуляцию вагуса в контрольной группе животных, которым не вводили ПГЕ₂ (подгруппа 3А; $n = 10$), с интенсивностью реакций у животных, которым стимуляцию вагуса проводили после введения 50 мкг/кг ПГЕ₂ в ушко левого предсердия (подгруппа 3Б; $n = 10$). Исходные значения гемодинамических показателей у кошек в подгруппе 3А были следующими: АД — $120 \pm 3,5/73 \pm 2,2$ мм рт.ст.

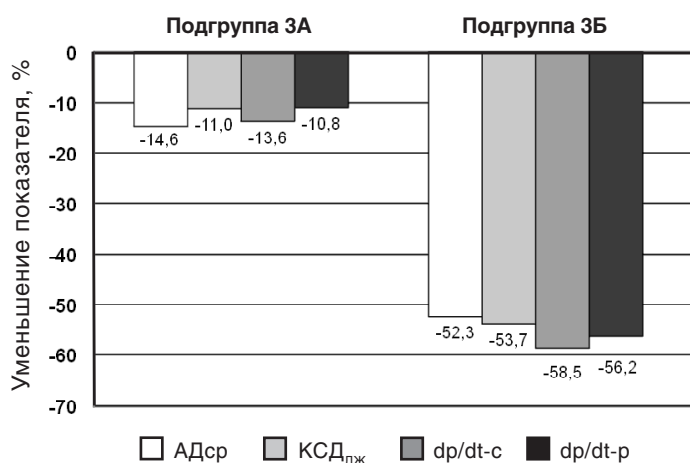


Рис. 2. Гемодинамические эффекты электрической стимуляции блуждающего нерва у кошек и их изменение под влиянием ПГЕ₂ (50 мкг/кг внутрисердечно). Подгруппа 3А — стимуляция *n.vagus* после введения ПГЕ₂; подгруппа 3Б — стимуляция *n.vagus* после введения ПГЕ₂.

(АД_{ср} = $89 \pm 2,8$ мм рт.ст.), КСД_{лж} = $127 \pm 3,8$ мм рт.ст., $dp/dt-c = 5573 \pm 546$ мм рт.ст./с, $dp/dt-p = 5337 \pm 451$ мм рт.ст./с. В подгруппе 3Б эти показатели составляли: АД — $117 \pm 3,6/71 \pm 1,9$ мм рт.ст. (АД_{ср} = $86 \pm 2,5$ мм рт.ст.), КСД_{лж} = $123 \pm 3,1$ мм рт.ст., $dp/dt-c = 5607 \pm 599$ мм рт.ст./с, $dp/dt-p = 5086 \pm 531$ мм рт.ст./с. У кошек подгруппы 3А, которым не вводили ПГЕ₂, электростимуляция вагуса вызвала снижение АД_{ср} на $13 \pm 2,1$ мм рт.ст. (14,6%; $p < 0,05$), КСД_{лж} — на $14 \pm 3,0$ мм рт.ст. (11%; $p < 0,05$), $dp/dt-c$ — на 758 ± 384 мм рт.ст./с (13,6%; $p > 0,05$), $dp/dt-p$ — на 576 ± 377 мм рт.ст. (10,8%; $p > 0,05$) (рис. 2). У кошек подгруппы 3Б, которым вагус раздражали после предварительного введения ПГЕ₂, АД_{ср} снизилось на $45 \pm 2,2$ мм рт.ст. (52,3%; $p < 0,01$), КСД_{лж} — на $66 \pm 3,1$ мм рт.ст. (53,7%; $p < 0,01$), $dp/dt-c$ — на 3280 ± 313 мм рт.ст./с (58,5%; $p < 0,01$), $dp/dt-p$ — на 2858 ± 277 мм рт.ст./с (56,2%; $p < 0,01$) (см. рис. 2).

Таким образом, под влиянием ПГЕ₂ способность вагуса снижать АД_{ср} возросла в 3,6 раза ($p < 0,01$), снижать КСД_{лж} — в 4,9 раза ($p < 0,01$), снижать $dp/dt-c$ — в 4,3 раза ($p < 0,01$), снижать $dp/dt-p$ — в 5,2 раза ($p < 0,01$). Выявленная нами способность ПГЕ₂ потенцировать снижение АД, индуцированное ваготонией, согласуется с данными, полученными другими исследователями [1, 7]. В наших опытах показано, что ПГЕ₂ модулирует (усиливает) влияние вагуса не только на уровень АД, но и на показатели внутрисердечной гемодинамики.

Модулирующее влияние ПГЕ₂ на парасимпатическую регуляцию сердечной деятельности предположительно является результатом изменения рефлекторной регуляции сердечно-сосудистой системы. Теоретически такое влияние может быть следствием стимулирующего действия ПГЕ₂ на хеморецепторы и хемочувствительные окончания сердца и сосудов, которые связаны с бульбарными С-афферентными кардиоваскулярными волокнами. Для проверки этой гипотезы проведена 4-я серия опытов. У 10 кошек исследовали эффекты ПГЕ₂ после левосторонней ваготомии, но без термоблокады правого вагуса (подгруппа 4А). У других 10 кошек исследовали влияние ПГЕ₂ на гемодинамику в условиях левосторонней ваготомии в сочетании с селективной термоблокадой миелинизированных А-волокон правого вагуса (подгруппа 4Б). Еще у 10 кошек гемодинамические эффекты ПГЕ₂ оценивали в условиях левосторонней ваготомии в сочетании с тотальной термоблокадой А-волокон и немиелинизированных С-волокон правого вагуса (подгруппа 4В). Такой методический прием позволил провести дифференцированную оценку роли различных бульбарных афферентных структур в реализации нейрогенного влияния ПГЕ₂ на сердечно-сосудистую систему.

У кошек подгруппы 4А исходные показатели были следующими: АД — $121 \pm 3,0/75 \pm 2,6$ мм рт.ст. (АД_{ср} = $90 \pm 2,5$ мм рт.ст.), КСД_{лж} = $129 \pm 3,4$ мм рт.ст., $dp/dt-c = 5719 \pm 507$ мм рт.ст./с, $dp/dt-p = 5057 \pm 351$ мм рт.ст./с. У них ПГЕ₂ снизил АД_{ср} на $32 \pm 2,1$ мм рт.ст. (35,6%; $p < 0,01$), КСД_{лж} — на $37 \pm 4,5$ мм рт.ст. (28,7%; $p < 0,01$), $dp/dt-c$ — на 1836 ± 246 мм рт.ст./с (32,1%; $p < 0,01$), $dp/dt-p$ — на 2028 ± 235 мм рт.ст./с (40,1%; $p < 0,001$) (рис. 3).

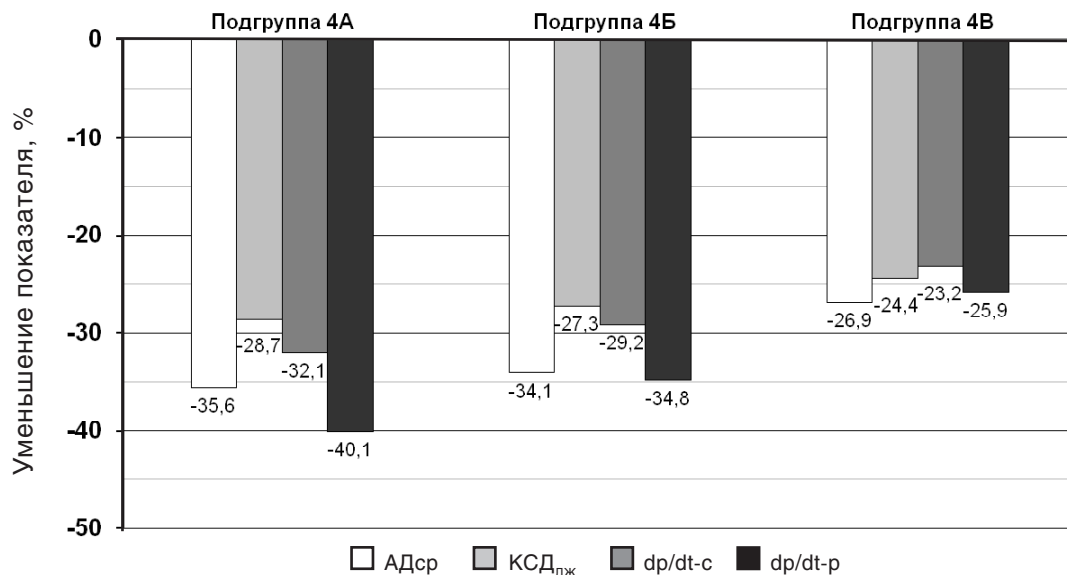


Рис. 3. Участие А-афферентных и С-афферентных волокон блуждающего нерва в реализации эффекта действия ПГЕ₂ (50 мкг/кг внутрисердечно) на гемодинамику. Подгруппа 4А — эффект ПГЕ₂ на фоне левосторонней ваготомии без проведения термоблокады правого *n.vagus*; подгруппа 4Б — эффект ПГЕ₂ на фоне левосторонней ваготомии и правосторонней термоблокады А-волокон *n.vagus*; подгруппа 4В — эффект ПГЕ₂ на фоне левосторонней ваготомии и правосторонней термоблокады А-волокон и С-волокон *n.vagus*.

Селективная термоблокада А-афферентных волокон, осуществленная у кошек подгруппы 4Б, не повлияла на эффекты действия ПГЕ₂. До введения ПГЕ₂ у них АД составило $122 \pm 3,4/76 \pm 2,2$ мм рт.ст. (АДср = $91 \pm 3,2$ мм рт.ст.), КСД_{лж} — $132 \pm 3,9$ мм рт.ст., dp/dt-c — 5778 ± 564 мм рт.ст./с, dp/dt-p — 5177 ± 413 мм рт.ст./с. На фоне селективной блокады А-волокон вагуса ПГЕ₂ снизил АДср на $31 \pm 3,1$ мм рт.ст. (34,1%; $p < 0,01$), КСД_{лж} — на $36 \pm 4,2$ мм рт.ст. (27,3%; $p < 0,01$), сократительную способность миокарда — на 1687 ± 420 мм рт.ст./с (29,2%; $p < 0,01$), скорость расслабления миокарда — на 1802 ± 290 мм рт.ст./с (34,8%; $p < 0,01$) (см. рис. 3). Достоверное различие эффектов ПГЕ₂ у животных без термоблокады (подгруппа 4А) и у животных с селективной термоблокадой А-афферентных волокон (подгруппа 4Б) отсутствовало. Это позволяет считать, что миелинизированные кардиоваскулярные волокна вагуса не имеют существенного значения в реализации эффекта действия ПГЕ₂ на сердечную деятельность.

У кошек с тотальной термоблокадой А- и С-афферентных волокон вагуса (подгруппа 4В) до применения ПГЕ₂ гемодинамические параметры были следующими: АД — $124 \pm 2,1/77 \pm 2,0$ мм рт.ст. (АДср = $93 \pm 3,1$ мм рт.ст.), КСД_{лж} = $135 \pm 3,8$ мм рт.ст., dp/dt-c = 5900 ± 533 мм рт.ст./с, dp/dt-p = 5214 ± 407 мм рт.ст./с. Введение этим животным ПГЕ₂ вызвало снижение АДср на $25 \pm 2,9$ мм рт.ст. (26,9%; $p < 0,01$), КСД_{лж} — на $33 \pm 4,1$ мм рт.ст. (24,4%; $p < 0,01$), dp/dt-c — на 1369 ± 153 мм рт.ст./с (23,2%; $p < 0,01$), dp/dt-p — на 1350 ± 356 мм рт.ст./с (25,9%; $p < 0,05$) (см. рис. 3). У животных с тотальной термоблокадой блуждающего нерва (подгруппа 4В) степень снижения АДср, подавление сократительной способности миокарда и угнетение расслабления миокарда под влиянием ПГЕ₂ были достоверно менее выраженными, чем у животных без термоблокады вагуса (подгруппа 4А). Учитывая отсутствие влияния блокады миелинизированных волокон вагуса на

эффекты ПГЕ₂, можно считать, что в реализации эффектов действия ПГЕ₂ на уровень АД и кардиогемодинамику участвуют чувствительные немиелинизированные волокна блуждающего нерва. Следует полагать, что тотальная термоблокада вагуса ослабила гемодинамические эффекты ПГЕ₂ именно за счет нарушения проведения по немиелинизированным С-волоконкам. Выраженность гипотензивного эффекта ПГЕ₂ после сочетанной блокады А- и С-волокон была близка к выраженности этого эффекта у кошек, подвергнутых хирургической перерезке обоих блуждающих нервов.

Совокупность полученных данных позволяет считать, что простагландин E₂ реализует свое воздействие на кардиоваскулярную систему как за счет прямой вазодилатации, так и за счет модулирующего влияния на вегетативную иннервацию сердца. Изложенные выше факты свидетельствуют в пользу того, что ПГЕ₂ опосредует свое ваготоническое влияние на гемодинамику через С-афферентные волокна вагуса, связанные с хеморецепторами и хемочувствительными окончаниями, в отличие от А-афферентных волокон, иннервирующих механорецепторы. Можно предполагать, что вводимый внутрисердечно ПГЕ₂ стимулирует хемочувствительные элементы, что приводит к усилению потока импульсов по немиелинизированным С-афферентным бульбарным волокнам в ЦНС и возбуждению ядер блуждающих нервов. Таким образом, в формировании конечного, результирующего, влияния ПГЕ₂ на систему кровообращения имеют значение изменения функционального состояния центральных и периферических нервных механизмов. Следовательно, гипотензивный и кардиодепрессорный эффекты ПГЕ₂ частично опосредуются нейрогенными механизмами.

Полученные нами данные об усилении С-афферентной холинергической активности под влиянием ПГЕ₂ согласуются с результатами других исследований. Было по-

казано, что ПГЕ₂ стимулирует С-афферентные волокна некоторых сосудов [1, 7, 8], легких [10], модулирует нейрогенные реакции желудочно-кишечного тракта [11], почек [8, 12], мочевого пузыря [13]. Влияние ПГЕ₂ на афферентную холинергическую иннервацию сердца ранее не исследовали.

Выявленное нами модулирующее влияние ПГЕ₂ на парасимпатическую регуляцию сердечно-сосудистой системы имеет важное значение. Постоянно образующийся в организме ПГЕ₂, регулируя вегетативную иннервацию органов кровообращения, может способствовать повышению эффективности контроля АД и улучшать морфофункциональное состояние жизненно важных органов [2, 4, 9].

Выводы

1. Простагландин E₂ при внутрисердечном введении нормотензивным кошкам оказывает кардиодепрессорное и гипотензивное действие — достоверно снижает скорость сокращения и расслабления миокарда левого желудочка, конечное систолическое давление в левом желудочке и системное АД.

2. Парасимпатическая нервная система участвует в реализации кардиодепрессорного и гипотензивного эффектов простагландина E₂.

3. Простагландин E₂ усиливает развивающиеся при электрической стимуляции блуждающего нерва холинергические влияния на миокард и уровень АД у нормотензивных кошек.

4. Модулирующее влияние простагландина E₂ на вегетативную иннервацию сердца осуществляется путем активации немиелинизированных С-афферентных кардиоваскулярных волокон блуждающего нерва.

Литература

1. Wang Y.P., Mizoguchi K., Tsuruhara Y. et al. Effects of prostaglandins on baroreflex during reperfusion of the ischemic myocardium // *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2000. V.27 (5–6). P.406–411.
2. Yuhki K., Kojima F., Kashiwagi H. et al. Roles of prostanoids in the pathogenesis of cardiovascular diseases: Novel insights from knockout mouse studies // *Pharmacol Ther*. 2011. V.129 (2). P.195–205.
3. Guyton A.C., Hall J.E. *Textbook of medical physiology*. 12th ed. Philadelphia: International Edition, 2011. 1041 p.

4. Рунихин А.Ю., Савчук В.И. Экспериментальное изменение баланса депрессорных и прессорных простагландинов и его роль в развитии злокачественной артериальной гипертензии // *Вестн. РГМУ*. 2009. №2. С.57–61.
5. St-Jacques B., Ma W. Prostaglandin E2/E4 signaling facilitates EP4 receptor externalization in primary sensory neurons in vitro and in vivo // *Pain*. 2013. V.154 (2). P.313–323.
6. Goncharova E.A., Goncharov D.A., Zhac H. et al. β 2-adrenergic receptor agonists modulate human smooth muscle cell via vasodilator-stimulated phosphoprotein // *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2012. V.46 (1). P.48–54.
7. Yang T., Du Y. Distinct roles of central and peripheral prostaglandin E2 and EP subtypes in blood pressure regulation // *Am J Hypertens*. 2012. V.25 (10). P.1042–1049.
8. Zhang Z.H., Wei S.G., Francis J., Felder R.B. Cardiovascular and renal sympathetic activation by blood-borne TNF-alpha in rat: the role of central prostaglandins // *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*. 2003. V.284 (4). P.R916–R927.
9. Sellers R.S., Radi Z.A., Khan N.K. Pathophysiology of cyclooxygenases in cardiovascular homeostasis // *Vet Pathol*. 2010. V.47 (4). P.601–613.
10. Maher S.A., Birrell M.A., Belvisi M.G. Prostaglandin E2 mediates cough via EP3 receptor: implications for future disease therapy // *Am J Respir Crit Care Med*. 2009. V.180 (10). P.923–928.
11. Hoang D., Macarthur H., Gardner A. et al. Prostanoid-induced modulation of neuropeptide Y and noradrenaline release from the rat mesenteric bed // *Auton Autacoid Pharmacol*. 2003. V.23 (2). P.141–147.
12. Kopp U.C., Cicha M.Z., Nakamura K. et al. Activation of EP4 receptors contributes to prostaglandin E₂-mediated stimulation of renal sensory nerves // *Am J Physiol Renal Physiol*. 2004. V.287 (6). P.F1269–F1282.
13. Aizawa N., Igawa Y., Nishizawa O., Wyndaele J.J. Effects of CL316,243, a beta 3-adrenoceptor agonist, and intravesical prostaglandin E2 on the primary bladder afferent activity of the rat // *Neurourol Urodyn*. 2010. V.29 (5). P.771–776.

