

# 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	В.И.Лапочкин	Г.В.Порядин
И.В.Бабенкова (ответственный секретарь)	А.В.Матюшкин	Н.Г.Потешкина
Ю.В.Балякин	С.Д.Михайлова	С.В.Свиридов
М.Р.Богомильский	Ю.Г.Мухина	А.В.Скороглядов
Л.В.Ганковская	А.Г.Пашина	Н.Н.Снежкова
Ю.Э.Доброхотова	С.Б.Петерсон	Е.В.Старых
Л.И.Ильенко	Н.В.Полунина	В.А.Стаханов
О.А.Кисляк	Б.А.Поляев	И.З.Шишков

---

## Редакционный совет

Е.И.Гусев	Ю.К.Скрипкин
И.И.Затевахин	В.И.Стародубов
Ю.Ф.Исаков	Г.И.Сторожаков
Ю.М.Лопухин	А.И.Федин
Г.М.Савельева	

---

## 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

- Ближайшие и отдаленные исходы ишемической болезни сердца в зависимости от молекулярно-генетических характеристик пациентов  
*И.А.Мелентьев, А.А.Вершинин, А.С.Мелентьев, Н.А.Малыгина, И.В.Костомарова* . . . . . **5**

- Характеристика субпопуляционного состава Т-лимфоцитов у жителей Московского региона в возрасте старше 80 лет  
*И.В.Мирошниченко, В.Н.Стопникова, Т.В.Левашова, Е.А.Сорокина, С.Г.Топорова* . . . . . **12**

- Отдаленные результаты лечения подростков и молодежи с лимфомой Ходжкина по модифицированному педиатрическому протоколу DAL-HD-90  
*Е.Г.Аршанская, С.В.Сёмочкин, В.М.Сотников, В.Л.Иванова* . . . . . **16**

- Дисбаланс антиэндотоксинового иммунитета у больных бронхиальной астмой  
*В.А.Белоглазов, Ю.О.Попенко* . . . . . **21**

---

## Хирургия

- Способы моделирования острого панкреатита (обзор литературы)  
*М.А.Агапов, В.А.Горский, В.А.Петров, М.Д.Поливода, А.Ю.Кравченко, А.И.Баттаев* . . . . . **25**

---

## Анестезиология

- Эффективность сочетанной анестезии при выполнении обширных лапароскопических операций на органах желудочно-кишечного тракта  
*С.В.Свиридов, А.А.Малышев* . . . . . **30**

---

## Травматология и ортопедия

- Применение внутрисуставных инъекций в лечении остеоартрозов и перспективы использования обогащенной тромбоцитами плазмы (обзор литературы)  
*Б.В.Хонинов, О.Н.Сергунин, П.А.Скороглядов, А.А.Бегалиев* . . . . . **36**

---

## Гинекология

- Этиология, патогенез и лечение склерозирующего лишая вульвы (обзор литературы)  
*Т.П.Крапошина, А.Ю.Филюшкина, М.Г.Антонян* . . . . . **41**

---

## Медико-биологические проблемы

- Микроциркуляторное русло миокарда при некоронарогенных заболеваниях сердца  
*В.Г.Цыпленкова, В.Б.Суслов, А.П.Эттингер* . . . . . **46**

- Цитологические особенности респираторных отделов легких при хроническом воспалении  
*Г.Г.Кругликов, Л.М.Лихачева, В.Б.Суслов, Н.Б.Странжа, А.П.Эттингер* . . . . . **52**

- Фотосенсибилизированное псораленом повреждение мембран эритроцитов. Влияние двухвалентных катионов и интенсивности УФА-излучения (обзор литературы)  
*Е.П.Лысенко, А.Я.Потапенко* . . . . . **58**

---

## Памяти коллеги

- Памяти Светланы Александровны Чернякевич . . . . . **65**

- Правила оформления статей при направлении в редакцию** . . . . . **66**
-

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

- Immediate and Long-Term Outcomes of Coronary Heart Disease, Depending on the Molecular Genetic Characteristics of Patients  
*I.A.Melentyev, A.A.Vershinin, A.S.Melentyev, N.A.Malygina, I.V.Kostomarova.* . . . . . **5**
- Characteristics of T-Lymphocyte Sub-Types in the Moscow Region Residents over the Age of 80 Years  
*I.V.Miroshnichenko, V.N.Stolpnikova, T.V.Levashova, E.A.Sorokina, S.G.Toporova.* . . . . . **12**
- Long-Term Results of Treatment of Adolescents and Young Adults with Hodgkin's Lymphoma according to the Modified Pediatric Protocol DAL-HD-90  
*E.G.Arshanskaya, S.V.Semochkin, V.M.Sotnikov, V.L.Ivanova.* . . . . . **16**
- Imbalance of Anti-Endotoxin Immunity in Patients with Bronchial Asthma  
*V.A.Beloglazov, Yu.O.Popenko.* . . . . . **21**

---

## Surgery

- Modeling Techniques of Acute Pancreatitis: A Literature Review  
*M.A.Agapov, V.A.Gorskiy, V.A.Petrov, M.D.Polivoda, A.Yu.Kravchenko, A.I.Battaev.* . . . . . **25**

---

## Anesthesiology

- Efficiency of Combined Anesthesia in Extensive Laparoscopic Surgery of Gastrointestinal Tract  
*S.V.Sviridov, A.A.Malyshv.* . . . . . **30**

---

## Traumatology and Orthopedics

- Intra-Articular Injections Use in the Osteoarthritis Treatment and Platelet-Rich Plasma Prospects: A Literature Review  
*B.V.Khoninov, O.N.Sergunin, P.A.Skoroglyadov, A.A.Begaliev.* . . . . . **36**

---

## Gynecology

- Etiology, Pathogenesis and Treatment of Lichen Sclerosus of the Vulvae: A Literature Review  
*T.P.Kraposhina, A.Yu.Filyushkina, M.G.Antonyan.* . . . . . **41**

---

## Medical and Biological Problems

- Microcirculatory Bed of Myocardium in Non-Coronarogenic Heart Diseases  
*V.G.Tsyplenkova, V.B.Suslov, A.P.Oettinger.* . . . . . **46**
- Cytologic Features of Respiratory Portions of the Lungs in Chronic Inflammation  
*G.G.Kruglikov, L.M.Likhatcheva, V.B.Suslov, N.B.Stranzha, A.P.Oettinger.* . . . . . **52**
- Psoralen Photosensitized Damage of Erythrocyte Membranes. Effects of Bivalent Cations and Fluence Rate of UVA-Irradiation: A Literature Review  
*E.P.Lysenko, A.Ya.Potapenko.* . . . . . **58**

---

## Obituary

- In Memory of Svetlana Aleksandrovna Chernyakevich. . . . . **65**

- Instructions for Authors.** . . . . . **66**

# Ближайшие и отдаленные исходы ишемической болезни сердца в зависимости от молекулярно-генетических характеристик пациентов

И.А.Мелентьев<sup>1</sup>, А.А.Вершинин<sup>1</sup>, А.С.Мелентьев<sup>1</sup>, Н.А.Мальгина<sup>2</sup>, И.В.Костомарова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, кафедра пропедевтики внутренних болезней и лучевой диагностики педиатрического факультета, Москва (зав. кафедрой — проф. А.С.Мелентьев);

<sup>2</sup>Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, Российский геронтологический научно-клинический центр, лаборатория клинической генетики, Москва (зав. лабораторией — к.м.н. И.В.Костомарова)

В зависимости от инсерционно-делеционного полиморфизма гена ангиотензинпревращающего фермента и HindIII ДНК-полиморфизма гена липопротеинлипазы изучены особенности клинического течения ИБС и пятилетняя выживаемость пациентов после обострения этого заболевания. Установлено, что наиболее важными генетическими предикторами ближайших и отдаленных неблагоприятных исходов острых форм ИБС являются генотип H<sup>+</sup>H<sup>+</sup> гена липопротеинлипазы, генотип DD гена ангиотензинпревращающего фермента и сочетание этих генотипов.

Ключевые слова: полиморфизм гена липопротеинлипазы, полиморфизм гена ангиотензинпревращающего фермента, ишемическая болезнь сердца, нестабильная стенокардия, инфаркт миокарда

## Immediate and Long-Term Outcomes of Coronary Heart Disease, Depending on the Molecular Genetic Characteristics of Patients

I.A.Melentyev<sup>1</sup>, A.A.Vershinin<sup>1</sup>, A.S.Melentyev<sup>1</sup>, N.A.Malygina<sup>2</sup>, I.V.Kostomarov<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Pirogov Russian National Research Medical University, Department of Propaedeutics of Internal Diseases and Radial Diagnosis of Pediatric Faculty, Moscow (Head of the Department — Prof. A.S.Melentyev);

<sup>2</sup>Pirogov Russian National Research Medical University, Russian Gerontological Scientific Clinical Center, Laboratory of Clinical Genetics, Moscow (Head of the Laboratory — PhD I.V.Kostomarov)

Depending on the insertion-deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme and HindIII DNA polymorphism of lipoprotein lipase gene there were studied the clinical course of coronary heart disease and five-year survival of patients after an exacerbation of the disease. It was found that the most important genetic predictors of short- and long-term adverse outcomes of acute ischemic heart disease are the genotype H<sup>+</sup>H<sup>+</sup> of lipoprotein lipase gene, DD genotype of the angiotensin-converting enzyme gene and the combination of these genotypes.

Key words: polymorphism of the lipoprotein lipase gene, polymorphism of angiotensin converting enzyme gene, coronary heart disease, unstable angina pectoris, myocardial infarction

### Для корреспонденции:

Мелентьев Илья Александрович, кандидат медицинских наук, доцент кафедры пропедевтики внутренних болезней и лучевой диагностики педиатрического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова

Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1

Телефон: (495) 952-7397

E-mail: golybev77@mail.ru

Статья поступила 26.05.2014, принята к печати 17.09.2014

Генетическое тестирование служит методическим базисом нового научного направления — персонализированной предиктивной медицины, имеющей профилактическую направленность и предполагающей детальный учет наследственной обусловленности мультифакториальных заболеваний, на основе которого может быть реализован индивидуализированный терапевтический подход к больным [1]. В связи с особой важностью этой

проблемы для неотложной кардиологии нами были проведены молекулярно-генетические исследования на базе кардиологических отделений РГНКЦ и ГКБ № 4 г. Москвы [2–5].

Одним из объектов нашего изучения был двуаллельный I/D (insertion/deletion) полиморфизм гена ангиотензинпревращающего фермента (АПФ), идентификация вариантов которого основана на наличии (аллель I) или отсутствии (аллель D) в интроне 16 гена АПФ вставки из 287 пар нуклеотидов (хромосома 17q23). Наряду с геном АПФ другим объектом изучения послужил двуаллельный HindIII ДНК-полиморфизм гена липопротеинлипазы (ЛПЛ), связанный с наличием (H<sup>+</sup>) или отсутствием (H<sup>-</sup>) сайта рестрикции для рестриктазы HindIII в интроне 8 (хромосома 8p22).

Полученные нами данные, касающиеся различных ассоциаций и механизмов влияния этих полиморфизмов на патогенез коронарной недостаточности, и анализ литературных источников, посвященных проблемам генетической кардиологии, позволили наметить возможные пути дальнейшего исследовательского поиска. Например, до сих пор неизвестно, существует ли связь между тяжестью клинических проявлений ишемической болезни сердца, определяющих неблагоприятный ближайший и отдаленный прогнозы пациентов, и носительством генотипов, считающихся наследственными факторами риска возникновения этого заболевания. Для ответа на столь актуальный вопрос вторичной профилактики сердечно-сосудистых осложнений мы изучили распределение у больных ИБС генотипов DD, ID и II гена АПФ и генотипов H<sup>+</sup>H<sup>+</sup>, H<sup>+</sup>H<sup>-</sup> и H<sup>-</sup>H<sup>-</sup>, которыми представлен HindIII ДНК-полиморфизм гена ЛПЛ.