Информация об авторах:

Рунихин Александр Юрьевич, доктор медицинских наук, профессор кафедры эндокринологии и диабетологии факультета усовершенствования врачей Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
 Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
 Телефон: (495) 483-9444
 E-mail: runikhinau@mail.ru

Порядин Геннадий Васильевич, академик РАМН, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой патофизиологии и клинической патофизиологии лечебного факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
 Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
 Телефон: (495) 434-4574
 E-mail: gen@rsmu.ru

Антиоксидантное действие дигидрокверцетина в составе нового органолекарства селезенки

М.В.Заико¹, Ю.О.Теселкин², Л.А.Павлова^{1,3}, С.В.Козин¹

¹Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М.Сеченова, НИИ фармациологии, лаборатория биологически активных соединений (зав. лабораторией — доц. Л.А.Павлова);

²Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, НИИ фундаментальных и прикладных биомедицинских исследований, отдел медицинской биофизики, Москва (зав. отделом — проф. А.Н.Осипов);

³Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, кафедра организации фармацевтической деятельности фармацевтического факультета, Москва (зав. кафедрой — доц. Н.В.Иващенко)

Изучена способность дигидрокверцетина ингибировать развитие свободнорадикальных реакций в процессе хранения нового органолекарства «Спленактив» (СА), который представляет собой лиофильно высушенное водное извлечение из селезенки крупного рогатого скота. Органолекарство готовили без (СА-1) и с добавлением дигидрокверцетина в качестве антиоксиданта (СА-2). Антиоксидантную активность органолекарств, а также содержание в них продукта перекисного окисления липидов – малонового диальдегида – определяли до и после хранения в течение 2 лет. Обнаружено, что по истечении выбранного срока хранения антиоксидантная активность органолекарства СА-1 уменьшилась в 10 раз, а содержание в нем малонового диальдегида увеличилось в 2 раза по отношению к исходному уровню ($p < 0,01$), тогда как в случае органолекарства СА-2 соответствующие показатели практически не изменились. Таким образом, применение дигидрокверцетина в качестве антиоксиданта в составе органолекарства СА ингибирует развитие окислительных процессов и способствует увеличению его срока хранения.

Ключевые слова: органолекарство, перекисное окисление липидов, антиоксиданты, дигидрокверцетин, антиоксидантная активность, малоновый диальдегид

The Antioxidant Activity of Dihydroquercetin in the New Spleen Medication

M.V.Zaiko¹, Yu.O.Teselkin², L.A.Pavlova^{1,3}, S.V.Kosin¹

¹I.M.Sechenov First Moscow State Medical University, Institute of Pharmacy, Laboratory of Bioactive Compounds

(Head of the Laboratory — Assoc. Prof. L.A.Pavlova);

²Pirogov Russian National Research Medical University, Institute for Fundamental and Applied Biomedical Research, Department of Medical Biophysics, Moscow (Head of the Department — Prof. A.N.Osipov);

³Pirogov Russian National Research Medical University, Department of Organization of Pharmaceutical Activity of Pharmaceutical Faculty, Moscow (Head of the Department — Assoc. Prof. N.V.Ivashchenko)

In the study the ability of dihydroquercetin to inhibit the development of free radical reactions in the process of storing a new animal extracted product «Splenaktiv» (SA), which is a freeze-dried aqueous extract of the cattle spleen, was investigated. SA was prepared without (SA-1) and with dihydroquercetin supplement as an antioxidant (SA-2). The antioxidant activity of SA-1 and SA-2 and the content of lipid peroxidation product – malondialdehyde – were determined before and after storage for 2 years. It was found that after the period of storage of the selected antioxidant activity of the animal extracted product SA-1 decreased by 10 times, and the content of malondialdehyde increased by 2 times as compared to baseline ($p < 0.01$), whereas in the case of SA-2 the appropriate parameters practically did not change. Thus, the use of dihydroquercetin as an antioxidant in the composition of SA inhibits the development of oxidation processes and increases its shelf-life.

Key words: animal extracted product, lipid peroxidation, antioxidants, dihydroquercetin, antioxidant activity, malondialdehyde

Среди лекарственных препаратов органолекарства занимают особое место. Они обладают высокой биологической активностью, избирательностью действия и при этом сравнительно малотоксичны [1, 2]. Для пригото-

вления органолекарств (фетальных органолекарств-ревитализаторов), как правило, используются экстракты стволовых или зрелых клеток плодных органов и тканей здоровых животных [1, 2].

Особого внимания заслуживают препараты, созданные на основе ткани селезенки животных. Благодаря высокому содержанию различных биологически активных веществ, они успешно применяются в комплексном лечении иммунодефицитных состояний, а также шизофрении, диабета, туберкулеза, токсикозов на ранних сроках беременности, различных форм гепатита и некоторых видов опухолей [3].

Одним из таких препаратов является обладающий иммуномодулирующими свойствами «Спленопид», разработанный А.Б.Цыпиным [3–5]. Нами была усовершенствована технология приготовления этого препарата, что привело к созданию нового препарата, имеющего рабочее название «Спленактив» (СА). Указанный препарат представляет собой комплекс биологически активных веществ, выделенных из селезенки крупного рогатого скота. Предварительное фармакологическое изучение СА показало его иммуностимулирующую активность [6]. Так, например, *in vitro* СА в значительной степени повышал синтез цитокинов лейкоцитами донорской крови, а также бактерицидную активность и поглотительную функцию нейтрофилов. При изучении состава СА методами высокоэффективной жидкостной хроматографии, электрофореза и иммуноферментного анализа были обнаружены три белковые фракции с молекулярными массами более 13 кДа, а также идентифицированы основные типы цитокинов: провоспалительные, противовоспалительные и регуляторные [7].

Вопрос о защите органопрепаратов от автоокисления является весьма актуальным, поскольку развитие окислительных процессов может привести не только к уменьшению срока хранения органопрепарата, но и к потере его биологической активности. В качестве наиболее перспективных антиоксидантов следует рассматривать вещества природного, например, растительного происхождения, поскольку они, как правило, менее токсичны для организма человека, чем синтетические антиоксиданты.

К числу таких антиоксидантов относится дигидрохверцетин (ДГК), богатым сырьем для промышленного получения которого служит древесина лиственницы [8]. В настоящее время ДГК входит в состав многих лекарственных препаратов и биологически активных добавок к пище. Он применяется в комплексном лечении авитаминоза, атеросклероза, сахарного диабета, бронхолегочных, сердечно-сосудистых и глазных заболеваний [8, 9]. Показано, что ДГК оказывает положительное влияние на функциональное состояние печени, способствует восстановлению дренажной функции бронхов и биомеханики дыхания, улучшает работу сердца, обладает капилляропротекторной и противоотечной активностью, активирует процессы регенерации слизистой желудка, оказывает гепатопротекторное и радиопротекторное действие, проявляет гиполипидемические и

диуретические свойства [8–10]. Установлено, что ДГК обладает антиоксидантными свойствами [8, 11, 12], которые, по-видимому, лежат в основе многих наблюдаемых *in vivo* биологических эффектов этого флавоноидного соединения. В связи с этим для защиты от процесса автоокисления разрабатываемого нами нового иммуномодулирующего органопрепарата СА был выбран ДГК.

Цель работы — исследовать способность ДГК ингибировать развитие свободнорадикальных реакций в органопрепарате СА в процессе его хранения.

Материалы и методы

В работе использовали две партии органопрепарата СА (по 10 образцов в каждой), приготовленного путем лиофильного высушивания водного извлечения из селезенки крупного рогатого скота. Первая партия органопрепарата была приготовлена без антиоксиданта (СА-1), вторую партию готовили с ДГК (СА-2). Для этого 4 мл раствора ДГК в этаноле (250 мг/мл) добавляли к 1 л водного экстракта селезенки при постоянном перемешивании с последующей лиофилизацией. В органопрепарат СА-1 в качестве контроля добавляли только этанол. Содержание ДГК в органопрепарате СА-2 составляло 28 мг на 1 г сухого вещества. Органопрепараты хранили в течение 2 лет при температуре +4 °С в сухом, защищенном от света месте. Антиоксидантную активность (АОА) органопрепаратов и содержание в них малонового диальдегида (МДА) — водорастворимого продукта пероксидного окисления липидов (ПОЛ) — определяли непосредственно после их приготовления (5 образцов) и по окончании периода хранения (5 образцов), предварительно растворяя их в изотоническом растворе хлорида натрия до концентрации 34,4 мг/мл.

Для измерения АОА органопрепаратов использовали модельную систему, в которой окисление люминола индуцировали водорастворимыми пероксильными радикалами, образующимися при термическом разложении 2,2'-азобис(2-амидинопропан) дигидрохлорида (АБАП) [13]. За процессом окисления люминола наблюдали с помощью регистрации его хемилюминесценции (ХЛ). Реакционная среда имела следующий состав: 50 мкМ люминола, 1 мМ АБАП в 0,1 М Трис-НСl буфере, содержащем 0,1 М КCl и 1 мМ ЭДТА, pH 8,0. Исследуемые образцы органопрепаратов, а также тролокс, который использовали в качестве антиоксиданта сравнения, добавляли в реакционную среду после достижения стационарного уровня кинетики ХЛ — примерно через 15 мин после инициирования окисления люминола с помощью АБАП. АОА органопрепаратов рассчитывали исходя из продолжительности наблюдаемого латентного периода свечения и выражали в микромолях тролокса на 1 г сухого вещества («тролоксовый эквивалент» АОА) [13]. Измерение ХЛ люминола проводили на хемилюминометре ХЛМ-3 (ООО «Бикап», Москва) при постоянном перемешивании и температуре +37 °С.

Об интенсивности реакций ПОЛ в органопрепаратах судили по содержанию в них МДА, которое определяли спектрофотометрически по реакции с тиобарбитуровой кислотой [14] и выражали в наномолях МДА на 1 г сухого вещества.

Для корреспонденции:

Заико Марина Валерьевна, аспирант лаборатории биологически активных соединений НИИ фармации Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М.Сеченова

Адрес: 119991, Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2

Телефон: (495) 708-3971

E-mail: marina.zaiko@rambler.ru

Статья поступила: 27.01.2014, принята к печати 20.02.2014

Результаты исследования были обработаны стандартными методами вариационной статистики и представлены как средняя величина \pm стандартная ошибка средней ($M \pm m$).

Результаты исследования и их обсуждение

На рисунке показано влияние изучаемых органолекарств, а также тролокса на латентный период ХЛ люминола, индуцированной добавлением АБАП. Видно (рисунок, а), что с увеличением содержания органолекарства СА-1 в модельной системе латентный период увеличи-

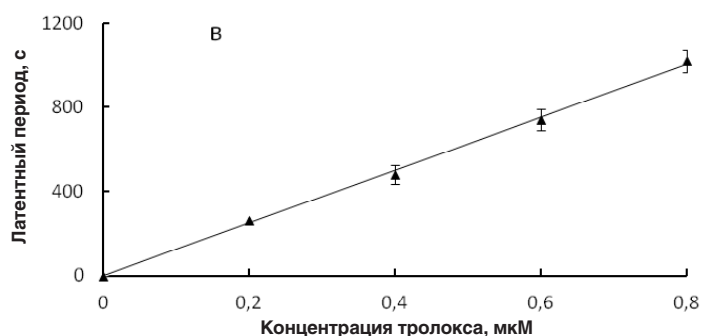
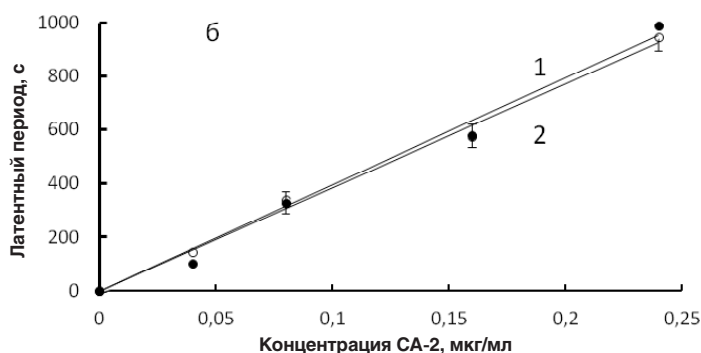
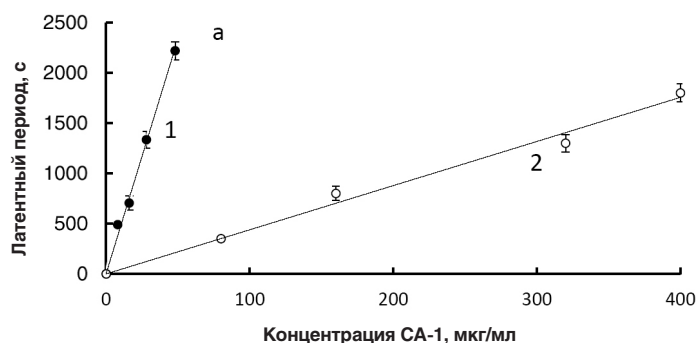


Рисунок. Изменение латентного периода ХЛ люминола, индуцированной с помощью АБАП, в присутствии органолекарств СА-1 (а), СА-2 (б) и тролокса (в). 1 – до хранения органолекарств; 2 – после хранения органолекарств в течение 2 лет.

вался прямо пропорционально. Это можно объяснить ингибирующим влиянием на окисление люминола антиоксидантов, присутствующих в составе органолекарства и перехватывающих пероксильные радикалы. Известно, что именно по такому механизму действует тролокс [16], использованный в настоящем исследовании в качестве антиоксиданта сравнения (рисунок, в). В то же время следует отметить, что тангенс угла наклона прямой, соответствующей органолекарству СА-1 до хранения, был значительно больше тангенса угла наклона прямой, которая соответствует органолекарству СА-1 после его хранения в течение 2 лет. Это свидетельствует о том, что радикалперехватывающая способность исходного органолекарства СА-1 была выше таковой по истечении срока хранения.

При добавлении в модельную систему органолекарства СА-2 (рисунок, б) наблюдаемые зависимости изменения латентного периода от концентрации органолекарства также носили линейный характер. Однако в отличие от СА-1 влияние СА-2 на латентный период окисления люминола оставалось прежним и после хранения этого органолекарства в течение 2 лет.

На основании результатов, представленных на рисунке, были рассчитаны значения АОА изучаемых органолекарств (таблица). Из таблицы видно, что исходное значение АОА органолекарства СА-2 было в 87 раз больше, чем таковое органолекарства СА-1 ($p < 0,01$). После хранения АОА органолекарства СА-2 практически не изменилась, тогда как АОА органолекарства СА-1 уменьшилась в 10 раз по отношению к исходному уровню ($p < 0,01$). Полученный результат, по-видимому, связан с тем, что в процессе хранения органолекарства СА-1 происходит активация свободнорадикальных реакций. Это приводит к окислению содержащихся в нем различных биологических субстратов, в том числе антиоксидантов, и, соответственно, к уменьшению латентного периода ХЛ люминола, индуцированной АБАП. В то же время ДГК, присутствующий в органолекарстве СА-2, защищает входящие в его состав биологически активные вещества от свободнорадикального окисления, поэтому существенного изменения антиоксидантных свойств этого органолекарства за исследованный интервал времени хранения не наблюдается.

Одним из индикаторов интенсивности свободнорадикальных реакций в изучаемых органолекарствах может служить уровень процесса ПОЛ, экстракция которых происходит одновременно с экстракцией различных белок-липидных комплексов клеток селезенки. Об уровне процесса ПОЛ в органолекарствах судили по содержанию в них МДА (см. таблицу). Исходно содержание МДА в обоих органолекарствах не различалось. После хранения в те-

Таблица. АОА изучаемых органолекарств и содержание в них МДА ($M \pm m$)

Органолекарство	АОА, мкмоль/г		МДА, нмоль/г	
	исходно	после 2 лет хранения	исходно	после 2 лет хранения
СА-1	36,0 \pm 1,7	3,5 \pm 0,2**	2,24 \pm 0,01	4,47 \pm 0,01**
СА-2	3158,7 \pm 157,9	3078,2 \pm 153,9	2,23 \pm 0,01	2,46 \pm 0,01*

* — $p < 0,05$, ** — $p < 0,01$ по отношению к исходному значению соответствующего показателя

ние 2 лет содержание МДА в органопрепарате СА-1 увеличилось в 2,0 раза, а в органопрепарате СА-2 только в 1,1 раза по отношению к исходному уровню ($p < 0,01$ и $p < 0,05$ соответственно). Таким образом, ДГК практически полностью ингибирует развитие реакций ПОЛ в процессе хранения органопрепарата СА-2.