Цель исследования — оценить зависимость ближайших и отдаленных исходов ишемической болезни сердца от генетических характеристик больных.

### Пациенты и методы

Молекулярно-генетический анализ образцов крови 185 мужчин (средний возраст — 57,15 ± 7,42 года), госпитализированных по скорой помощи с подозрением на возможный инфаркт миокарда (ИМ) в блок кардиореанимации, осуществляли в лаборатории клинической генетики РГНКЦ по ранее описанным методикам [3, 6, 7]. В ходе клинико-инструментального и лабораторного обследования диагноз «инфаркт миокарда» был подтвержден у 131 больного. Инфаркт миокарда, осложненный развитием тяжелых нарушений ритма и проводимости сердца, отеком легких, кардиогенным шоком, развитием острой аневризмы левого желудочка или ранней постинфарктной стенокардией (ИМ<sub>осл</sub>), наблюдали у 75 больных, имевших одно или несколько из данных осложнений. У 56 больных ИМ протекал без осложнений (ИМ<sub>неосл</sub>), а у 54 больных после исключения ИМ был установлен диагноз «нестабильная стенокардия» (НС). Все пациенты получали стандартную терапию дезагрегантами, нитратами, бета-адреноблокаторами, ингибиторами АПФ и продолжали рекомендованное лечение на постгоспитальном этапе.

С 2005 г. проводили ежегодный контроль состояния всех выписанных из стационара генотипированных пациентов для осуществления генотипически дифференцированного анализа отдаленных исходов заболевания и выживаемости больных. Эта задача была поставлена в связи с заключением В.С.Баранова (2009), что не поперечные, а только продольные многолетние наблюдения могут способствовать преодолению многочисленных барьеров на пути внедрения в практику генетического тестирования наследственной предрасположенности к таким тяжелым заболеваниям, как ИБС. Призывая к проведению лонгитюдных проспективных исследований, автор отмечал, что «к сожалению, объективные трудности организации, сложности оценки отдаленных результатов существенно затрудняют их проведение. Поэтому солидные проспективные исследования результатов генетического тестирования пока отсутствуют» [1]. Стремясь, хотя бы отчасти, восполнить этот пробел, мы провели пятилетнее исследование по проверке гипотезы о зависимости как ближайших исходов острого коронарного синдрома, так и отдаленных исходов ИБС от генетических характеристик пациентов.

Метод балльных оценок [1] изучаемых генотипов применяли для определения ген-генных взаимодействий и возможных связей аллелей, предрасполагающих к развитию ИБС, с выраженностью традиционных факторов риска этого заболевания. В наблюдаемой выборке артериальная гипертония была у 57 (30,81%) человек, повышенный уровень холестерина крови — у 50 (27,03%), индекс массы тела более 30 кг/м<sup>2</sup> — у 27 (14,59%), сахарный диабет 2 типа — у 8 (4,32%) больных, а сочетание двух и более факторов риска имели 36 (19,46%) обследованных.

При статистическом анализе полученных результатов использовали критерий  $\chi^2$  с поправкой Йетса, F-критерий Фишера и коэффициент ранговой корреляции Спирмена.

### Результаты исследования и их обсуждение

Пациенты с гомозиготным генотипом DD гена АПФ и пациенты с гомозиготным генотипом H<sup>+</sup>H<sup>+</sup> гена ЛПЛ достоверно ( $p < 0,05$ ) чаще переносили ИМ, тогда как у носителей гетерозиготного генотипа ID обострение ИБС достоверно ( $p < 0,05$ ) чаще протекало в форме НС (табл. 1). В группе больных ИМ носительство гомозиготного генотипа DD гена АПФ также оказывало прогностически неблагоприятное влияние (табл. 2).

Больные ИМ с генотипом DD гена АПФ достоверно чаще имели жизнеугрожающие осложнения в остром периоде заболевания, а больные с генотипом ID достоверно чаще переносили его без осложнений. Вероятность осложнений имела недостоверную тенденцию к повышению у носителей генотипа H<sup>+</sup>H<sup>+</sup> гена ЛПЛ. Таким образом, в сравниваемых группах по мере нарастания тяжести соматических нарушений (НС–ИМ<sub>неосл</sub>–ИМ<sub>осл</sub>) выявлено увеличение частоты встречаемости носителей генотипа DD и снижение частоты встречаемости носителей генотипа ID и генотипа II гена АПФ. В этих же группах обнаружено увеличение частоты встречаемости носителей гено-

Таблица 1. Частота встречаемости носителей генотипов гена АПФ и гена ЛПЛ в группах больных нестабильной стенокардией и инфарктом миокарда

Исследуемые генотипы генов АПФ и ЛПЛ	Нестабильная стенокардия (n = 54)	Инфаркт миокарда (n = 131)
DD	14 (25,9%)	71 (54,20%)*
ID	29 (53,70%)	44 (33,59%)**
II	11 (20,37%)	16 (12,21%)
H <sup>+</sup> H <sup>+</sup>	20 (37,04%)	78 (59,54%)**
H <sup>+</sup> H <sup>-</sup>	28 (51,85%)	44 (33,59%)
H <sup>-</sup> H <sup>-</sup>	6 (11,11%)	9 (6,87%)

Здесь и в табл. 2–6 указана достоверность различия (p) сравниваемых групп по критерию  $\chi^2$  с поправкой Йетса на непрерывность; \* —  $p < 0,01$ ; \*\* —  $p < 0,05$  при сравнении с группой больных нестабильной стенокардией

Таблица 2. Частота встречаемости генотипов гена АПФ и гена ЛПЛ в группе больных инфарктом миокарда неосложненного и осложненного течения

Исследуемые генотипы генов АПФ и ЛПЛ	ИМ <sub>неосл</sub> (n = 56)	ИМ <sub>осл</sub> (n = 75)
DD	17 (30,36%)	54 (72,00%)*
ID	29 (51,79%)	15 (20,00%)**
II	10 (17,86%)	6 (8,00%)
H <sup>+</sup> H <sup>+</sup>	31 (55,36%)	47 (62,67%)
H <sup>+</sup> H <sup>-</sup>	19 (33,93%)	25 (33,33%)
H <sup>-</sup> H <sup>-</sup>	6 (10,71%)	3 (4,00%)

\* —  $p < 0,001$ ; \*\* —  $p < 0,01$  при сравнении с группой больных с ИМ<sub>неосл</sub>

типа H<sup>+</sup>H<sup>+</sup> гена ЛПЛ и снижение частоты встречаемости носителей генотипов H<sup>+</sup>H<sup>-</sup> и генотипа H<sup>-</sup>H<sup>-</sup> гена ЛПЛ. По методу балльных оценок, усредненный показатель влияния аллелей D гена АПФ и H<sup>+</sup> гена ЛПЛ был достоверно выше у больных ИМ, чем у больных ИС ( $1,94 \pm 0,06$  и  $1,58 \pm 0,10$  балла соответственно;  $p < 0,01$ ), и достоверно выше у больных ИМ<sub>осл</sub>, чем у больных ИМ<sub>неосл</sub> ( $1,88 \pm 0,07$  и  $1,36 \pm 0,08$  балла соответственно;  $p < 0,01$ ).

Тем самым у больных ИБС наиболее неблагоприятным в остром периоде болезни было сочетание носительства генотипа DD гена АПФ и генотипа H<sup>+</sup>H<sup>+</sup> гена ЛПЛ, выявленное у 52 больных. Это сочетание присутствовало в группе больных ИС у 6 (11,11%), а в группе больных ИМ — у 46 (35,11%) пациентов ( $p < 0,01$ ), встречаясь у 11 (19,64%) больных ИМ<sub>неосл</sub> и у 35 (46,67%) больных ИМ<sub>осл</sub> ( $p < 0,05$ ). Наиболее редким у обследованных пациентов было сочетание генотипа II гена АПФ и генотипа H<sup>-</sup>H<sup>-</sup> гена ЛПЛ. Тот факт, что это сочетание имело место лишь у 1 больного ИС и у 1 больного ИМ<sub>неосл</sub>, вероятно, может свидетельствовать о протективной роли аллеля I гена АПФ и аллеля H<sup>-</sup> гена ЛПЛ в отношении риска возникновения и неблагоприятного течения ИБС. К тому же влияние этих аллелей в совокупности, по методу балльных оценок, хотя и не обнаруживало связей с индексом массы тела, но имело достоверные отрицательные корреляции с уровнями систолического артериального давления ( $R = -0,25$ ;  $p < 0,001$ ), общего холестерина ( $R = -0,22$ ;  $p < 0,01$ ) и сахара в крови ( $R = -0,19$ ;  $p < 0,05$ ). Тем самым склонность к артериальной гипертензии, нарушениям холестерина и углеводного обмена как факторам риска

ИБС может быть следствием совокупного влияния аллелей D гена АПФ и H<sup>+</sup> гена ЛПЛ.

На 2-м этапе исследования — в отдаленный период от обострения ИБС, послужившего причиной госпитализации пациентов, — оценивали летальные исходы, их причины и сроки наступления смерти, а также новые нефатальные случаи обострения ИБС в форме ИС или ИМ. За 5 лет наблюдения из 185 больных умерли 50 (27,03%) человек. Причиной смерти у 43 (23,24%) больных был ИМ, а у 7 (3,78%) пациентов наступление смерти было связано с некоронарогенными причинами — с онкологической патологией у 6 больных и с несчастным случаем у 1 пациента.

Из 54 больных ИС умерли 6 (11,11%), а из 131 больных ИМ достоверно ( $p < 0,05$ ) больше — 44 (33,59%) человека. Различия по числу летальных исходов в группе из 56 больных ИМ<sub>неосл</sub> — 12 (21,43%) случаев смерти, и в группе из 75 больных ИМ<sub>осл</sub> — 32 (42,67%) случая, также достоверны ( $p < 0,05$ ). Закономерно меньшая пятилетняя выживаемость больных с изначально большей тяжестью нарушений соматического статуса была ассоциирована с повышенной частотой встречаемости носителей генотипа DD гена АПФ и носителей генотипа H<sup>+</sup>H<sup>+</sup> гена ЛПЛ (в группе больных ИМ по сравнению с ИС и в группе больных ИМ<sub>осл</sub> по сравнению с ИМ<sub>неосл</sub>). При этом из всех 50 умерших пациентов генотип DD гена АПФ имели 35 (70%), а генотип ID — 10 (20%) больных, что достоверно ( $p < 0,001$ ) реже.

Генотип II гена АПФ также встречался достоверно ( $p < 0,001$ ) реже — лишь у 5 (10%) скончавшихся боль-

ных, чем генотип DD. В целом носителей генотипов ID и II гена АПФ среди умерших было достоверно ( $p < 0,01$ ) меньше — 15 (30%), чем носителей генотипа DD. Полученные нами данные о существенном вкладе генотипа DD в танатогенез у коронарных больных соответствуют результатам генетического исследования, осуществленного на материале аутопсий пациентов, умерших от ИМ [8].