Механизм ингибирования свободнорадикальных реакций, в том числе реакций ПОЛ, в присутствии ДГК может быть различным. Известно, что ДГК обладает способностью взаимодействовать с липидными радикалами [11, 16] и активными формами кислорода, например гидроксильными и супероксидными радикалами [12], а также хелатировать ионы металлов переходной валентности [11, 17]. Результаты, полученные в нашем исследовании, показывают, что ДГК эффективно защищает органопрепарат СА, приготовленный из селезенки крупного рогатого скота, от процесса липидной перекисидации. Все это, с учетом низкой токсичности ДГК, а также доступности сырьевой базы, создает хорошие перспективы для его использования в качестве антиоксиданта при создании новых органопрепаратов.

Выводы

1. АОА нового органопрепарата из селезенки крупного рогатого скота «Спленактив» с добавкой ДГК не изменяется при хранении в течение 2 лет, тогда как АОА органопрепарата без ДГК уменьшается в 10 раз по отношению к исходному уровню ($p < 0,01$).

2. Содержание МДА в органопрепарате «Спленактив» с добавкой ДГК после 2 лет хранения увеличивается в 1,1 раза ($p < 0,05$), в то время как в препарате без ДГК возрастает в 2 раза по сравнению с исходным содержанием ($p < 0,01$).

Литература

1. Ролик И.С. Фетальные органопрепараты. Клиническое применение. М.: РегБиоМед, 2003. 736 с.
2. Сиденко Л.Н., Андриюкова Л.Н. Органопрепараты в офтальмологии и ринологии: состояние и перспективы // ФАРМАКОМ. 2004. №2. С.1–7.
3. Цыпин А.Б. Препарат Спленопид – новый перспективный иммуномодулятор // Медицинская картотека. 2004. №11. С.22–23.
4. Цыпин А.Б., Онищенко Н.А., Мануйлов Б.А. и др. Разработка, получение и некоторые свойства нового иммуномодулятора пептидной природы // Иммунология. 1995. №1. С.33–36.
5. Патент 2245174, Российская Федерация, А 61 К 35/28, А 61 К 38/02, А 61 К 47/42, А 61 Р 31/00, А 61 Р 37/02. Способ получения лекарственного препарата иммуномодулятора для лечения тяжелых форм гнойно-септических и аутоиммунных заболеваний / Патентообладатель Цыпин А.Б.; Онищенко Н.А.; Иванов И.М. № 2012118016/15; заявл. 03.05.12; опубл. 10.09.13, Бюл. №25. 10 с.
6. Заико М.В., Козин С.В., Павлова Л.Н. и др. Новый иммуностимулирующий лекарственный препарат из селезенки свиньи // Сеченовский вестник. 2013. Т.11. №1. С.74.
7. Заико М.В., Павлова Л.А., Козин С.В. и др. Изучение состава нового органопрепарата из селезенки свиней методом высокоэффективной хроматографии и электрофоретического анализа // Бутлеровские сообщения. 2012. Т.32. №11. С.61–63.
8. Плотников М.Б., Тюкавкина Н.А., Плотникова Т.М. Лекарственные препараты на основе диквертина. Томск: Изд-во Том. ун-та, 2005. 228 с.
9. Каражаева М.И., Саксонова Е.О., Клебанов Г.И. и др. Применение флавоноидных антиоксидантов в комплексном лечении больных с периферическими витреохориоидальными дистрофиями и дистрофической отслойкой сетчатки // Вестн. офтальмол. 2004. №4. С.14–18.
10. Уминский А.А., Хавстеин Б.Х., Баканева В.Ф. Биохимия флавоноидов и их значение. Пушино: ООО «Фотон-век», 2007. 264 с.
11. Бабенкова И.В., Теселкин Ю.О., Ребров Л.Б. и др. Механизм ингибирующего действия дигидрохверцетина на процесс перекисидного окисления фосфолипидов мембран // Биомед. технол. и радиоэлектрон. 2003. №6. С.37–43.
12. Костюк В.А., Потапович А.И. Биорадикалы и антиоксиданты. Минск: БГУ, 2004. 174 с.
13. Чехани Н.Р., Теселкин Ю.О., Павлова Л.А. и др. Антиоксидантная активность растений, используемых в этномедицине Тувы // Вестн. РГМУ. 2012. №6. С.66–69.
14. Куликова А.И., Тугушева Ф.А., Зубина И.М., Шепилова И.Н. Методические аспекты оценки потенциальной способности липидов к перекисидлению по уровню ТБК-активных продуктов сыворотки крови при стимуляции ионами железа // Клин. лаб. диагност. 2008. №5. С. 8–10.
15. Drech M.T.K., Rossato S., Kappel V.D. et al. Optimization and validation of an alternative method to evaluate total reactive antioxidant potential // Anal Biochem. 2009. V.385 (1). P.107–114.
16. Владимиров Ю.А., Проскурнина Е.В., Демин Е.М. Дигидрохверцетин (таксифолин) и другие флавоноиды как ингибиторы образования свободных радикалов на ключевых стадиях апоптоза // Биохимия. 2009. Т.74. №3. С.372–379.
17. Шаталин Ю.В., Шмарев А.Н. Окисление лецитина в присутствии дигидрохверцетина и его комплекса с ионами двухвалентного железа // Биофизика. 2010. Т.55. №1. С.75–82.

Информация об авторах:

Теселкин Юрий Олегович, доктор биологических наук, главный научный сотрудник отдела медицинской биофизики НИИ фундаментальных и прикладных биомедицинских исследований Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (495) 434-8192
E-mail: teselkin-box@mail.ru

Павлова Людмила Анатольевна, кандидат фармацевтических наук, доцент, заведующая лабораторией биологически активных соединений НИИ фармациии Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М.Сеченова, доцент кафедры организации фармацевтической деятельности фармацевтического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 119991, Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2
Телефон: (495) 708-3971
E-mail: l-a-pavlova@yandex.ru

Козин Сергей Валерьевич, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биологически активных соединений НИИ фармациии Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М.Сеченова
Адрес: 119991, Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 2
Телефон: (495) 708-3971
E-mail: enfadado@yandex.ru

Влияние природных полифенольных соединений на физическую выносливость и процессы восстановления у мышей

Н.Р.Чехани¹, Л.А.Павлова¹, С.В.Козин¹, Ю.О.Теселкин²

¹Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М.Сеченова, НИИ фармациии, лаборатория биологически активных соединений (зав. лабораторией — доц. Л.А.Павлова);

²Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, НИИ фундаментальных и прикладных биомедицинских исследований, отдел медицинской биофизики, Москва (зав. отделом — проф. А.Н.Осипов)

Исследовано влияние природных полифенольных соединений, содержащихся в новом сборе из лекарственного растительного сырья, на физическую выносливость мышей в тесте повторного плавания. Обнаружено, что курсовое применение водного извлечения из сбора растительного сырья у мышей опытной группы не влияло на продолжительность первичного плавания, однако увеличивало в 1,7 раза продолжительность повторного плавания по отношению к аналогичному показателю у животных контрольной группы ($p < 0,001$). Полученный результат свидетельствует о положительном влиянии исследуемого сбора на процессы восстановления организма после физической нагрузки, т.е. о его актопротекторном действии. Предполагается, что актопротекторное действие растительного сбора обусловлено антиоксидантными свойствами входящих в его состав биологически активных веществ.

Ключевые слова: физическая нагрузка, лекарственный сбор, полифенольные соединения, актопротекторное действие

The Influence of Natural Polyphenolic Compounds on Physical Endurance and Recovery Processes in Mice

N.R.Chekhani¹, L.A.Pavlova¹, S.V.Kosin¹, Yu.O.Teselkin²

¹I.M.Sechenov First Moscow State Medical University, Institute of Pharmacy, Laboratory of Bioactive Compounds (Head of the Laboratory — Assoc. Prof. L.A.Pavlova);

²Pirogov Russian National Research Medical University, Institute for Fundamental and Applied Biomedical Research, Department of Medical Biophysics, Moscow (Head of the Department — Prof. A.N.Osipov)

The influence of natural polyphenolic compounds included in a new collection of medicinal plant products on the physical endurance of mice in the re-swim test was studied. It was found out that the course application of aqueous extract from the plant collection in the experimental group of mice did not effect the duration of the primary swim, but increased to 1,7 times the length of re-swimming against the same parameter in the control group ($p < 0.001$). This result demonstrates the positive effect of the proposed plant collection on the recover processes after physical activity, i.e. its actoprotective action. It is assumed that the actoprotective action of the medicinal plant collection is due to antioxidant properties of biologically active substances in its composition.

Key words: physical activity, medicinal plant collection, polyphenolic compounds, actoprotective action

Задача повышения физической работоспособности, выносливости, неспецифической сопротивляемости организма, его адаптации к неблагоприятным факторам внешней среды остается актуальной и в настоящее время. Для решения этой задачи используется множество ле-

карственных препаратов и биологически активных добавок к пище, обладающих актопротекторной активностью [1]. Под актопротекторным действием какого-либо вещества понимается его способность повышать физическую выносливость, увеличивать объем выполняемой работы, ускорять процессы восстановления после физической нагрузки, уменьшать тяжесть ее последствий и т.д. Особое место в этом отношении занимают лекарственные препараты и биологически активные добавки к пище, приготовленные на основе лекарственного растительного сырья, содержащего широкий спектр биологически активных веществ. Несомненными преимуществами указанных препаратов являются их высокая безопасность и низкая

Для корреспонденции:

Чехани Нино Рамазовна, аспирант лаборатории биологически активных соединений НИИ фармациии Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М.Сеченова

Адрес: 119991, Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 1

Телефон: (495) 609-1400

E-mail: chehaninino@mail.ru

Статья поступила 25.12.2013, принята к печати 20.02.2014

токсичность при минимальном наборе отрицательных побочных эффектов даже при длительном систематическом применении [2].

По мнению ряда авторов, положительное влияние на организм человека в условиях воздействия на него неблагоприятных факторов внешней среды и физических нагрузок могут оказывать вещества с антиоксидантным механизмом действия, такие как флавоноиды, витамины, минеральные вещества и др. [3]. Исходя из данного предположения, для создания нового средства с актопротекторной активностью нами было выбрано следующее лекарственное растительное сырье: листья смородины черной (*Ribes nigrum* L.), листья малины обыкновенной (*Rubus idaeus* L.), трава иван-чая, или кипрея узколистного (*Chamerion angustifolium* L.), трава лабазника вязолистного, или таволги вязолистной (*Filipendula ulmaria* L.). Известно, что эти растения содержат большое количество веществ полифенольной природы [4–7], обладающих антиоксидантными свойствами [8].

Цель исследования — экспериментальное изучение актопротекторного действия полифенольных соединений, содержащихся в сборе из указанного выше растительного сырья.

Материалы и методы

Исследование проведено на 48 белых беспородных мышах-самцах, показавших среднюю устойчивость к физической нагрузке по результатам предварительного плавания с грузом, масса которого была равна 7% от массы тела. В эксперимент включали животных, продолжительность плавания которых составляла 12–18 мин [2]. Мыши были случайным образом распределены по двум группам: первая (опытная) — 24 животных, получавших водное извлечение из сбора растительного сырья; вторая (контрольная) — 24 животных, получавших воду.

В период проведения эксперимента животных содержали в стандартных условиях вивария на обычном рационе кормления. Животные опытной группы в течение трех недель получали водное извлечение из сбора, представляющего собой смесь равных количеств (по массе) листьев смородины черной и малины обыкновенной, травы иван-чая и лабазника вязолистного, в условиях свободного запаривания (вместо воды). Животные контрольной группы получали эквивалентное количество воды.

Водное извлечение из исследуемого сбора готовили ежедневно. Для этого измельченное растительное сырье заливали дистиллированной водой комнатной температуры в соотношении 1:10 (10 г сбора на 100 мл дистиллированной воды). Полученную смесь инкубировали на кипящей водяной бане в течение 15 мин, периодически перемешивая. Далее смесь охлаждали до комнатной температуры. Водное извлечение отфильтровывали, сырье отжимали и с помощью дистиллированной воды доводили объем настоя до исходного.

На 21-й день эксперимента проводили изучение физической выносливости и процессов восстановления у мышей обеих групп с использованием теста повторного плавания. Для этого каждое животное с грузом, прикреп-

ленным к хвосту, помещали в сосуд с водой, размеры которого позволяли свободно плавать. Температуру воды поддерживали в пределах 28–29 °С. Фиксировали время первичного плавания — до полного утомления животного, о котором свидетельствовало его погружение на дно сосуда. Затем животное быстро извлекали из воды, обсушивали сухим полотенцем и помещали в обогреваемый кувез для восстановления. Через 1 ч процедуру плавания повторяли, фиксируя время повторного плавания [2]. Кроме перечисленных выше показателей, использовали также показатель восстановления работоспособности — продолжительность повторного плавания, выраженную в процентах от продолжительности первичного плавания.

Результаты исследования обработаны методами вариационной статистики с использованием *t*-критерия Стьюдента.

Результаты исследования и их обсуждение

В настоящее время для изучения актопротекторного действия препаратов используется ряд методик: плавание животных с грузом различной тяжести и без него; бег на тротуаре с различным углом наклона и скоростью «бегущей дорожки»; подъем по «бесконечному канату» и др. [1, 2]. Среди них особого внимания заслуживают методики повторного плавания лабораторных животных, позволяющие изучать влияние исследуемого препарата на выносливость организма, физическую работоспособность животных и процессы восстановления после предварительной физической нагрузки до полного утомления [2, 9–12].

Данная методика была использована и в настоящем исследовании. Обнаружено, что предварительное применение водного извлечения из исследуемого сбора не влияло на продолжительность первичного плавания у мышей опытной группы по сравнению с контрольной группой (таблица). В ходе дальнейшего проведения эксперимента установлено, что после восстановительного периода у животных контрольной группы не наблюдалось полного восстановления физической работоспособности: продолжительность их повторного плавания составляла 67,5% от продолжительности первичного плавания ($p < 0,05$). В то же время у животных, получавших водное извлечение из сбора, при повторном плавании был зарегистрирован практически тот же результат, что и при первичном плавании, или даже некоторая тенденция к его увеличению. При этом важно отметить, что длительность повторного плавания у мышей опытной группы была в 1,7 раза выше, чем у мышей контрольной группы ($p < 0,001$).

Таким образом, курсовое применение водного извлечения из предлагаемого сбора растительного сырья не влияло на физическую работоспособность при первичном плавании, но значительно повышало ее при повторном плавании. Полученные данные свидетельствуют о том, что исследуемый сбор ускоряет процессы восстановления организма после чрезмерной динамической физической нагрузки, т.е. проявляет актопротекторное действие на фоне утомления. Это позволяет предположить наличие у растительного сбора адаптогенных свойств,

Таблица. Влияние курсового применения нового сбора из растительного сырья на показатели физической работоспособности в тесте повторного плавания у мышей ($M \pm m$)

Группа животных	Продолжительность первичного плавания	Продолжительность повторного плавания	
	в минутах	в минутах	в процентах от времени первичного плавания
Контрольная ($n = 24$)	$15,4 \pm 0,4$	$10,4 \pm 0,7^*$	$67,5 \pm 4,6$
Опытная ($n = 24$)	$16,0 \pm 0,4$	$17,2 \pm 1,1^{**}$	$109,6 \pm 7,9^{**}$

* — достоверное различие с показателем первичного плавания животных той же группы ($p < 0,05$);
** — достоверное различие с соответствующим показателем контрольной группы ($p < 0,001$)

поскольку именно для фитоадаптогенов характерно проявление фармакологической активности на измененном функциональном фоне [2].

Рассматривая возможные механизмы обнаруженного актопротекторного действия исследуемого сбора, прежде всего следует учесть наличие в нем биологически активных веществ фенольной и полифенольной природы — флавоноидов, оксикоричных и фенолкарбоновых кислот, кумаринов и др. [4–7, 12]. В работах некоторых авторов указывается на существование сильной взаимосвязи между содержанием в экстрактах растений фенольных соединений и их антиоксидантной активностью [13, 14]. В наших исследованиях было показано, что водные извлечения из растительного сырья, входящего в состав предлагаемого сбора, также обладают антиоксидантными свойствами [8]. Известно, что тяжелые физические нагрузки приводят к развитию оксидативного стресса [1, 12, 15]. Нельзя исключить, что, перехватывая свободные радикалы и активные формы кислорода, растительные фенолы могут регулировать интенсивность свободнорадикальных реакций, ускоряя процессы восстановления после физического напряжения.

Важно отметить, что в состав предлагаемого сбора входит растительное сырье, которое применяется не только в народной медицине, но и в фитотерапии. Это позволяет говорить о его относительной безопасности и низкой токсичности. Кроме того, растения, входящие в состав сбора, широко распространены на территории Российской Федерации, что делает его использование доступным и экономически выгодным.