Судя по доступной нам литературе, исследования, посвященные влиянию HindIII ДНК-полиморфизма гена ЛПЛ на риск летальных исходов у больных ИБС при многолетнем наблюдении, еще не проводили, однако в ряде клиничко-генетических сопоставлений была обнаружена связь случаев развития ИМ с носительством генотипа  $H^+H^+$  гена ЛПЛ [9–11]. В нашей выборке в группе умерших пациентов встречаемость генотипа  $H^+H^+$  гена ЛПЛ, который имели 33 (66%) больных, была достоверно ( $p < 0,05$ ) большей по сравнению с встречаемостью генотипа  $H^+H^-$  — у 16 (32%) пациентов, и по сравнению с встречаемостью генотипа  $H^-H^-$  — лишь у 1 (2%;  $p < 0,001$ ) умершего больного. В целом носителей генотипов  $H^+H^-$  и  $H^-H^-$  гена ЛПЛ — 17 (34%) человек, среди умерших было достоверно ( $p < 0,05$ ) меньше, чем носителей генотипа  $H^+H^+$ .

Эти наблюдения позволили нам для дальнейшего анализа суммировать количество больных ИБС, имеющих аллель  $H^-$  гена ЛПЛ в гомозиготном или в гетерозиготном состоянии, и сравнить частоту встречаемости случаев смерти по коронарогенным и некоронарогенным причинам в группе больных с генотипом  $H^+H^+$  гена ЛПЛ и в объединенной группе больных с генотипами  $H^+H^-$  и  $H^-H^-$ . Таким же образом мы сопоставляли показатели летальности в зависимости от полиморфизма гена АПФ, суммировав количество больных с генотипами ID и II, для сравнения этой объединенной группы по случаям летальных исходов от разных причин с группой носителей генотипа DD гена АПФ. Тот факт, что прогноз благоприятных и неблагоприятных отдаленных исходов ИБС при пятилетнем наблюдении мо-

жет определяться не только клиническими, но и генетическими факторами демонстрирует табл. 3.

Повышение риска смерти вследствие нового фатального обострения ИБС и развития ИМ оказалось связанным с носительством генотипа  $H^+H^+$  гена ЛПЛ и в еще большей степени — с носительством генотипа DD гена АПФ. В группе пациентов, имеющих сочетание этих прогностически неблагоприятных генотипов, более половины умерли в течение 5 лет после выписки из кардиологических отделений (табл. 4).

Как следует из табл. 4, количество летальных исходов среди больных, имеющих сочетание генотипов DD гена АПФ и  $H^+H^+$  гена ЛПЛ, превышало суммарное число случаев смерти у больных с другими сочетаниями генотипов данных генов и к тому же было достоверно ( $p < 0,05$ ) большим по сравнению с числом случаев смерти как среди больных, имеющих сочетание генотипов DD и  $H^+H^-$ , так и среди больных со всеми вариантами гена ЛПЛ в сочетании с генотипом ID гена АПФ. По методу балльных оценок, усредненный показатель влияния аллелей D гена АПФ и  $H^+$  гена ЛПЛ был достоверно выше у скончавшихся пациентов, чем у выживших ( $1,79 \pm 0,07$  и  $1,40 \pm 0,27$  балла соответственно;  $p < 0,01$ ).

Важно отметить, что достоверных отличий по возрасту группы умерших больных с сочетанием генотипов DD гена АПФ и  $H^+H^+$  гена ЛПЛ от объединенной группы умерших носителей всех других генотипических сочетаний исследуемых нами генов не было ( $60,68 \pm 6,42$  и  $64,75 \pm 5,53$  года соответственно;  $p > 0,05$ ). Однако эти две группы больных, имевших и не имевших в геноме сочетания генотипов DD и  $H^+H^+$ , достоверно различались по сроку наступления летальных исходов в отдаленном периоде после выписки из стационара (табл. 5).

Наибольшая летальность больных с сочетанием генотипов DD и  $H^+H^+$  отмечена на протяжении первых двух лет, и вследствие этого после 3-го года наблюдения число летальных исходов стало достоверно преобладать в

Таблица 3. Число и причины летальных исходов в генотипически дифференцированных группах больных

Причины летальных исходов	Генотипы			
	DD ( $n = 85$ )	ID и II ( $n = 100$ )	$H^+H^+$ ( $n = 98$ )	$H^+H^-$ и $H^-H^-$ ( $n = 87$ )
ИМ	32 (37,65%)	11 (11%)*	30 (30,61%)	13 (14,94%)**
Некоронарная смертность	3 (3,53%)	4 (4%)	3 (3,06%)	4 (4,60%)
Всего	35 (41,18%)	15 (15%)*	33 (33,67%)	17 (19,54%)

\* —  $p < 0,01$  при сравнении с группой носителей генотипа DD гена АПФ;  
\*\* —  $p < 0,05$  при сравнении с группой носителей генотипа  $H^+H^+$  гена ЛПЛ

Таблица 4. Число летальных исходов в группах пациентов с различными сочетаниями генотипов гена АПФ и гена ЛПЛ

Причины летальных исходов	Сочетания генотипов								
	DD и $H^+H^+$ ( $n = 52$ )	DD и $H^+H^-$ ( $n = 27$ )	DD и $H^-H^-$ ( $n = 6$ )	ID и $H^+H^+$ ( $n = 36$ )	ID и $H^+H^-$ ( $n = 30$ )	ID и $H^-H^-$ ( $n = 7$ )	II и $H^+H^+$ ( $n = 10$ )	II и $H^+H^-$ ( $n = 15$ )	II и $H^-H^-$ ( $n = 2$ )
ИМ	25 (48,08%)	6 (22,22%)	1 (16,67%)	3 (8,33%)	3 (10,00%)	0 (0%)	2 (20%)	3 (20%)	0 (0%)
Некоронарная смертность	3 (5,77%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	4 (13,33%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Всего	28 (53,85%)	6 (22,22%)	1 (16,67%)	3 (8,33%)	7 (23,33%)	0 (0%)	2 (20%)	3 (20%)	0 (0%)



Таблица 5. Число летальных исходов среди больных с наличием и отсутствием сочетания генотипов DD гена АПФ и Н<sup>+</sup>Н<sup>+</sup> гена ЛПЛ в различные сроки от момента выписки

Срок наступления смерти от момента выписки	Больные с сочетанием генотипов DD и Н <sup>+</sup> Н <sup>+</sup> (n = 28)	Больные без сочетания генотипов DD и Н <sup>+</sup> Н <sup>+</sup> (n = 22)
1 год	11 (39,29%)	1 (4,55%)*
2 года	12 (42,86%)	2 (9,09%)*
3 года	4 (14,29%)	4 (18,18%)
4 года	1 (3,57%)	7 (31,82%)*
5 лет	0 (0%)	8 (36,36%)*

\* —  $p < 0,05$  при сравнении с группой больных с наличием сочетания генотипов DD и Н<sup>+</sup>Н<sup>+</sup>

Таблица 6. Число повторных госпитализаций у 135 выживших больных за 5 лет наблюдения в генотипически дифференцированных группах

Повторные госпитализации	DD (n = 50)	ID и II (n = 85)	Н <sup>+</sup> Н <sup>+</sup> (n = 65)	Н <sup>+</sup> Н <sup>-</sup> и Н <sup>-</sup> Н <sup>-</sup> (n = 70)	DD и Н <sup>+</sup> Н <sup>+</sup> (n = 24)	Отсутствие сочетания DD и Н <sup>+</sup> Н <sup>+</sup> (n = 111)
По поводу ИС	11 (22,00%)	7 (8,24%)	10 (15,38%)	8 (11,43%)	5 (20,83%)	13 (11,71%)
По поводу ИМ	15 (30,00%)	4* (4,71%)	17 (26,15%)	2# (2,86%)	13 (54,17%)	6^ (5,41%)
Всего	26 (52,00%)	11** (12,94%)	27 (41,54%)	10# (14,29%)	18 (75,00%)	19^ (17,12%)

\* —  $p < 0,05$ ; \*\* —  $p < 0,001$  при сравнении с группой носителей генотипа DD гена АПФ;  
# —  $p < 0,01$  при сравнении с группой носителей генотипа Н<sup>+</sup>Н<sup>+</sup> гена ЛПЛ;  
^ —  $p < 0,001$  при сравнении с группой больных с наличием сочетания генотипов DD и Н<sup>+</sup>Н<sup>+</sup>

группе пациентов, не имевших сочетания генотипов DD гена АПФ и Н<sup>+</sup>Н<sup>+</sup> гена ЛПЛ. К 5-му году наблюдения, который характеризовался пиком летальности в группе больных без сочетания генотипов DD и Н<sup>+</sup>Н<sup>+</sup>, из 52 носителей данного сочетания в живых оставались лишь 24. При этом его наличие оказывало негативное влияние на состояние выживших пациентов, несмотря на отсутствие новых случаев смерти. По методу балльных оценок, усредненный показатель эффектов, связанных с аллелями D гена АПФ и Н<sup>+</sup> гена ЛПЛ, был достоверно выше у больных с повторными обострениями ИБС, требовавшими госпитализации, чем у пациентов с относительно благоприятным стабильным течением болезни ( $1,97 \pm 0,08$  и  $1,32 \pm 0,09$  балла соответственно;  $p < 0,01$ ).

Частота повторных госпитализаций в различные стационары была достоверно большей у больных с генотипом DD гена АПФ и у больных с генотипом Н<sup>+</sup>Н<sup>+</sup> гена ЛПЛ в основном за счет госпитализаций по поводу развития ИМ (табл. 6). При сочетании этих генотипов риск возникновения новых случаев ИМ был максимально высок, однако вклад в эту закономерность влияний, связанных с носительством генотипов DD гена АПФ и генотипа Н<sup>+</sup>Н<sup>+</sup> гена ЛПЛ, по-видимому, различался. Данное предположение требует отдельного обсуждения.

С точки зрения классических представлений в кардиологии о факторах риска возникновения в популяции новых случаев ИМ более очевидна патогенная роль генотипа Н<sup>+</sup>Н<sup>+</sup> гена ЛПЛ, поскольку, как было установлено нами ранее, у больных ИБС с этим генотипом достоверно выше показатели среднего уровня общего холестерина и триглицеридов, чем у больных с генотипами Н<sup>+</sup>Н<sup>-</sup>

и Н<sup>-</sup>Н<sup>-</sup> [3]. Носительство генотипа DD гена АПФ, напротив, повышает вероятность ИБС и ИМ прежде всего у лиц, не подверженных ни гиперхолестеринемии, ни гипертриглицеридемии, ни табакокурению, ожирению или артериальной гипертензии, то есть у лиц с низким риском развития сердечно-сосудистых заболеваний и их осложнений по стандартным критериям [12].

Такие «нестандартные» пациенты не вовлечены в профилактические программы, нередко остаются без должного внимания врачей, которые могли бы своевременно проявить большую терапевтическую настороженность при условии внедрения в повседневную кардиологическую практику генетического тестирования по гену АПФ. Тем более что вопрос о природе патогенных влияний носительства генотипа DD этого гена и о внешне-средовых условиях, в которых такие влияния могут усиливаться или ослабляться, остается открытым. Его решению, по-видимому, может способствовать учет не только биологических, но и других «неклассических» факторов риска ИБС, в частности психологических, ассоциации которых с генотипом DD гена АПФ были обнаружены и представлены нами в предшествующих публикациях [5, 13].