Результаты проведенного исследования свидетельствуют об эффективности нового растительного сбора как актопротекторного средства, оптимизирующего процессы восстановления организма после физических нагрузок. Однако детальные механизмы фармакологического действия сбора требуют, несомненно, всестороннего экспериментального изучения. В дальнейшем это позволит рекомендовать исследуемый растительный сбор для коррекции функционального состояния у лиц, занимающихся спортом и ведущих активный образ жизни.

Выводы

1. Курсовое применение водного извлечения из нового сбора растительного сырья у мышей опытной группы не влияет на продолжительность первичного плавания, но увеличивает в 1,7 раза продолжительность повторного

плавания по отношению к аналогичному показателю у животных контрольной группы ($p < 0,001$).

2. Актопротекторное действие сбора проявляется на измененном функциональном фоне — при утомлении. Это свидетельствует о том, что данный препарат обладает адаптогенноподобными свойствами.

Литература

1. Горчакова Н.А., Гудивок Я.С., Гунина Л.М. и др. Фармакология спорта. Киев: Олимпийская литература, 2010. 640 с.
2. Крендаль Ф.П., Козин С.В., Левина Л.В. Сравнительная характеристика препаратов из группы фитоадаптогенов — женьшеня, элеутерококка и родиолы розовой. М.: Профиль, 2007. 392 с.
3. Емельянова Т.П. Витамины и минеральные вещества: Полная энциклопедия. СПб.: ЗАО «Весь», 2000. 368 с.
4. Запроматов М.Н. Фенольные соединения: распространение, метаболизм и функции в растениях. М.: Наука, 1993. 272 с.
5. Лобанова А.А., Будаева В.В., Сакович Г.В. Исследование биологически активных флавоноидов в экстрактах из растительного сырья // Хим. раст. сырья. 2004. №1. С.47–52.
6. Казначеева Е.В., Савина А.А., Шемерянкина Т.Б. и др. Изучение состава фенольных соединений в сухом экстракте листа малины // Вопр. биол. мед. и фарм. хим. 2011. №3. С.3–5.
7. Чехани Н.Р., Павлова Л.А., Козин С.В. Изучение гипополипидемических свойств экстрактов малины обыкновенной и смородины черной // Традиц. мед. 2012. №5. С.318–321.
8. Чехани Н.Р., Теселкин Ю.О., Павлова Л.А. и др. Антиоксидантная активность растений, используемых в этномедицине Тувы // Вестн. РГМУ. 2012. №6. С.6–69.
9. Бобков Ю.Г., Виноградов В.М., Катков В.Ф. Фармакологическая коррекция утомления. М.: Медицина, 1984. 208 с.
10. Рябков А.Н. Сравнительная экспериментальная оценка актопротекторного эффекта препаратов из биомасс клеточных культур полисиаса папоротниколистного и женьшеня в условиях плавательного теста // Рос. мед.-биол. вестн. им. акад. И.П.Павлова. 2008. №2. С.108–114.
11. Каплан Е.Я., Цыренжапова О.Д., Шантанова Л.Н. Оптимизация адаптивных процессов организма. М.: Наука, 1990. 94 с.
12. Huang S.C., Lee F.T., Kuo T.Y. et al. Attenuation of long-term *Rhodiola rosea* supplementation on exhaustive swimming-evoked oxidative stress in the rat // Chin J Physiol. 2009. V.52 (5). P.316–324.
13. Song F.L., Gan R.Y., Zhang Y. et al. Total phenolic contents and antioxidant capacities of selected Chinese medicinal plants // Int J Mol Sci. 2010. V.11 (6). P.2362–2372.
14. Федосеева А.А., Лебедева О.С., Каниболоцкая Л.В., Шендрик А.Н. Антиоксидантная активность настоев чая // Хим. раст. сырья. 2008. №3. С.123–127.

15. Powers S.K., Nelson W.B., Hudson M.B. Exercise-induced stress in humans: cause and consequences // *Free Radic Biol Med*. 2011. V.51 (5). P.942–950.

Информация об авторах:

Павлова Людмила Анатольевна, кандидат фармацевтических наук, доцент, заведующая лабораторией биологически активных соединений НИИ фармации Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М.Сеченова
Адрес: 119991, Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 1
Телефон: (495) 609-1400
E-mail: l-a-pavlova@yandex.ru

Козин Сергей Валерьевич, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биологически активных соединений НИИ фармации Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М.Сеченова
Адрес: 119991, Москва, ул. Трубецкая, 8, стр. 1
Телефон: (495) 609-1400
E-mail: enfadado@yandex.ru

Теселкин Юрий Олегович, доктор биологических наук, главный научный сотрудник отдела медицинской биофизики НИИ фундаментальных и прикладных биомедицинских исследований Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1
Телефон: (495) 434-8192
E-mail: teselkin-box@mail.ru

ИЗ ЖИЗНИ УНИВЕРСИТЕТА

Учебники и монографии

Оториноларингология. Клинические рекомендации / Под ред. В.Т.Пальчуна, А.И.Крюкова. М., ГЭОТАР-Медиа, 2013. 368 с.

Клинические рекомендации по оториноларингологии являются инструментом, призванным помочь врачу выбрать оптимальную диагностическую и лечебную тактику по отношению к пациентам с наиболее распространенными заболеваниями верхних дыхательных путей и уха. Рекомендации подготовлены ведущими специалистами-оториноларингологами России и отражают передовой мировой опыт. В книге представлена наиболее полная, объективная и хорошо сбалансированная информация о преимуществах, а также об ограничениях разных методов и медицинских вмешательств в соответствии с последними научными достижениями. Клинические рекомендации являются основой для разработки протоколов ведения больных с различными заболеваниями ЛОР-органов. Они имеют преимущества перед традиционными источниками информации (руководства, монографии, учебники) и позволяют врачу принимать обоснованное клиническое решение. Внимание врача обращается на практическое использование результатов исследований, а не на их трактовку. Клинические рекомендации по оториноларингологии предназначены практикующим врачам-оториноларингологам, врачам общего профиля, а также врачам всех специальностей, студентам старших курсов медицинских вузов.

Руководство по неотложной помощи при заболеваниях уха и верхних дыхательных путей / Под ред. А.И.Крюкова. М., «ГЭОТАР-Медиа», 2013. 386 с.

Издание состоит из двух разделов. В первом разделе рассмотрены организация скорой и неотложной помощи и эпидемиология ургентной ЛОР-патологии, изложены вопросы неотложной помощи в условиях поликлиники и приемного отделения больницы. Во втором разделе, посвященном частным вопросам оказания неотложной оториноларингологической помощи, материал представлен по симптомам и синдромам, что облегчает поиск необходимой информации. Рекомендуемые авторами диагностические и лечебные мероприятия при различных заболеваниях ЛОР-органов соответствуют последним достижениям науки и практики. Руководство предназначено для практикующих врачей, студентов медицинских вузов и интернов.

Оториноларингология. Национальное руководство. Краткое издание / Под ред. В.Т. Пальчуна. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2012. 656 с.

Издание представляет собой современный медицинский справочник, составленный на основе национального руководства, обновленный и дополненный авторским коллективом. В каждом из разделов краткой версии национального руководства представлена наиболее полная информация, касающаяся не только вопросов клинической картины заболевания и диагностики, но и методов лечения и профилактики, необходимых в повседневной работе практикующего врача. В книге объединен опыт ведущих научных школ России. К работе над изданием были привлечены специалисты таких учреждений, как РНИМУ им. Н.И.Пирогова, Санкт-Петербургский НИИ уха, горла, носа и речи, Первый МГМУ им. И.М.Сеченова, Московский научно-практический центр оториноларингологии, Российский научно-практический центр аудиологии и слухопротезирования, РМАПО и др. Активное участие в создании книги приняли также сотрудники образовательных и исследовательских учреждений регионов России. Работа над руководством проводилась под эгидой Российского общества оториноларингологов, Московского общества оториноларингологов и Ассоциации медицинских обществ по качеству.

Применение жидкостной хроматомасс-спектрометрии в доклинических исследованиях лекарственных веществ

Е.Б.Гугля

Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, НИИ фундаментальных и прикладных биомедицинских исследований, Москва (директор — проф. А.П.Эттингер)

В обзоре представлен гибридный метод жидкостной хроматографии — тандемной масс-спектрометрии (ЖХ-МС/МС), его основные принципы и роль в доклинических исследованиях новых лекарственных веществ. Рассмотрены три составляющие метода — подготовка проб, жидкостная хроматография и масс-спектрометрическое детектирование — при их использовании в современном биоанализе. Обсуждаются тенденции развития и особенности применения метода при начальном скрининге и последующем доклиническом изучении фармакокинетики лекарственных веществ.

Ключевые слова: ЖХ-МС/МС, биоанализ, доклинические исследования

Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry Application in Drug Discovery and Preclinical Study

E.B.Guglya

Pirogov Russian National Research Medical University, Institute for Fundamental and Applied Biomedical Research, Moscow (Director — Prof. A.P.Oettinger)

Basic principles of liquid chromatography-tandem mass spectrometry method (LC-MS/MS) and its role in drug discovery and preclinical studies are reviewed. Three stages and components of the method in modern bioanalysis application are considered — sample preparation, liquid chromatography and mass spectrometry. The method trends and features for early drug screening and subsequent preclinical study of pharmacokinetics of drugs are discussed.

Key words: LC-MS/MS, bioanalysis, preclinical study

Создание, исследование и внедрение нового лекарственного вещества (ЛВ), которое начинается синтезом химических соединений и заканчивается выводом ЛВ на рынок, — длительный (около 10–15 лет) и дорогостоящий (до нескольких миллиардов долларов) процесс; только одно из десятков тысяч вновь синтезируемых веществ становится готовым лекарственным средством. Метод жидкостной хроматографии — тандемной масс-спектрометрии (ЖХ-МС/МС), безоговорочный лидер среди инструментальных аналитических методов в медико-биологических областях исследований, используется на всех этапах разработки ЛВ [1]. Цель данного обзора — дать общее представление о современном состоянии и

применении метода ЖХ-МС/МС в биоанализе при доклинических исследованиях новых ЛВ.

Роль биоанализа в доклинических исследованиях лекарственных веществ

Методы ЖХ-МС/МС используются в настоящее время на самых ранних этапах разработки ЛВ, начиная с идентификации белков-мишеней и массового скрининга для определения физико-химических свойств, таких как липофильность, растворимость, ионизируемость, химическая стабильность [2]. После исследований *in vitro* биологической активности, селективности и токсичности нового вещества проводят изучение фармакокинетики *in vitro* (ADME — absorption, distribution, metabolism, excretion — поглощения, распределения, метаболизма, выведения) и ускоренные, так называемые кассетные, фармакокинетические исследования *in vivo*, когда несколько тестируемых веществ вводят в организм животного одновременно. На следующем этапе проводят более подробные исследования токсикологии и фармакокинетики оптимизированной формы ЛВ на разных видах животных (доклинические исследования).

Для корреспонденции:

Гугля Елена Борисовна, кандидат химических наук, старший научный сотрудник отдела токсикологии НИИ фундаментальных и прикладных биомедицинских исследований Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова

Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1

Телефон: (495) 434-0232

E-mail: eguglya@gmail.com

Статья поступила 22.01.2014, принята к печати 20.02.2014

Исходными данными для расчета фармакокинетических параметров служат концентрации вещества и/или его метаболита в определенные моменты времени в той или иной биологической среде. При исследованиях *in vitro* проводят анализ культуральной среды, содержащей гепатоциты, микросомы, клетки кишечного эпителия, при исследованиях *in vivo* — анализ биологических жидкостей и тканей организма, прежде всего плазмы крови.

Для обозначения методов определения ЛВ в биопробах в последние годы используют термин «биоанализ». Качественный скачок в биоанализе произошел в 90-х гг. после появления коммерчески доступных жидкостных тандемных хроматомасс-спектрометров, благодаря чему упростилось решение многих задач, связанных с анализом биоматериала [3]. Использование биоанализа во многом определяет теперь общую методологию процесса разработки ЛВ [4]. Рекордные достижения метода — определение и идентификация многих соединений в одном анализе, чувствительность определения до 0,01 нг/мл, продолжительность около 1 мин [5] (при скрининговом анализе одного компонента — около 10 с [6]).

Основные принципы жидкостной хроматомасс-спектрометрии

Появление гибридного метода, сочетающего жидкостную хроматографию и масс-спектрометрию (разделение ионизированных частиц по величине отношения массы к заряду, m/z), стало возможным после открытия метода ионизации молекул при атмосферном давлении [1]. На основе этого открытия были разработаны устройства-интерфейсы, в которых молекулы вещества-аналита, выходящие из хроматографической колонки, ионизируются в источнике ионов и направляются в анализатор масс, работающий при высоком вакууме (рисунок). Самый распространенный источник ионов — электрораспыление, он представляет собой тонкий капилляр, к которому приложено электростатическое напряжение в несколько киловольт. На выходе капилляра происходит ионизация молекул с образованием положительно и отрицательно заряженных молекулярных ионов, например $[M+H]^+$, $[M-H]^-$, $[M+Na]^+$, $[M+NH_4]^+$ и других, в том числе многозарядных.

В масс-анализаторе происходит разделение ионов по шкале m/z . В существующих типах анализаторов, среди

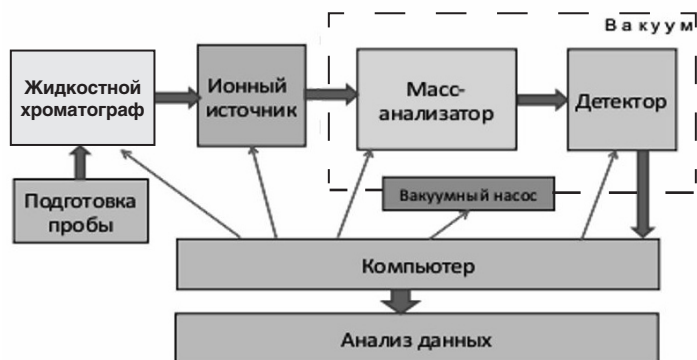


Рисунок. Схема хроматомасс-спектрометрического анализа.

которых наиболее важны для биоанализа квадрупольный (Q), времяпролетный (TOF) и ионная ловушка (IT), разделение ионов происходит в результате различных физических процессов [1, 3]. Детектор преобразует поступающий с масс-анализатора ионный ток в сигнал, пропорциональный количеству ионов с той или иной величиной m/z , и передает его на устройство сбора и обработки информации. Анализатор может работать в режиме регистрации всех поступающих ионов (сканирование) или только одиночных ионов с заранее заданной величиной m/z (регистрация выбранных ионов — SIM, selective ion monitoring), при котором выбранные ионы детектируются с большей чувствительностью, чем при сканировании.

Тандемный масс-спектрометр (МС/МС) отличается тем, что содержит не один, а два последовательно соединенных масс-анализатора, между которыми расположена камера для фрагментации ионизированных молекул. Разделение ионов происходит в обоих анализаторах, т.е. дважды, что позволяет применять специальные режимы регистрации, расширяющие возможности всей системы анализа: 1) сканирование продуктов фрагментации («дочерних» ионов) — ключевой прием для идентификации неизвестных ионов по образовавшимся фрагментам; 2) сканирование ионов-прекурсоров (т.е. ионов, образовавших данный фрагмент) — позволяет по характерному фрагменту выявлять исходные структурно близкие соединения-«родители», например метаболиты; 3) регистрация постоянных нейтральных потерь — используют, когда характеристические фрагменты молекулы нейтральны; 4) мониторинг множественных реакций (MRM, multiple reaction monitoring), выбор оптимизированных пар прекурсор-фрагмент — применяют для количественных определений.

Для биоанализа преимущественно используют тройной квадруполь (два квадруполя и камера соударений, QqQ), квадруполь с ионной ловушкой (Qq-IT), квадруполь и времяпролетный анализатор (Qq-TOF). На протяжении полутора десятка лет золотым стандартом количественного биоанализа считали тандемный хроматомасс-спектрометр типа тройного квадруполя с электрораспылением (HPLC-ESI-QqQ) [7], работающий в режиме MRM. Для идентификации метаболитов использовали режимы сканирования прекурсора или нейтральных потерь.

В последние годы в практику входят приборы нового поколения, соединяющие сверхвысокоэффективные жидкостные хроматографы (СЭЖХ) и тандемные масс-спектрометры высокого разрешения (МСВР) [8]. Высоким считается разрешение, когда отношение массы иона к ширине его спектральной линии на полувысоте больше 10 000. В МСВР можно не только разделить ионы с близкой массой, но и саму массу измерить с точностью до четвертого-пятого знака после запятой, что позволяет определить элементный состав иона.

СЭЖХ обеспечивает ускорение анализа, улучшение его селективности и чувствительности, а МСВР — получение максимума информации в одном анализе, в том числе и без какой-либо предварительной оптимизации режимов работы для целевого вещества, что выгодно отличается от принципов работы тройного квадруполя, где рабочие

параметры необходимо настраивать для каждого анализа. Полная информация обо всех зарегистрированных ионах сохраняется в памяти управляющего компьютера и по окончании анализа может быть востребована и обработана с использованием специальных программ. К настоящему времени в рамках доклинических исследований выполнены уже десятки работ, демонстрирующие возможности МСВР для количественного анализа и одновременного получения необходимой информации для идентификации метаболитов [9].