Соотнесение данных генетического и психологического тестирования — это самостоятельная линия научных работ, которая в ближайшей перспективе, как мы прогнозируем, позволит осуществить синтез подходов молекулярно-предиктивной персонализированной медицины и клинической персоналогии [14]. В рамках данного направления медицинской психологии изучают, в частности, такие личностно-поведенческие predispositions к развитию ИБС, как повышенная враждебность, импуль-

сивность и стресс-коронарный поведенческий тип А. Как было установлено нами, они достоверно ассоциированы с носительством генотипа DD гена АПФ, что может объяснить его независимое от классических факторов риска ИБС влияние на вероятность возникновения этого заболевания и его неблагоприятных исходов [5, 13]. Другие исследователи также обнаружили, что носителей генотипа DD отличает от носителей генотипов ID и II гена АПФ повышенная стрессовая реактивность [15] и наибольшая предрасположенность к выраженным и длительным коронареспастическим реакциям в ответ на эмоциональный стресс [16]. К тому же осуществленный в 52 странах мира эпидемиологический проект INTERHEART позволил установить, что психосоциальный стресс является независимым фактором риска развития ИМ, предопределяющим возникновение этой самой грозной клинической формы ИБС в большей степени, чем «классические» биологические факторы риска [17].

В связи с этими важными находками возрастает роль исследований в русле поведенческой кардиологии (психокордиологии) [18], для которой, как можно думать, в будущем будут значимы достижения клинической психогенетики (генетики поведения), все больше ориентирующейся на применение молекулярно-генетических технологий. Так или иначе, но оценку полиморфных вариантов гена АПФ вместе с другими маркерами предрасположенности к развитию ИБС уже сегодня можно использовать для отработки принципов персонализированной молекулярно-предиктивной медицины, предназначение которой многие ученые видят в компенсации недостатков «медицины, основанной на доказательствах». Так, главный клинический фармаколог Минздрава России академик РАМН В.И.Петров (2013) отмечает, что даже самые качественно разработанные рекомендации на основе методов «доказательной медицины» в действительности применимы лишь к 80% пациентов и могут представлять опасность для 20% больных. В их число, по В.И.Петрову, входят наиболее тяжелые пациенты среднего возраста и весь гериатрический контингент [19].

Отсюда вытекает необходимость «персонализации медицины» путем вычленения из общей популяции именно тех конкретных больных, которым тот или иной метод диагностики и лечения принесет наибольшую пользу [20]. Полученные нами данные позволяют разделить эту позицию, которая означает возрождение традиционной для отечественной школы интернистов гиппократовской установки на индивидуализированный подход к пациенту — «лечить не болезнь, а больного».

### Выводы

1. Молекулярно-генетические методы из арсенала средств предиктивной персонализированной медицины могут использоваться для прогнозирования особенностей течения ИБС на стационарном этапе и в последующие 5 лет после выписки пациентов из больницы.

2. На раннем госпитальном этапе установлена ассоциация исходов острого коронарного синдрома в нестабиль-

ную стенокардию и инфаркт миокарда с носительством различных генотипов гена ангиотензинпревращающего фермента и гена липопротеинлипазы. Генотип Н<sup>+</sup>Н<sup>+</sup> гена ЛПЛ встречается достоверно реже в группе больных ИБС, чем в группе больных ИМ, а генотип DD гена АПФ отмечен в группе больных ИМ достоверно чаще, чем в группе больных ИБС. Пациенты с генотипом ID гена АПФ чаще переносят обострение ИБС в форме ИБС, чем в форме ИМ.

3. Жизнеугрожающие осложнения в остром периоде ИМ не имеют достоверной связи с полиморфизмом гена ЛПЛ, но ассоциированы с полиморфизмом гена АПФ: носители генотипа ID гена АПФ чаще переносят неосложненный ИМ, чем осложненный, а носители генотипа DD, напротив, чаще переносят осложненный ИМ.

4. Сочетание генотипа DD гена АПФ и генотипа Н<sup>+</sup>Н<sup>+</sup> гена ЛПЛ повышает риск развития ИМ и его осложненного течения. Это сочетание имеет место достоверно чаще у больных ИМ, чем у больных ИБС, и достоверно чаще у пациентов с осложненным ИМ, чем с неосложненным.

5. Пятилетняя летальность, обусловленная развитием фатальных ИМ, у больных ИБС с генотипом DD гена АПФ достоверно превышает таковую у больных с генотипами ID и II гена АПФ. Число летальных исходов по причине ИМ у больных с генотипом Н<sup>+</sup>Н<sup>+</sup> гена ЛПЛ достоверно выше аналогичного показателя у больных с генотипами Н<sup>+</sup>Н<sup>-</sup> и Н<sup>-</sup>Н<sup>-</sup>.

6. Максимально высокий уровень пятилетней летальности и более ранние сроки наступления смерти отмечены у больных ИБС с сочетанием генотипа DD гена АПФ и генотипа Н<sup>+</sup>Н<sup>+</sup> гена ЛПЛ. В группе носителей этого генотипического сочетания умирает более половины (53,8%) пациентов. Причем больные с сочетанием генотипов DD и Н<sup>+</sup>Н<sup>+</sup> умирают достоверно чаще пациентов, не имеющих этого сочетания, как в первый, так и во второй годы наблюдения.

7. Среди выживших больных ИБС частота повторных госпитализаций в связи с развитием ИМ за 5 лет наблюдения выше у пациентов с генотипом DD, чем у больных с генотипами ID и II гена АПФ, и выше у пациентов с генотипом Н<sup>+</sup>Н<sup>+</sup>, чем с генотипами Н<sup>+</sup>Н<sup>-</sup> и Н<sup>-</sup>Н<sup>-</sup> гена ЛПЛ. У больных с сочетанием генотипов DD и Н<sup>+</sup>Н<sup>+</sup> повторные госпитализации по поводу ИМ происходят чаще, чем у пациентов, не имеющих этого сочетания.

### Литература

1. Баранов В.С. Генные сети и гены предрасположенности // Генетический паспорт — основа индивидуальной и предиктивной медицины / Под ред. В.С.Баранова. СПб.: Изд-во Н-Л. 2009. С.73–454.
2. Вершинин А.А., Мелентьев И.А., Малыгина Н.А. и др. Клиническое течение ишемической болезни сердца и постинфарктное ремоделирование у больных с различными генотипами гена ангиотензинпревращающего фермента // Вестн. РГМУ. 2006. №3. С.9–15.
3. Малыгина Н.А., Мелентьев А.С., Костомарова И.В. и др. Ассоциации HindIII ДНК-полиморфизма гена липопротеинлипазы с инфарктом миокарда и продолжительностью жизни у больных ишемической болезнью сердца пожилого и старческого возраста // Мол. биол. 2001. №5. С.787–792.