Особенности масс-спектрометрического анализа биологических проб

На схеме (см. рисунок) могут быть выделены три последовательных этапа метода: подготовка пробы (включенная в единую конструкцию аналитической системы или выполняемая независимо), хроматография и масс-спектрометрия. Все три составляющие взаимосвязаны и одинаково важны; на оптимизацию условий одного из них оказывают влияние другие. Основные критерии, согласно которым происходит развитие биоанализа: высокая производительность, высокая чувствительность и селективность [10]. Эти требования продиктованы необходимостью анализировать большое количество проб и определять очень низкие содержания ЛВ в сложных биологических матрицах. Рассмотрим подробнее, каким образом решаются эти задачи.

Подготовка пробы. Исходные биологические пробы не пригодны для прямого инструментального анализа. Существуют три основных способа подготовки пробы перед вводом в хроматографическую систему: 1) осаждение белков; 2) жидкостно-жидкостная экстракция (ЖЖЭ); 3) твердофазная экстракция (ТФЭ). Способ осаждения белков — денатурация под действием органического растворителя — универсален и прост. В рутинных анализах он используется чаще всего, так как в большинстве случаев дает удовлетворительные результаты, однако проба содержит еще большое число эндогенных соединений (соли, фосфолипиды и другие), осложняющих последующее масс-спектрометрическое измерение. ЖЖЭ, основанная на распределении молекул между несмешивающимися жидкостями, и ТФЭ, основанная на адсорбции в хроматографическом режиме, дают более чистый экстракт, однако они более трудоемки и длительны. Дополнительное преимущество методов экстракции — возможное повышение концентрации аналита на порядок.

На основе трех перечисленных способов созданы и развиваются различные варианты подготовки проб для биоанализа [11]. Как правило, пробоподготовка — самое медленное звено анализа, если используются ручные операции. На увеличение ее производительности направлены значительные усилия, причем сразу по трем направлениям: 1) роботизированное дозирование жидкости; 2) многолуночные (число лунок 96, 384, 1536) планшеты и 3) ввод пробы онлайн непосредственно в блок дозирования хроматографа. Первые два варианта часто применяют совместно.

Роботизированные устройства заменяют человека на операциях подготовки калибровочных проб и проб для

контроля качества анализа, при вводе внутреннего стандарта и собственно дозировании растворителя для извлечения вещества [12].

Многолуночные планшеты заменяют последовательную работу с каждой пробой (в пробирке или на сорбционном картридже) на одновременную обработку многих проб, причем и при ручном дозировании, и при роботизированном. Коммерчески доступны планшеты с самым широким набором свойств [13]. Современные планшеты очень экономичны: лунка, содержащая не более 2 мг сорбента, может быть использована для нанесения около 0,5 мл пробы, для экстракции с сорбента достаточно около 50 мкл растворителя. Завоевывает популярность жидкостная экстракция на носителе (SLE — supported liquid extraction) [14]. Метод реализуется на планшетах, заполненных пористым инертным наполнителем, на который дозируется проба, после чего целевые вещества смываются несмешивающимся растворителем-экстрагентом. По сравнению с обычной ЖЖЭ процесс отличается повышенной производительностью.

В особых случаях приходится сочетать несколько различных способов пробоподготовки, чтобы достичь желаемых показателей качества анализа, чаще всего это осаждение белков и ТФЭ, как в недавно опубликованной работе [15].

В доклинических исследованиях, когда эксперименты проводят на мелких животных, очень важно предусмотреть возможность работы с пробами малого объема. Большое количество новых технологий для миниатюризации пробоподготовки приведено в обзоре [16]. Входят в практику биоанализа такие варианты, как твердофазная микроэкстракция (сорбция на внешней поверхности иглы дозирующего шприца, в том числе в анализах *in vivo*), микроэкстракция в заполненных сорбентом шприцах автоматических дозаторов хроматографа (MEPS), сорбция в заполненных наконечниках автоматических пипеток и другие. Хорошие результаты получены при отборе проб крови объемом менее 10 мкл на стеклянные капилляры с последующим осаждением белка и фильтрацией на 96-луночных планшетах [17].

Другой подход к ускорению подготовки проб — ввод пробы онлайн на короткую колонку (картридж), которая встроена в блок ввода пробы хроматографа [18, 19]. В данном случае высокая степень очистки, свойственная методам ТФЭ, сочетается с полной автоматизацией процесса, который происходит в единой инструментальной системе. Выбор сорбентов для картриджей очень широк — практически весь набор, используемый для аналитических хроматографических колонок. Очень эффективно применение сорбента с крупным размером зерен в режиме турбулентной хроматографии [20] и сорбента типа RAM (restricted access material) с неоднородной структурой пористости [6]. В обоих случаях механизм разделения сходен с эксклюзионным, при котором малые молекулы ЛВ удерживаются сорбентом, а белковые компоненты пробы «проскакивают» и смываются. Преимущества методов онлайн — ограничение человеческого фактора, что означает лучшую воспроизводимость и безопасность работы (нет контакта оператора с матрицей) при большой скорости,

высокой степени концентрирования и сравнительно низкой стоимости. Недостаток — необходимость дополнительного оборудования для реализации процесса.

Отбор проб крови методом сухого пятна (DBS — dried blood spot) давно применяют в клинических исследованиях. Он менее травматичен, так как позволяет отбирать пробы минимального объема (микролитры), удобен для хранения и транспортировки проб и реализован как полностью автоматизированный онлайн-вариант. Метод с успехом применен в скрининговых исследованиях на крысах при кассетном дозировании нескольких веществ [21] и при стандартном исследовании фармакокинетики на крысах, как часть валидированной методики [22].

Часто для установления фармакокинетического профиля нового ЛВ необходимо измерять его содержание не только в плазме, но и в культуральных средах, в моче и тканях; в каждом случае приходится решать специфические задачи. Например, при подготовке к анализу среды, содержащей клетки, возникала необходимость повысить степень извлечения [23]; моча требует тщательной подготовки, так как содержит большое число различных метаболитов; анализ тканей осложняется прежде всего трудностью процедур отбора представительной пробы и экстракции целевых веществ из гомогената [24].

Хроматография. После первичной очистки проба все еще содержит много сопутствующих эндогенных веществ, которые могут помешать масс-спектрометрическому анализу, взаимодействуя с целевыми компонентами. Дальнейшее отделение последних происходит на хроматографических аналитических колонках. Селективность разделения зависит от химической природы сорбента, заполняющего колонку, и состава элюента; эффективность разделения также зависит от свойств сорбента (размера зерна, структуры пористости сорбента, геометрии колонки) и элюента (вязкости) и от температуры колонки. С теорией и практикой современной жидкостной хроматографии можно познакомиться в классической монографии [25].

Стандартный размер зерна для колонок высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) — 5 или 3 мкм. Применяют также структуры с неоднородной пористостью — поверхностно-пористые сорбенты и монокристаллические фазы, которые обладают повышенной сорбционной емкостью, высокой эффективностью при одновременном снижении противодавления и поэтому находят широкое применение в быстром биоанализе [26].

Использование все более мелких частиц в сорбционных колонках — известный общий прием ускорения анализа и повышения его эффективности. Последние достижения в технологии сорбентов позволяют получать сорбенты с частицами 1,7 мкм. Время анализа, требуемое для заданной степени разделения компонентов, при прочих равных условиях, уменьшается обратно пропорционально квадрату размера частиц сорбента. Однако ввиду мелкого размера частиц возрастает величина противодавления; для преодоления сопротивления потоку необходима система подачи растворителя с рабочими давлениями более 1000 атм (типичное максимальное значение для ВЭЖХ 400 атм). Хроматографию при таких высоких давлениях, для которой характерны повышенные скорость потока и

эффективность разделения, назвали сверхвысокоэффективной (СЭЖХ, или UPLC — ultra high performance chromatography). За счет повышения эффективности (уменьшения ширины пика) увеличивается чувствительность и разрешающая способность в анализах [26]. В настоящее время масс-спектрометры нового поколения реализуются только в комбинации с СЭЖХ.

Несмотря на химическое разнообразие сорбентов, самым популярным вариантом остаются неполярные, или обращенные, фазы на основе силикагеля с химически привитыми углеводородными (C18, C8, C2) и с другими группами, а также полимерные сорбенты. Однако многие ЛВ полярны, плохо удерживаются неполярной обращенной фазой даже при «слабом» элюенте с большим содержанием воды. В результате целевые аналиты не удается хорошо отделить от фона матрицы, а слишком большой процент воды в элюенте плохо сказывается на ионизации молекул при электрораспылении, что снижает чувствительность анализа.

Решением проблемы стали полярные сорбенты на основе силикагеля с другим механизмом удерживания, типа HILIC (hydrophilic interaction liquid chromatography), сочетающие хорошее разделение полярных соединений с высокой эффективностью и небольшим противодавлением [27]. На таких колонках возможно увеличение скорости анализа даже без насосов высокого давления для СЭЖХ. Целевые компоненты удерживаются сильнее и смещаются в область, свободную от фоновых веществ [28]. Характеристики удерживания сорбентов HILIC «ортогональны» обычной обращенной фазе, поэтому последовательное сочетание двух разделительных систем (стандартный прием хроматографии) дает прекрасную селективность при разделении сложных смесей, когда не удается получить разделение на одной колонке [19].

Чтобы максимально увеличить скорость биоанализа, предлагается вариант анализа без хроматографической колонки (ТФЭ–МС), т.е. совмещение хроматографии и пробоподготовки на одной короткой колонке; при этом продолжительность анализа можно снизить в 10–20 раз [29]. Для скрининговых исследований ADME качество анализа удовлетворительное, результаты хорошо согласуются с традиционными вариантами. Совершенствование метода, как надеются авторы, позволит распространить его на исследования фармакокинетики *in vivo*.

Масс-спектрометрия биологических проб и матричный эффект. Повышению производительности и качества биоанализов препятствует матричный эффект (МЭ). В классическом определении это изменение эффективности ионизации аналита под влиянием сопутствующих компонентов матрицы (белки, фосфолипиды, соли и др.). На него обратили внимание, когда ради ускорения анализа стали применять короткие хроматографические колонки и крутые градиенты состава элюента. Оказалось, что быстрая хроматография ухудшает основные показатели количественного анализа — прецизионность и воспроизводимость. Позднее стало ясно, что на степень ионизации аналитов влияют не только эндогенные вещества, но и вносимые реагенты (для сохранности пробы) и загрязняющие примеси (материал дозатора). На результаты

масс-детектирования влияют и другие причины: гемолиз и «старение» пробы, изменение степени извлечения под влиянием других компонентов, интерференция других ионов с той же целочисленной массой [30, 31].

Стало очевидным, что следует или преодолевать МЭ, или его учитывать [32]. По результатам многочисленных экспериментов выработано правило контролировать МЭ использованием разных образцов «чистой» матрицы, сравнением степени извлечения аналита и внутреннего стандарта — соединения близкой структуры или того же соединения, меченного стабильным изотопом. Полностью оценить МЭ можно только на реальных пробах (влияние гемолиза, посторонних примесей, вносимых при отборе проб, изменение состава матрицы, связанное с питанием животного или человека и т.п.).

Главные способы преодоления МЭ направлены на отделение целевых компонентов от фоновых путем эффективной предварительной очистки или выбора надлежащих условий хроматографирования; еще один совсем простой способ — разбавление пробы в тех случаях, когда это возможно [33].

Требования к методам анализа на разных стадиях доклинических исследований

Требования к методу количественного анализа биологических проб различаются в зависимости от решаемых задач (таблица) [1].

Методы для скрининговых исследований. На стадиях высокопроизводительного скрининга потенциальных ЛВ, включая тесты на метаболическую стабильность, ингибирование ферментов, проницаемость и другие, необходим анализ большого числа образцов (порядка сотни в день). Требуется экспрессный, достаточно селективный метод для параллельного анализа в одной пробе многих, не обязательно родственных соединений, при этом жестких требований к количественному определению нет. Такого типа анализы очень привлекательны для максимальной автоматизации как при разработке метода (автоматизация выбора условий), так и при проведении длинных серий массовых анализов и обработке их результатов. Указанным требованиям удовлетворяют полностью автоматизированные системы, использующие онлайн ТФЭ, с общей продолжительностью анализа около 1 мин и менее, что позволяет проводить различные исследования *in vitro* с максимальной производительностью [5, 29].

Кроме автоматизации анализа, повышения производительности можно достичь путем параллельного проведения анализов — мультиплексной хроматографии, хорошо

согласующейся с параллельной подготовкой проб в 96-луночных планшетах [4]. Принцип мультиплексирования реализуется параллельным дозированием проб на несколько колонок с выходом на масс-спектрометр, обрабатывающий несколько каналов последовательно. Усовершенствованная система ввода проб для мультиплексной хроматографии была применена для скрининговых анализов ADME *in vitro* [34].

Для снижения затрат и увеличения производительности исследования фармакокинетические испытания *in vivo* начинают с ускоренного кассетного скрининга на крысах. При использовании такого «дозирования *n* в одном» в анализируемой пробе содержатся несколько тестируемых веществ и еще большее число их метаболитов, поэтому основное требование к методу анализа — селективность, достаточная для разделения и определения всех компонентов. Сравнение результатов анализа с использованием изотопно меченного внутреннего стандарта при кассетном дозировании 4 моноклональных антител и при их дискретном вводе подтвердило достаточную селективность метода [35].

Валидированные количественные методы. На поздних этапах доклинических исследований для расчета параметров фармакокинетики нужен инструмент точного определения концентраций — полностью валидированный метод. При этом весь лабораторный процесс необходимо организовать с соблюдением правил надлежащей лабораторной практики (GLP): оборудование должно быть сертифицировано, качество реагентов подтверждено, после приема образца на исследование ему должен быть присвоен уникальный идентификационный номер, все манипуляции при проведении анализа описаны как стандартные операции и выполнение их проконтролировано и т.д.

Валидация — это подтверждение заявленных характеристик: селективности, чувствительности, линейности, воспроизводимости, прецизионности, стабильности аналита, сохранности его при разбавлении, ограничение матричного эффекта и переноса вещества, которые должны удовлетворять регламентным критериям [36]. Так, воспроизводимость, прецизионность, изменение концентрации в тестах на стабильность не должны превышать 15% измеряемой величины. При изменении анализируемой матрицы (плазма, моча, слюна, ткань мозга и т.д.), вида животных, типа используемого оборудования метод нельзя переносить автоматически, необходимо проведение частичной валидации. Методы, разработанные на этапах скрининга, использовать напрямую нельзя, но их можно усовершенствовать. Методы, прошедшие валидацию для доклинических испытаний, как правило, далее используют

Таблица. Требования к биоаналитическим методам		
Требования к методу	Скрининговые исследования	Доклинические исследования
Разработка условий	Автоматизированный метод, пригодный для быстрого анализа разных веществ, в том числе многокомпонентного анализа	Оптимизация условий для каждого аналита, каждой матрицы и вида животного. Автоматизация возможна, но не обязательна
Валидация	Частичная валидация	Обязательная полная валидация
Число проб	Несколько проб для каждого вещества, тысячи веществ в одном проекте	Среднее число проб для десятков веществ в одном проекте

и в фазе клинических испытаний, но тоже после повторной частичной валидации.

Предложены обобщенные подходы для разработки методов с их последующей валидацией [37]. Рекомендована определенная последовательность действий: 1) выбор условий подготовки пробы и анализа с учетом физико-химических свойств и метаболизма вещества; 2) предварительное изучение стабильности с использованием пробы контроля качества (QC) и реальных проб для оценки условий отбора, хранения и выполнения методики; 3) предварительная валидация для оценки только показателей прецизионности и воспроизводимости на реальных пробах; 4) полная валидация для подтверждения показателей, полученных при разработке метода. Эффективность такого подхода была подтверждена успешностью валидаций методов, разработанных по этому алгоритму.

Количество опубликованных валидированных методов для изучения фармакокинетики измеряется тысячами, в подавляющем числе случаев использованы масс-спектрометры типа тройного квадруполя. Однако в научных публикациях уже представлено и около десятка валидированных методов с использованием масс-спектрометров высокого разрешения. Среди хроматографических систем преимущество также у традиционного варианта ВЭЖХ, но СЭЖХ используют все чаще; за последние 5 лет опубликовано порядка ста валидированных методов для фармакокинетических исследований. В одной из недавних работ описан метод, соединивший несколько самых последних технологий: отбор микродозы (кровь крысы объемом 1,25 мкл) по технологии сухого пятна, автоматическую экстракцию в режиме онлайн, двумерную хроматографию и детектирование МСВР [22]. Метод удовлетворяет всем регламентным требованиям и был использован для получения на крысах фармакокинетических параметров двух новых ЛВ.

Методы изучения метаболизма. Кроме задач количественного анализа важная часть исследований при разработке ЛВ связана с идентификацией молекул при изучении метаболизма сначала на клеточных моделях *in vitro*, а затем и *in vivo*. Можно выделить три типа подобных задач: 1) установление путей метаболических превращений при идентификации циркулирующих метаболитов; 2) изучение фармакокинетики вещества-метаболита путем количественного определения и 3) идентификация реакционно-способных метаболитов, играющих особую роль медиаторов и потенциальных токсикантов.

Показано, что для идентификации неизвестных соединений масс-спектрометры низкого разрешения не вполне пригодны: исследование трудоемко и продолжительно и часто дает ложноположительные результаты [38]. Поэтому в настоящее время с этой целью используют МСВР, прежде всего типа Qq-TOF, которые уже в режиме сканирования позволяют с высокой вероятностью определять элементный состав ионов по измеренной с высокой точностью массе. Описание методологии идентификации молекул и используемых для этого разнообразных режимов работы тандемных МСВР, сочетающих сканирование в первом анализаторе и фрагментацию во втором, может быть предметом отдельного обзора. Интересующихся отсылаем к работе [39]; здесь их кратко перечислим. В первой группе

режимов работы — фрагментация ионов в зависимости от текущих данных сканирования в первом масс-анализаторе по одному из критериев: 1) интенсивность иона; 2) точная величина массы; 3) изотопное распределение; 4) величина псевдо-нейтральных потерь массы; 5) величина дефекта масс. Во второй — фрагментация всех ионов без каких-либо предварительных условий: 1) фрагментация при двух (низкой и высокой) энергиях соударений; 2) полная фрагментация в режиме SWATH — при разбиении всего диапазона масс на узкие интервалы.

При обработке большого массива данных, полученных МСВР, с помощью специальных программ выявляют те ионы, что соответствуют сдвигу массы молекулярного иона на определенную величину, задаваемую той или иной метаболической реакцией. Кроме информации о молекулярных ионах в том же анализе получают сведения о фрагментации избранных или всех молекулярных ионов в диапазоне сканирования в зависимости от режима работы масс-спектрометра. Обработка совокупности данных даже одного анализа может решить сложную задачу установления путей метаболического превращения вещества.

Заключение

Представленный краткий обзор публикаций последних 5 лет показывает современное состояние и тенденции развития в биоанализе универсального инструментального метода жидкостной хроматографии — тандемной масс-спектрометрии. Высокая производительность, чувствительность и селективность метода во многом способствуют прогрессу различных биомедицинских технологий, в том числе доклинических исследований новых лекарственных веществ, определяя успешность таких направлений, как массовый скрининг *in vitro* и *in vivo*, установление метаболизма новых лекарственных веществ, количественные определения лекарственных веществ при низких концентрациях для расчета фармакокинетических параметров.

Литература

1. Ramanathan D.M., LeLacheur R.M. Evolving role of mass spectrometry in drug discovery and development // *Mass Spectrometry in Drug Metabolism and Pharmacokinetics* / Ed. by R.Ramanathan. NY: John Wiley & Sons, 2009. P.1–85.
2. Gillespie T.A., Winger B.E. Mass spectrometry for small molecule pharmaceutical product development: a review // *Mass Spectrom Rev.* 2011. V.3 (3). P.479–490.
3. Kang J.S. Principles and Applications of LC-MS/MS for the Quantitative Bioanalysis of Analytes in Various Biological Samples // *Tandem Mass Spectrometry — Applications and Principles* / Ed. By J.K.Prasain [Electronic resource]. INTECH [Official website]. URL: <http://www.intechopen.com/books/tandem-mass-spectrometry-applications-and-principles> (accessed: 12.07.2013).
4. Shou W.Z., Zhang J. Recent development in high-throughput bioanalytical support for *in vitro* ADMET profiling // *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2010. V.6 (3). P.321–336.
5. Wu X., Wang J., Tan L. et al. *In vitro* ADME profiling using high-throughput rapidfire mass spectrometry: cytochrome p450 inhibition and metabolic stability assays // *J Biomol Screen.* 2012. V.17 (6). P.761–772.

6. Schebb N.H., Inceoglu B., Rose T. et al. Development of an ultra fast online-solid phase extraction (SPE) liquid chromatography electrospray tandem mass spectrometry (LC-ESI-MS/MS) based approach for the determination of drugs in pharmacokinetic studies // *Anal Methods*. 2011. V.3 (2). P.420–428.
7. Чернецова Е.С., Корякова А.Г. Использование высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с масс-спектрометрией для исследования новых лекарственных веществ // *Масс-спектрометрия*. 2010. Т.7. №2. С.101–112.
8. Ding X., Ghobarah H., Zhang X. et al. High-throughput liquid chromatography/mass spectrometry method for the quantitation of small molecules using accurate mass technologies in supporting discovery drug screening // *Rapid Commun Mass Spectrom*. 2013. V.27 (3). P.401–408.
9. Ramanathan R., Jemal M., Ramagiri S. et al. It is time for a paradigm shift in drug discovery bioanalysis: from SRM to HRMS // *J Mass Spectrom*. 2011. V.46 (6). P.595–601.
10. Zhou M. Competitiveness of Bioanalytical Laboratories — technical and regulatory perspectives // *Regulated Bioanalytical Laboratories. Technical and Regulatory Aspects from Global Perspectives*. NY: John Wiley & Sons, 2011. P.229–296.
11. Singleton C. Recent advances in bioanalytical sample preparation for LC-MS analysis // *Bioanalysis*. 2012. V.4 (9). P.1123–1140.
12. Kong F., Yuan L., Zheng Y.F., Chen W. Automatic liquid handling for life science: a critical review of the current state of the art // *J Lab Autom*. 2012. V.17 (3). P.169–185.
13. Решения для подготовки образцов и хроматографии для количественного биоанализа [Электронный ресурс] // Waters Corporation [Official website]. URL: http://www.waters.com/waters/library.htm?locale=ru_RU&lid=134621334 (дата обращения: 15.01.2014).
14. Zhang Y., Cao H., Jiang H. Supported liquid extraction versus liquid-liquid extraction for sample preparation in LC-MS/MS-based bioanalysis // *Bioanalysis*. 2013. V.5 (3). P.285–288.
15. Vičková H., Janák J., Gottvald T. et al. How to address the sample preparation of hydrophilic compounds: Determination of entecavir in plasma and plasma ultrafiltrate with novel extraction sorbents // *J Pharm Biomed Anal*. 2014. №88. P.337–344.
16. Namera A., Saito T. Recent advances in unique sample preparation techniques for bioanalysis // *Bioanalysis*. 2013. V.5 (8). P.915–932.
17. Spreadborough M.J., Day J., Jackson-Addie K., Wilson A. Bioanalytical implementation of plasma capillary microsampling: small hurdles, large gains // *Bioanalysis*. 2013. V.5 (12). P.1485–1489.
18. Jian W., Romm M.V., Edom R.W. et al. Evaluation of a high-throughput online solid phase extraction-tandem mass spectrometry system for in vivo bioanalytical studies // *Anal Chem*. 2011. V.83 (21). P.8259–8266.
19. Zeng M., Zhang J., Yang Y. et al. An automated dual-gradient liquid chromatography-MS/MS method for the simultaneous determination of ferulic acid, ligustrazine and ligustilide in rat plasma and its application to a pharmacokinetic study // *J Pharm Biomed Anal*. 2014. V.88. P.354–363.
20. Couchman L. Turbulent flow chromatography in bioanalysis: a review // *Biomed Chromatogr*. 2012. V.26 (8). P.892–905.
21. Liang X., Yang L., Berezhevskiy L. et al. Evaluation of dried blood spot sampling following cassette dosing in drug discovery // *Bioanalysis*. 2011. V.3 (20). P.2291–2302.
22. Oliveira R.V., Henion J., Wickremsinhe E. Fully-automated approach for online dried blood spot extraction and bioanalysis by two-dimensional-liquid chromatography coupled with high-resolution quadrupole time-of-flight mass spectrometry // *Anal Chem*. 2014. V.86 (2). P.1246–1253.
23. Cai X., Walker A., Cheng C. et al. Approach to improve compound recovery in a high-throughput Caco-2 permeability assay supported by liquid chromatography-tandem mass spectrometry // *J Pharm Sci*. 2012. V.101 (8). P.2755–2762.
24. Ramesh Varkhede N., Jhajra S., Suresh Ahire D., Singh S. Metabolite identification studies on amiodarone in in vitro (rat liver microsomes, rat and human liver S9 fractions) and in vivo (rat feces, urine, plasma) matrices by using liquid chromatography with high-resolution mass spectrometry and multiple-stage mass spectrometry: characterization of the diquinone metabolite supposedly responsible for the drug's hepatotoxicity // *Rapid Commun Mass Spectrom*. 2014. V.28 (4). P.311–331.
25. Introduction to modern liquid chromatography / Ed. by L.R.Snyder, J.J.Kirkland. New Jersey: Wiley, 2010.
26. Núñez O., Gallart-Ayala H., Martins C.P. et al. State-of-the-art in fast liquid chromatography-mass spectrometry for bio-analytical applications // *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2013. V.927. P.3–21.
27. Jian W., Edom R.W., Xu Y., Weng N. Recent advances in application of hydrophilic interaction chromatography for quantitative bioanalysis // *J Sep Sci*. 2010. V.33 (6–7). P.681–697.
28. Havlíková L., Vičková H., Solich P., Nováková L. HILIC UHPLC-MS/MS for fast and sensitive bioanalysis: accounting for matrix effects in method development // *Bioanalysis*. 2013. V.5 (19). P.2345–2357.
29. Miller V.P. SPE-MS analysis of absorption, distribution, metabolism and excretion assays: a tool to increase throughput and streamline workflow // *Bioanalysis*. 2012. V.4 (9). P.1111–1121.
30. Van de Merbel N.C., de Vries R. Aging of biological matrices and its effect on bioanalytical method performance // *Bioanalysis*. 2013. V.5 (19). P.2393–2407.
31. Li F., Ewles M., Pelzer M. et al. Case studies: the impact of nonanalyte components on LC-MS/MS-based bioanalysis: strategies for identifying and overcoming matrix effects // *Bioanalysis*. 2013. V.5 (19). P.2409–2441.
32. Van Eeckhaut A., Lanckmans K., Sarre S. et al. Validation of bioanalytical LC-MS/MS assays: evaluation of matrix effects // *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*. 2009. V.877 (23). P.2198–2207.
33. Ye Z., Tsao H., Gao H., Brummel C.L. Minimizing matrix effects while preserving throughput in LC-MS/MS bioanalysis // *Bioanalysis*. 2011. V.3 (14). P.1587–1601.
34. Zhang J., Vath M., Ferraro C. et al. A high-speed liquid chromatography/tandem mass spectrometry platform using multiplexed multiple-injection chromatography controlled by single software and its application in discovery ADME screening // *Rapid Commun Mass Spectrom*. 2013. V.27 (7). P.731–737.
35. Li H., Ortiz R., Tran L.T. et al. Simultaneous analysis of multiple monoclonal antibody biotherapeutics by LC-MS/MS method in rat plasma following cassette-dosing // *AAPS J*. 2013. V.15 (2). P.337–346.
36. European Medicines Agency, Committee for Medicinal Products for Human Use. Concept Paper // *Recommendations on the Need for a (CHMP) Guideline on the Validation of Bioanalytical Methods*. London, UK: European Medicines Agency, 2008.
37. Xue Y.J., Melo B., Vallejo M. et al. An integrated bioanalytical method development and validation approach: case studies // *Biomed Chromatogr*. 2012. V.26 (10). P.1215–1227.
38. Rousu T., Herttuainen J., Tolonen A. Comparison of triple quadrupole, hybrid linear ion trap triple quadrupole, time-of-flight and LTQ-Orbitrap mass spectrometers in drug discovery phase metabolite screening and identification in vitro — amitriptyline and verapamil as model compounds // *Rapid Commun Mass Spectrom*. 2010. V.24 (7). P.939–957.
39. Ma S., Chowdhury S.K. Data acquisition and data mining techniques for metabolite identification using LC coupled to high-resolution MS // *Bioanalysis*. 2013. V.5 (10). P.1285–1297.

Факторы и показатели профессионального риска при добыче нефти

Г.Г.Гимранова, А.Б.Бакиров, Л.К.Каримова, Н.А.Бейгул, Э.Р.Шайхлисламова

Уфимский научно-исследовательский институт медицины труда и экологии человека
(директор — проф. А.Б.Бакиров)

Проведена оценка степени профессионального риска у работников, занятых добычей нефти, по гигиеническим и медико-биологическим критериям. На современных нефтедобывающих предприятиях комплекс факторов рабочей среды и трудового процесса включает производственный шум, вибрацию, воздействие вредных химических веществ, неблагоприятные параметры наружного воздуха, тяжесть и напряженность труда. Условия труда в конкретных профессиях характеризуются сочетанием преобладающих факторов, интенсивность которых соответствует 3 классу 1–4 степени вредности. Наличие комплекса вредных производственных факторов приводит к развитию у работающих профессиональных и производственно-обусловленных заболеваний. Наиболее высокий профессиональный риск для здоровья выявлен у бурильщиков, помощников бурильщика, операторов капитального, подземного ремонта скважин и машинистов. Разработаны мероприятия по оптимизации системы управления профессиональными рисками.

Ключевые слова: профессиональный риск, работники нефтедобывающего производства, оценка условий труда и состояния здоровья нефтяников

Factors and Indicators of Oil Extraction Occupational Risks

G.G.Gimranova, A.B.Bakirov, L.K.Karimova, N.A.Beygul, E.R.Shaikhislamova

Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Ecology
(Director — Prof. A.B.Bakirov)

We have assessed occupational risks among oil extraction workers using hygienic and medico-biological criteria. In modern oil extraction enterprises, a complex of work environment and work process factors includes occupational noise, vibration, hazardous chemicals impact, outdoor air negative indicators, work severity and intensity. Working conditions in certain occupations are characterized by a combination of predominating factors. Their intensity is of class 3 (1–4 degree) hazards. The presence of hazardous factors leads to the development of occupational and work-related diseases among workers. The highest health occupational risk level is detected in drillers, assistant drillers, operators of major, underground drill hole repairs, and machine operators. Optimization measures for occupational risk management have been developed.

Key words: occupational risk, oil extraction enterprise workers, assessment of working conditions and health state of oil industry workers

Воздействие на работников вредных производственных факторов нефтедобычи может проявляться развитием профессиональных заболеваний, ростом числа хронических неинфекционных заболеваний.

Нефтедобывающая отрасль, согласно Общероссийскому классификатору видов экономической деятельности, входит в раздел 11 — «Добыча сырой нефти и природного газа; предоставление услуг в этих областях». По данным Федеральной службы государственной статистики, удельный вес работников, занятых во вредных и (или) опасных условиях труда при добыче сырой нефти в течение 2007–2012 гг., составлял 25,2–32,4%.

Уровень регистрируемой профессиональной заболеваемости у работников, занятых добычей нефти, за 2007–2010 гг. увеличился с 1,19 до 1,64 на 10 000 работающих.

Цель исследования — провести оценку степени профессионального риска нарушения здоровья у работников, занятых добычей нефти.

Материалы и методы

Степень профессионального риска у работников открытого акционерного общества «Акционерная нефтяная компания «Башнефть» оценивали по гигиеническим и медико-биологическим критериям. Уровни производственных факторов определяли на основе инструментальных измерений в соответствии с действующими нормативными документами. Общая оценка условий труда работников проведена согласно руководству по гигиенической оценке [1].

В качестве медико-биологических критериев использованы профессиональная заболеваемость и степень производственной обусловленности хронических неинфекционных заболеваний. Для ретроспективного анализа и

Для корреспонденции:

Гимранова Галина Ганиновна, доктор медицинских наук, заместитель директора по научной и организационно-методической работе Уфимского научно-исследовательского института медицины труда и экологии человека

Адрес: 450106, Уфа, ул. Степана Кувыкина, 94

Телефон: (347) 255-1903

E-mail: gala.gim@mail.ru

Статья поступила 11.11.2013, принята к печати 20.02.2014

изучения особенностей формирования профессиональной заболеваемости у нефтяников использованы архивные материалы первичных медицинских документов данной группы работников с установленным диагнозом профессионального заболевания.

Углубленным медицинским осмотром с применением клинично-лабораторных и функциональных методов исследования были охвачены 7487 нефтяников. Профессиональный состав работников представлен следующими специальностями: бурильщики, помощники бурильщика — 27,9%, операторы по капитальному и подземному ремонту скважин (оператор КРС, оператор ПРС) — 17,3%, операторы по добыче нефти и газа, поддержанию пластового давления, обезвоживающей и обессоливающей установки (оператор ДНГ, оператор ППД, оператор ООУ) — 30,5%, машинисты агрегатов по обслуживанию нефтегазового оборудования — 24,3%. Показатели состояния здоровья рабочих основных профессий сравнивали с состоянием здоровья лиц контрольной группы инженерно-технического персонала (11,5%). Полученные результаты обработаны с использованием стандартных методов вариационной статистики.

По результатам периодических медицинских осмотров с учетом современных представлений о количественных критериях оценки степени производственной обусловленности [2] определены относительный риск и этиологическая доля для группы полиэтиологических заболеваний. Интегральный уровень профессионального риска, учитывающий гигиенические и медико-биологические критерии, устанавливали по наиболее высокому классу.

Результаты исследования и их обсуждение

Условия труда работников, занятых эксплуатацией нефтяных скважин и их ремонтом, характеризуются сочетанным воздействием производственного шума, вибрации, вредных химических веществ и неблагоприятных параметров наружного воздуха. Комплекс вредных производственных факторов химической природы представлен преимущественно веществами 2–4 класса опасности (нефть и ее компоненты, а также дигидросульфид, серы диоксид, углерода оксид, азота оксиды). Труд работников при эксплуатации нефтяных месторождений связан с физическим и психоэмоциональным перенапряжением.

Общая оценка условий труда бурильщиков и их помощников соответствует вредному 3 классу 3–4 степени вредности, операторов КРС, ПРС — 3 классу 3 степени вредности.

На работников, занятых сбором продукции скважин и предварительной подготовкой нефти, действует аналогичный комплекс вредных производственных факторов, но меньшей интенсивности. Выполнение работ в операторных и непосредственно у оборудования на открытых площадках сопровождается интермиттирующим воздействием факторов рабочей среды. Труд операторов ООУ, ППД и ДНГ отнесен к 3 классу 1–2 степени вредности. Машинисты агрегатов по обслуживанию нефтегазового оборудования подвергаются воздействию производствен-

ного шума, интенсивность которого соответствует 3 классу 2–3 степени вредности.

Профессиональный риск нарушения здоровья у бурильщика и его помощника по гигиеническим критериям соответствует уровням «выше среднего — высокий», операторов КРС, ПРС — «выше среднего», машиниста агрегатов по обслуживанию нефтегазового оборудования — «средний — выше среднего», операторов ДНГ, ППД и ООУ — «низкий — средний».

Производственные факторы риска могут быть причиной возникновения и развития профессиональных заболеваний, роста заболеваемости с временной утратой трудоспособности, профессионально обусловленной патологии.

В структуре накопленной профессиональной заболеваемости нефтяников основное место принадлежит заболеваниям от воздействия физических перегрузок и перенапряжения отдельных органов и систем (79,5%), а также заболеваниям, вызванным воздействием физических факторов (10,6%). Профессиональные заболевания с поражением органов дыхания составили 6,4% (профессиональный бронхит — 4,6%, профессиональная бронхиальная астма — 1,2%, пневмокониоз — 0,6%), интоксикации нефтепродуктами — 3,1%, заболевания кожи — 0,6%. Наиболее распространены у работников, занятых добычей нефти, полинейропатии конечностей — 30,5%, плечелопаточный периартроз — 25,4%, радикулопатии пояснично-крестцового уровня — 20,0%. Вибрационная болезнь диагностирована у 5,6%, нейросенсорная тугоухость — у 5,0%, эпикондилез надмыщелков плечевых костей — у 3,4% работников.

Наиболее часто профессиональные заболевания диагностированы у бурильщиков и их помощников (67,1%). У операторов КРС, ПРС профессиональные заболевания установлены в 13,2% случаев, у машинистов — в 8,6%.

Особенность профессиональных заболеваний у бурильщиков и их помощников, операторов КРС, ПРС, машинистов — частое сочетание нескольких нозологических форм у одного больного. В большинстве случаев наблюдалось сочетание двух синдромов в профессиональной группе машинистов (20,8%), бурильщиков и их помощников (13,8%), операторов КРС, ПРС (10,5%). Чаще всего у нефтяников отмечалось сочетание полинейропатии конечностей и плечелопаточного периартроза, а также полинейропатии конечностей и радикулопатии пояснично-крестцового уровня. У машинистов диагностировано сочетание нейросенсорной тугоухости с пояснично-крестцовой радикулопатией либо с полинейропатией конечностей.

С учетом тяжести и частоты установленных профессиональных заболеваний определен индекс профзаболеваний. Суммарный индекс профзаболеваний, учитывающий как вероятностную меру профессионального риска, так и степень тяжести профзаболеваний за 35-летний период в группах бурильщиков и их помощников, составил 2,48; операторов КРС, ПРС — 2,28; машинистов — 1,38.

Согласно критериям профессионального риска по медико-биологическим показателям уровень профессио-

Профессиональные группы	Априорный риск		Апостериорный риск		Интегральный уровень профессионального риска
	гигиенические критерии	профессиональная заболеваемость	производственно-обусловленная заболеваемость		
Бурильщики, помощники бурильщиков	3.3–3.4 Выше среднего – высокий	Высокий	Высокий	Высокий	Высокий
Операторы КРС, ПРС	3.3 Выше среднего	Высокий	Высокий	Высокий	Высокий
Машинисты агрегатов по обслуживанию нефтепромыслового оборудования	3.2–3.3 Средний — выше среднего	Средний	Высокий	Высокий	Высокий
Операторы ДНГ, ППД, ООУ	3.1–3.2 Низкий — средний	–	Средний	Средний	Средний

нальной заболеваемости в 70–80-х гг. XX в. колебался от 21,5 до 16,5 на 10 000 работников, что соответствовало уровню выше среднего. Начиная с 1997 г. уровень профессиональной заболеваемости на предприятии снизился до среднего уровня (5,1 на 10 000 работников). С 2007 по 2012 г. зарегистрированы лишь единичные случаи профессиональных заболеваний.

По результатам периодических медицинских осмотров выделена группа лиц с хроническими общесоматическими заболеваниями, развитие которых можно связать с воздействием производственных факторов. Анализ распространенности выявленных заболеваний в профессиональных группах показал высокую частотность заболеваний опорно-двигательного аппарата и периферической нервной системы у бурильщиков и их помощников, операторов КРС, ПРС (соответственно более 40,0%), машинистов (35,2%). Заболевания опорно-двигательного аппарата и периферической нервной системы у нефтяников представлены главным образом вертеброгенной патологией пояснично-крестцового уровня. Во всех профессиональных группах выявлена высокая распространенность люмбагий и люмбоишиалгий: у бурильщиков и их помощников — соответственно 26,0 и 18,4%, машинистов — 19,6 и 8,0%, операторов КРС, ПРС — 21,8 и 11,7%, операторов ДНГ, ППД, ООУ — 13,9 и 8,6%.

Особенность формирования костно-мышечной патологии у работников нефтедобычи определяется ранними сроками развития и локализацией рефлекторных поражений (примерно 25% нефтяников в течение первых 5 лет работы начинают отмечать болевые проявления пояснично-крестцового уровня).

Относительный риск (RR) вертеброгенной патологии пояснично-крестцового уровня у рабочих основных профессий колебался от 1,7 до 4,4, этиологическая доля (EF) составляла от 42,5 до 76,7%.

Высокая степень производственной обусловленности артериальной гипертензии установлена в профессиональных группах машинистов (RR — 2,8; EF — 64,3%), операторов КРС, ПРС (RR — 2,9; EF — 52,4%), средняя степень — у бурильщиков и их помощников (RR — 1,6; EF — 37,5%).

Для гастродуоденальной патологии выявлена средняя степень производственной обусловленности у машинистов (RR — 1,7; EF — 44,4%), операторов КРС, ПРС (RR — 1,6; EF — 37,5%), операторов ДНГ, ППД, ООУ (RR — 1,6; EF — 37,5%). В профессиональной группе машинистов выявлена высокая степень профессиональной обусловленности язвенной болезни (RR — 2,4; EF — 58,3%) и средняя (RR — 1,7; EF — 41,2%) — хронического гастрита.

Интегральный уровень профессионального риска ущерба здоровью, по результатам априорной и апостериорной оценки, соответствует высокому уровню в профессиональных группах бурильщиков и их помощников, операторов КРС, ПРС, машинистов и среднему уровню — в группе операторов ДНГ, ППД и ООУ (таблица).

Таким образом, категорирование риска по классам условий труда, медико-биологическим показателям позволило установить, что профессиональный риск для здоровья работников основных профессиональных групп, занятых добычей нефти, определен преимущественно как высокий, что требует разработки неотложных мер по его снижению.

Приоритетные направления оздоровительных мероприятий и сроки их реализации (срочные, среднесрочные, плановые) должны определяться в соответствии с установленными уровнями профессиональных рисков и степенью производственной обусловленности нарушений здоровья у нефтяников. Срочность осуществления организационно-технических мероприятий должна определяться степенью вредности условий труда, уровнем профессиональной заболеваемости, относительным риском хронических общесоматических заболеваний. В первую очередь должны проводиться оздоровительные мероприятия у работников, занятых добычей нефти, класс условий труда которых соответствует 3.2–3.4. У данной группы рабочих выявлены высокие уровни профессиональных и общих заболеваний.

Выводы

1. На основе комплексных клинико-гигиенических исследований дана научно обоснованная оценка фактических уровней профессиональных рисков в нефтедобывающей промышленности.

2. На современных нефтедобывающих предприятиях комплекс факторов рабочей среды и трудового процесса включает тяжесть и напряженность труда, производственный шум, вибрацию, воздействие вредных химических веществ. Условия труда в конкретных профессиях характеризуются сочетанием преобладающих факторов, интенсивность которых соответствует 3 классу 1–4 степени вредности.

3. Определяющая роль условий труда (относительный риск более 2 единиц и этиологическая доля выше 50%) для вертеброгенной патологии пояснично-крестцового уровня установлена в профессиональных группах буровиков и их помощников, операторов КРС, ПРС, машинистов; для артериальной гипертензии — в группах машинистов и операторов КРС, ПРС; для язвенной болезни — в группе машинистов. Распространенность остальных общесоматических заболеваний у нефтяников не отличалась от аналогичных показателей контрольной группы.

4. Внедрение мероприятий по снижению профессионального риска для здоровья работающих позволит повысить эффективность работ по охране труда в нефтедобывающей промышленности, предупредить либо уменьшить неблагоприятное влияние вредных факторов на состояние здоровья работающих, повысить производительность труда, снизить заболеваемость с временной утратой трудоспособности и профессионально-обусловленную заболеваемость в нефтедобыче.

Литература

1. Руководство по гигиенической оценке факторов рабочей среды и трудового процесса. Критерии и классификация условий труда. Руководство Р 2.2.2006-05 / Под ред. Н.Ф.Измерова // Бюл. норматив. и метод. докум. Госсанэпиднадзора. 2005. №3 (21). С.3–144.
2. Денисов Э.И., Чесалин П.В. Доказательность в медицине труда: принципы и оценка связи нарушений здоровья с работой // Мед. труда и пром. экол. 2006. №11. С.6–13.
3. Денисов Э.И., Башарова Г.Р. Способ определения степени зависимости болезни от работы // Патент России № 2189589. 2002. Бюл. № 26.

Информация об авторах:

Бакиров Ахат Бариевич, доктор медицинских наук, профессор, директор Уфимского НИИ медицины труда и экологии человека
Адрес: 450106, Уфа, ул. Степана Кувыкина, 94
Телефон: (347) 255-5684
E-mail: bakirov@anrb.ru

Каримова Лилия Казымовна, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник Уфимского НИИ медицины труда и экологии человека
Адрес: 450106, Уфа, ул. Степана Кувыкина, 94
Телефон: (347) 255-5721
E-mail: iao_karimova@rambler.ru

Бейгул Наталья Александровна, кандидат химических наук, доцент, старший научный сотрудник Уфимского НИИ медицины труда и экологии человека
Адрес: 450106, Уфа, ул. Степана Кувыкина, 94
Телефон: (347) 255-5721
E-mail: mk_lab@mail.ru

Шайхлисламова Эльмира Радиковна, кандидат медицинских наук, врач-невролог Уфимского НИИ медицины труда и экологии человека
Адрес: 450106, Уфа, ул. Степана Кувыкина, 94
Телефон: (347) 255-1903
E-mail: shajkh.ehlmira@yandex.ru

Учебники и монографии

Пивоваров Ю.П., Королик В.В., Зиневич Л.С. Гигиена. В 2 т. М.: Академия, 2013.

В учебном пособии отражены основные разделы гигиены: гигиена окружающей среды, гигиена питания, гигиена лечебно-профилактических учреждений, радиационная гигиена, гигиена труда, гигиена детей и подростков, личная гигиена, гигиена экстремальных ситуаций и катастроф, а также связанные с этими разделами вопросы экологии человека. В томе 1 рассмотрены природные и антропогенные изменения окружающей среды и их гигиеническое и экологическое влияние на здоровье человека. В томе 2 рассмотрены основы гигиены лечебно-профилактических заведений, направления профилактики профессиональных заболеваний на производстве. Приведены действующие официальные нормативные документы. Учебник создан в соответствии с федеральным государственным образовательным стандартом высшего образования по направлению «Здравоохранение» для студентов учреждений высшего медицинского и фармацевтического профессионального образования.

Оценка профессионального риска нарушений здоровья работников нефтехимических производств

Г.Г.Бадамшина, Л.К.Каримова, Г.В.Тимашева, А.Б.Бакиров

Уфимский научно-исследовательский институт медицины труда и экологии человека
(директор — проф. А.Б.Бакиров)

Проведены комплексные клинико-гигиенические исследования у 549 работников предприятия нефтехимического комплекса по производству синтетических смол. Основным вредным фактором рабочей среды в изученном производстве был химический фактор, который представлен вредными веществами 2–3 класса опасности. В целом по уровню воздействия химического фактора условия труда соответствовали классу 3.3. Установлены основные классы хронических неинфекционных заболеваний у работников производства, выявлены статистические признаки связи заболевания с работой, характеризующие профессиональный риск для здоровья работающих.

Ключевые слова: нефтехимическое производство, условия труда, профессиональный риск

Estimation of the Occupational Risk of Violations of Petrochemical Industry Workers' Health

G.G.Badamshina, L.K.Karimova, G.V.Timasheva, A.B.Bakirov

Ufa Institute of Occupational Health and Human Ecology
(Director — Prof. A.B.Bakirov)

A complex clinical-hygienic study in employees of a petrochemical complex for the production of synthetic resins was conducted. The main hazardous factor in the working environment under the study was a chemical production factor which was represented by 2–3 class hazards. In general, the working conditions were closely matched to class 3.3 according to the level of a chemical factor. The priority classes of chronic non-infectious diseases among petrochemical workers revealed statistical evidence for association of the disease with the work, characterizing the professional risk to the health of the workers.

Key words: petrochemical industry, working conditions, occupational risk

В Концепции долгосрочного социально-экономического развития Российской Федерации на период до 2020 г. проблема сохранения и укрепления здоровья работающего населения возведена в рамки государственных задач, что диктует необходимость совершенствования системы охраны здоровья трудящихся [1].

Нефтехимическая отрасль является базовым сегментом российской экономики, которая закладывает основы долгосрочного и стабильного развития и оказывает существенное влияние на экономику страны в целом. Нефтехимическая промышленность включает производства

синтетических материалов и изделий на основе продуктов переработки нефти и природного газа. Общность сырьевой базы, единство и последовательность химических процессов, с одной стороны, и многообразие химических соединений и процессов, используемых для получения различных видов продукции, — с другой, формирует специфические особенности конкретных производств.

Нефтехимическая отрасль занимает одно из основных мест по потенциальной опасности для здоровья человека [2]. Рост количества предприятий отрасли может привести к значительному увеличению числа трудоспособного населения, работающего на его производствах и подвергающегося вредным воздействиям со стороны производственных факторов, которые при определенной длительности и интенсивности воздействия способны вызывать патологические изменения вплоть до развития нозологических форм профессиональных заболеваний [3].

Цель работы — на основе комплексных клинико-гигиенических исследований провести оценку профессионального риска нарушений состояния здоровья у работающих в производстве синтетических смол.

Для корреспонденции:

Тимашева Гульнара Вильевна, кандидат биологических наук, доцент, старший научный сотрудник отдела токсикологии Уфимского научно-исследовательского института медицины труда и экологии человека

Адрес: 450074, Уфа, ул. Степана Кувыкина, 94

Телефон: (347) 255-1948

E-mail: gulnara-vt@rambler.ru

Статья поступила 11.11.2013, принята к печати 20.02.2014

Материалы и методы

Комплексные клинико-гигиенические исследования проведены на предприятии по производству синтетических смол (ОАО «Нижнекамскнефтехим», Республика Татарстан), взятом в качестве модельного в нефтехимическом комплексе. Работа проводилась по заранее составленному протоколу с применением современных гигиенических, клинических, функциональных и статистических методов исследования.

Оценка условий труда проводилась согласно Р 2.2.2006-05 [4] при участии сотрудников отдела гигиены и физиологии труда ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека» и включала изучение загрязнения воздуха рабочей зоны вредными веществами, определение уровней производственного шума, вибрации, параметров микроклимата, освещенности, тяжести и напряженности трудового процесса.

Изучение состояния здоровья осуществлено в рамках углубленных периодических медицинских осмотров работников в соответствии с приказами Минздравмедпрома РФ от 14.03.1996 № 90 и Минздравсоцразвития России от 16.08.2004 № 83 при участии сотрудников клиники института. Диагностика заболеваний осуществлена в соответствии с Международной классификацией болезней 10-го пересмотра (ВОЗ, 1995 г.). При медицинском обследовании работников использовался широкий спектр функциональных методов.

Оценка степени связи нарушений здоровья с работой установлена на основании расчета относительного риска (RR) и этиологической доли (EF, %) в соответствии с методическими рекомендациями «Методология выявления профессиональных заболеваний и заболеваний, связанных с условиями труда» (Измеров Н.Ф., Денисов Э.И., 2010). Статистическую обработку данных выполняли с использованием пакета прикладных программ статистического анализа «Statistica for Windows».

Результаты исследований и их обсуждение

Гигиеническая оценка условий труда. Современное производство синтетических смол характеризуется непрерывностью, замкнутостью технологического цикла, дистанционным управлением, использованием в основном герметичных высокопроизводительных типов оборудова-

ния, применением унифицированных строительных конструкций.

Основной вредный фактор рабочей среды в изученном производстве — химический фактор, который был представлен вредными веществами 2–3 класса опасности. На работников воздействовали ароматические углеводороды и оксиды олефинов.

Основными профессиями в производстве были аппаратчики технологических установок и слесари по ремонту контрольно-измерительных приборов и автоматики (КИП и А). Аппаратчик осуществлял контроль за работой оборудования с пультов управления из помещений операторных, обеспечивал подготовку оборудования к ремонту, выполнял ряд газоопасных работ и др. При работе аппаратчиков в помещениях операторных концентрации вредных веществ не превышали предельно допустимых концентраций (ПДК).

При проведении газоопасных работ, связанных с разгерметизацией оборудования (отбор технологических проб, чистка фильтров, насосов и др.), максимальные концентрации отдельных вредных веществ достигали 10 ПДК (табл. 1).

Условия труда для аппаратчиков процесса по среднесменным концентрациям соответствовали классу 3.1, по максимальным разовым — классу 3.3. Коэффициент суммации ароматических углеводородов и оксидов олефинов составил 3,30 и 3,74 соответственно.

В целом по уровню химического фактора условия труда соответствовали классу 3.3 с учетом наиболее высокой степени вредности. Воздействие остальных факторов рабочей среды и трудового процесса на аппаратчиков соответствовало классу 2.0 за исключением производственного шума, уровни которого превышали ПДУ в пределах класса 3.1. Общая оценка условий труда аппаратчиков в производстве синтетических смол соответствовала классу 3.3 (табл. 2).

В обязанность слесарей КИП и А входило обслуживание приборов, расположенных в помещениях операторных непосредственно у технологического оборудования. Слесари КИП и А большую часть времени смены подвергались влиянию производственных факторов на уровнях значительно ниже допустимых величин при общей оценке условий труда в пределах класса 2.0.

Оценка состояния здоровья работников. Выявленные различия в условиях труда работников смол были по-

Таблица 1. Содержание вредных веществ в воздухе рабочей зоны на основных этапах производства синтетических смол

Вещество	Класс опасности	ПДК*, мг/м ³	Максимальные разовые концентрации, мг/м ³	Среднесменные концентрации, мг/м ³	Коэффициент суммации
Оксид этилена	2	3/1	15,3	1,95	3,30
Оксид пропилена	2	1	10,9	1,35	
Бензол	2	15/5	46,5	6,44	3,74
Этилбензол	3	150/50	435,0	54,61	
Этилбензол (стирол)	3	30/10	93,0	13,58	
Класс условий труда			3.3	3.1	3.2

* — в числителе представлена максимальная разовая ПДК вещества, в знаменателе — среднесменная ПДК

Профессия	Класс условий труда по интенсивности воздействия факторов					Общая оценка
	химический	шум (Лэкв)	микроклимат	тяжесть труда	напряженность труда	
Аппаратчик	3.3	3.2	2.0	2.0	3.1	3.3
Слесарь КИП и А	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0	2.0

Болезни	Основная группа, $n = 315$	Группа сравнения, $n = 168$
Болезни системы кровообращения	$51,4 \pm 2,8^{***}$	$29,8 \pm 3,5$
Гипертоническая болезнь	$31,1 \pm 2,6^{**}$	$18,5 \pm 3,0$
Цереброваскулярные заболевания	$18,1 \pm 2,2^*$	$10,2 \pm 2,3$
Болезни органов пищеварения	$34,2 \pm 2,7^{***}$	$13,2 \pm 2,7$
Хронический гастрит	$13,4 \pm 1,9^*$	$4,8 \pm 1,7$
Хронический холецистит и ДЖВП	$12,8 \pm 1,9^*$	$3,6 \pm 1,4$
Болезни костно-мышечной системы	$29,5 \pm 2,6$	$23,8 \pm 3,3$
Болезни верхних дыхательных путей	$12,0 \pm 1,8^*$	$4,8 \pm 1,7$
Болезни нижних дыхательных путей	$7,6 \pm 1,5$	$4,8 \pm 1,7$
Синдром РВНС по гипертоническому типу	$19,7 \pm 2,2^*$	$10,1 \pm 2,0$
Болезни уха и сосцевидного отростка	$12,7 \pm 1,9^{**}$	$5,4 \pm 1,7$

** , ** , *** – различия с группой сравнения достоверны при $p < 0,05$, $p < 0,01$ и $p < 0,001$ соответственно*

Нарушения здоровья	RR	EF, %	Степень связи с работой
Синдром РВНС по гипертоническому типу	2,0	49	Средняя
Болезни верхних дыхательных путей	2,5	60	Высокая
Хронический холецистит, ДЖВП	3,6	72	Очень высокая
Хронический гастрит	2,8	64	Высокая

ложены в основу их группировки при анализе состояния здоровья. Основную группу составили 315 аппаратчиков производства синтетических смол. Группу сравнения составили 168 слесарей КИП и А. Все обследованные работники были мужского пола. Средний возраст аппаратчиков составил $37,4 \pm 1,3$ года при стаже работы $13,7 \pm 1,6$ года, слесарей КИП и А — $38,8 \pm 0,7$ и $14,6 \pm 0,7$ года соответственно.

Среди выявленных общих хронических неинфекционных заболеваний в исследуемой группе работников ведущее место занимали болезни органов кровообращения, пищеварения, дыхания, нервной системы, уха и сосцевидного отростка, которые у аппаратчиков встречались достоверно чаще, чем у слесарей КИП и А (табл. 3). Заболевания костно-мышечной системы встречались с одинаковой частотой в обследованных группах.

Выявлена сильная прямая корреляционная связь распространенности хронического холецистита и дискинезии желчевыводящих путей (ДЖВП) ($r = 0,94$), а также болезней системы кровообращения ($r = 0,88$) со стажем работы у аппаратчиков. Следует отметить, что у лиц основной группы относительно молодого возраста при стаже работы до 10 лет отмечено раннее формирование синдрома расстройства вегетативной нервной системы (РВНС) по гипертоническому типу, патологии верхних дыхательных путей, хронического гастрита ($p < 0,05$).

Анализ возможной связи нарушений здоровья с работой показал, что вредное воздействие условий труда на предприятии химического комплекса играет определяющую роль в формировании общесоматической патологии у аппаратчиков производства.

Выводы

1. Основным вредным фактором рабочей среды и трудового процесса на предприятии химического комплекса является загрязнение воздуха рабочей зоны химическими веществами 2–3 класса опасности.

2. С учетом максимальных разовых концентраций и коэффициентов суммации вредных веществ однонаправленного действия условия труда работников соответствуют классам условий труда от допустимого (класс 2) до вредного (класс 3.3).

3. В зависимости от общей оценки условий труда работники предприятия химического комплекса разделены на 2 группы: аппаратчики, на которых воздействуют вредные условия труда (класс 3.3), и слесари КИП и А, работающие в допустимых условиях (класс 2).

4. Самыми распространенными классами хронических неинфекционных заболеваний у основной группы работников производства синтетических смол были болезни системы кровообращения (51,4%), органов пищеварения (34,2%), костно-мышечной системы (29,5%), органов дыхания (19,6%), нервной системы (19,7%).

5. Выявлены статистические признаки связи заболевания с работой в интервале от средней до высокой степени обусловленности для хронического гастрита, хронического холецистита и дискинезии желчевыводящих путей, синдрома расстройства вегетативной нервной системы по гипертоническому типу и болезней верхних дыхательных путей у аппаратчиков, что позволяет отнести указанные нарушения здоровья к заболеваниям, связанным с условиями труда.

Литература

1. Измеров Н.Ф. Концепция долгосрочного социально-экономического развития Российской Федерации на период до 2020 г. («стратегия 2020») и сохранение здоровья работающего населения России // Мед. труда и пром. экол. 2012. №3. С.1–8.
2. Карамова Л.М., Каримова Л.К., Башарова Г.Р. Профессиональный риск для здоровья работников химических и нефтехимических производств: Монография. Уфа: ООО ПКП «Дар», 2006. 306 с.
3. Каримова Л.К., Гимранова Г.Г., Зотова Т.М. и др. Профессиональные риски здоровья работающих при переработке нефти // Мед. труда и пром. экол. 2009. №11. С.9–12.
4. Руководство по гигиенической оценке факторов рабочей среды и трудового процесса. Критерии и классификация условий труда Р 2.2.2006-05 // Бюл. норматив. и метод. докум. Госсанэпиднадзора. 2005. №3 (21). С.3–144.

Информация об авторах:

Бадамшина Гульнара Галимьяновна, кандидат медицинских наук, заведующая клинико-биохимической лабораторией Уфимского НИИ медицины труда и экологии человека
Адрес: 450074, Уфа, ул. Степана Кувыкина, 94
Телефон: (347) 255-1948
E-mail: gulyabakirova@yandex.ru

Каримова Лилия Казымовна, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник отдела гигиены и физиологии труда Уфимского НИИ медицины труда и экологии человека
Адрес: 450106, Уфа, ул. Степана Кувыкина, 94
Телефон: (374) 255-5721
E-mail: iao_karimova@rambler.ru

Бакиров Ахат Бариевич, доктор медицинских наук, профессор, директор Уфимского НИИ медицины труда и экологии человека
Адрес: 450106, Уфа, ул. Степана Кувыкина, 94
Телефон: (347) 255-5684
E-mail: bakirov@anrb.ru

Учебники и монографии

Шишков И.З. История философии. Реконструкция истории европейской философии через призму теории познания. М.: Либроком, 2013. 848 с.

В учебном пособии осуществлена реконструкция истории философии от античности до наших дней. При этом автор попытался связать в единую цепочку многочисленные звенья историко-философского процесса и представить историческое развитие философии как сочетание прерывности и непрерывности, новаций и традиций. В работе показано, что такого рода преемственность имеет место не только в историческом наследовании философских идей и принципов, но и в проблемном поле философствования. Такой сквозной проблемой всего историко-философского процесса был и остается вопрос: что значит быть, точнее, как возможно мыслить то, что есть. Вся история философии и есть, собственно, история того, как мыслится, осознается бытие, – история альтернативных ответов на данный вопрос. Именно сквозь призму этого вопроса и преломляется непрерывная линия историко-философского процесса. Учебное пособие предназначено для студентов всех специальностей, преподавателей, а также для всех, кто интересуется панорамой историко-философской мысли.

Правила оформления статей при направлении в редакцию

Журнал «Вестник РГМУ» публикует оригинальные исследования, обзорные и общетеоретические статьи по актуальным проблемам медицины и биологии.

При направлении статьи в журнал редакционная коллегия просит авторов соблюдать следующие правила.

1. Редакция принимает на рассмотрение рукописи в напечатанном виде (2 экземпляра) в сопровождении электронных носителей. Рукопись должна иметь визу заведующего кафедрой или руководителя подразделения (на первой странице, в верхнем левом углу) и направление от учреждения (с печатью), где работают авторы. Рукопись должна быть подписана всеми авторами в конце текста (ФИО автора — подпись). В конце статьи приводится информация о каждом авторе, которая включает: фамилию, имя, отчество полностью, ученую степень, ученое звание, должность, рабочий адрес с почтовым индексом, служебный телефон, адрес электронной почты. Следует обозначить автора для корреспонденции.

2. Статья печатается на компьютере через 1,5 интервала, шрифтом Times, кеглем 12, на листе формата А4. Поля: верхнее и нижнее — 2,5 см, левое — 3,0 см, правое — 1,5 см. Иллюстративный материал в виде рисунков, таблиц, фотографий, рентгенограмм следует размещать после текста статьи. Фотографии должны быть контрастными, рисунки четкими. Электронный вариант статьи должен быть идентичным предоставляемой в редакцию распечатке статьи. Все страницы должны быть пронумерованы. На электронном носителе все фотографии, графики и диаграммы предоставляются также отдельно от текста, в оригинальных форматах. Графики и диаграммы выполняются в серых и черно-белых тонах.

3. Общий объем оригинальной статьи, включая иллюстрации, список литературы, резюме, информацию об авторах, не должен превышать 10 страниц. Число иллюстраций на одну статью — не более 5. Общий объем обзора литературы не должен превышать 12 страниц.

4. В начале первой страницы статьи пишутся: 1) название статьи, 2) инициалы и фамилии авторов, 3) полное наименование учреждения, затем наименование кафедры или лаборатории (в скобках указать ученое звание, инициалы и фамилию руководителя). Если авторы статьи из разных учреждений, то следует указать (надстрочными цифрами), в каком учреждении работает каждый из авторов. Структура оригинальной статьи: введение, пациенты (материалы) и методы, результаты исследования и их обсуждение, выводы (заключение), литература, информация об авторах, резюме с ключевыми словами (см. п. 7).

5. В тексте сокращения и аббревиатуры должны быть расшифрованы при первом упоминании. Не допускается использование сокращений в названии работы, а также употребление необщепринятых сокращений. Номера библиографических ссылок даются в тексте в квадратных скобках в соответствии с пристатейным списком литературы. Единицы измерения даются в системе СИ. При статистической обработке данных необходимо указывать использованные методы и приводить наименование показателей. Повторение одних и тех же данных в тексте, таблицах и рисунках не допускается.

6. Список литературы приводится в порядке цитирования автором (не по алфавиту!). Число источников в оригинальной статье — не более 15, в обзоре — не более 35. В списке литературы

указывается: при цитировании книги — фамилии и инициалы авторов, полное название книги, место, издательство и год издания, количество страниц в книге или ссылка на конкретные страницы; при цитировании статьи — фамилии и инициалы авторов (если авторов пять и более, то указывают первых трех авторов и ставят «и др.» или «et al.» соответственно для русского или английского языка), полное название статьи, сокращенное название журнала (использовать сокращения, принятые в **Index Medicus** или **Medline**), год, том, номер выпуска, номера страниц (первая и последняя). Примеры: 1. Насонова В.А. Ревматология. М.: Медицина, 2008. 457 с. 2. Ярилин А.А. Иммунология. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2010. С.603–605. 3. Кораблев А.В. Гемоциркуляторное русло: формирование в онтогенезе, патология при недоношенности: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. М., 1994. 23 с. 4. Анисимов В.Н. Лечение разрыва надостной мышцы // Ортопед., травматол. и протезир. 1988. №8. С.30–34. 5. Гельфанд Б.Р., Винницкий Л.И., Гриненко Т.Ф. Унилатеральная субарахноидальная блокада бупивакаина гидрохлоридом в хирургии вен нижних конечностей // Материалы Конгресса анестезиологов и реаниматологов Центрального федерального округа. М., 2003. С.75. Правила оформления ссылок на электронные ресурсы размещены на сайте РНИМУ им. Н.И.Пирогова в разделе «Вестник РГМУ». Допускаются ссылки на авторефераты диссертаций, но не на сами диссертации, поскольку последние являются рукописями.

7. Статья должна включать резюме с ключевыми словами (объемом до 900 знаков без пробелов) на русском и английском языках. Структура английского резюме: название статьи, инициалы и фамилии авторов, полное наименование учреждения, наименование кафедры или лаборатории (в скобках указать ученое звание, инициалы и фамилию руководителя), текст резюме, ключевые слова. Если авторы статьи из разных учреждений, то следует указать (надстрочными цифрами), в каком учреждении работает каждый из авторов. Текст резюме должен содержать краткое указание цели исследования, использованных материалов и методов, основных полученных результатов и выводов. Число ключевых слов и словосочетаний — не более 7.

8. Статья должна быть тщательно проверена автором. Все названия, химические формулы, дозировки, цифровые данные в таблицах и на рисунках, размерности лабораторных и клинических показателей должны быть выверены.

9. Журнал является рецензируемым изданием. К статье должны прилагаться внешняя и внутренняя рецензии. В рецензии указываются ученое звание и должность рецензента. Подпись рецензента должна быть заверена. Каждая рецензия должна быть представлена в двух экземплярах.

10. Отклоненные рукописи авторам не возвращаются. Если статья перерабатывалась автором в процессе подготовки ее к изданию, датой поступления считается день поступления окончательного текста.

11. Плата с аспирантов за публикацию статей не взимается.

12. Не допускается направление статей, ранее опубликованных или направленных в другие журналы или сборники. Рукописи, оформленные не в соответствии с правилами, возвращаются без рассмотрения.

Дополнительная информация о журнале размещена на сайте РНИМУ им. Н.И.Пирогова www.rsmu.ru