Ближайшие и отдаленные исходы ишемической болезни сердца  
в зависимости от молекулярно-генетических характеристик пациентов

4. Малыгина Н.А., Костомарова И.В., Мелентьев А.С. и др. Связь I/D полиморфизма гена ангиотензинпревращающего фермента с наследственной предрасположенностью к инфаркту миокарда и прогноз течения ИБС у больных пожилого возраста // *Клин. мед.* 2002. №8. С.25–29.
5. Малыгина Н.А., Костомарова И.В., Мелентьев И.А. и др. Молекулярно-генетические маркеры для прогноза течения ишемической болезни сердца у больных старших возрастных групп // *Рос. кардиол. журн.* 2009. №4 (78). С.68–72.
6. Водолагина Н.Н., Малыгина Н.А., Костомарова И.В. и др. Продолжительность жизни и гены липидного обмена у больных с хронической ишемией мозга старших возрастных групп // *Нижегородск. мед. журн.* 2007. №6. С.12–17.
7. Малыгина Н.А., Костомарова И.В., Криводубская Т.Ю. и др. Анализ полиморфизма гена ангиотензинпревращающего фермента у больных ишемической болезнью сердца и гипертонией // *Кардиология.* 2000. №4. С.19–22.
8. Evans A.E., Poirier O., Kee F. et al. Polymorphism of the angiotensin-converting-enzyme gene in subjects who die from coronary heart disease // *Q J Med.* 1994. V.87 (4). P.211–214.
9. Heiss G., Sharrett A.R., Barnes R. et al. Carotid atherosclerosis measured by B-mode ultrasound in populations: associations with cardiovascular risk factors in ARIC study // *Am J Epidemiol.* 1991. V.134 (3). P.250–256.
10. Jemaa R., Fumeron F., Poirier O. et al. Lipoprotein lipase gene polymorphisms: associations with myocardial infarction and lipoprotein levels, the ECTIM study // *J Lipid Res.* 1995. V.36 (10). P.2141–2146.
11. Peacock R.E., Hamsten A., Nilsson-Ehle P., Humphries S.E. Association between lipoprotein lipase gene polymorphisms and plasma correlations of lipids, lipoproteins and lipase activities in the young myocardial infarction survivors and age-matched healthy individual from Sweden // *Atherosclerosis.* 1992. V.97 (2–3). P.171–185.
12. Шахнович Р.М. Полиморфизм гена ангиотензинпревращающего фермента и ишемическая болезнь сердца // *Кардиология.* 1999. №8. С.68–74.
13. Мелентьев И.А., Вершинин А.А., Колесникова Е.А. и др. Клиническое течение ишемической болезни сердца, постинфарктное ремоделирование, психологический статус и сроки госпитализации у больных с различными генотипами гена ангиотензинпревращающего фермента // *Рос. кардиол. журн.* 2006. №3 (59). С.6–16.
14. Семке В.Я., Хритинин Д.Ф., Цыганков Б.Д. Персоналогия и психотерапия. М.: Медицина, 2009. 520 с.
15. Богданова Л.В. Профилактика старения // *Геронтопсихология: Учеб. пособие / Под ред. Г.С.Никифорова.* СПб.: Изд-во С.-Петерб. ун-та, 2007. С.330–331.
16. Oike Y., Hata A., Ogata Y. et al. Angiotensin converting enzyme as a genetic risk factor for coronary artery spasm. Implication in the pathogenesis of myocardial infarction // *J Clin Invest.* 1995. V.96 (6). P.2975–2979.
17. Yusuf S., Hawken S., Ounpuu S. et al. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): case-control study // *Lancet.* 2004. V.364 (9438). P.937–952.
18. Смулевич А.Б., Сыркин А.Л., Дробижев М.Ю. и др. Психокardiология и основные аспекты психосоматической медицины // Смулевич А.Б., Сыркин А.Л., Дробижев М.Ю. и др. Психокardiология. М.: Изд-во «Медицинское информационное агентство», 2005. С.16–26.
19. Петров В.И. Доказательная медицина и клиническое мышление: союзники или оппоненты? // *Труды 19-го Российского национального конгресса «Человек и лекарство».* Лекции для практикующих врачей. М., 2013. С.63–80.
20. Котельников М.В. Профилактика и лечение тромбозов: международные рекомендации и реальная клиническая практика // *Труды 19-го Российского национального конгресса «Человек и лекарство».* Лекции для практикующих врачей. М., 2013. С.110–140.

---

**Информация об авторах:**

Мелентьев Александр Серафимович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой пропедевтики внутренних болезней и лучевой диагностики педиатрического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова  
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1  
Телефон: (495) 952-7397  
E-mail: golybev77@mail.ru

Вершинин Алексей Анатольевич, ассистент кафедры пропедевтики внутренних болезней и лучевой диагностики педиатрического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова  
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1  
Телефон: (495) 952-7397  
E-mail: versal8@hotmail.com

Костомарова Ирина Викторовна, кандидат медицинских наук, заведующая лабораторией клинической генетики Российского геронтологического научно-клинического центра  
Адрес: 129226, Москва, ул. Леонова, 16А  
Телефон: (499) 187-1254  
E-mail: Erri06@rambler.ru

Малыгина Наталья Александровна, кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории клинической генетики Российского геронтологического научно-клинического центра  
Адрес: 129226, Москва, ул. Леонова, 16А  
Телефон: (499) 187-1254  
E-mail: HLA2222@yandex.ru

# Характеристика субпопуляционного состава Т-лимфоцитов у жителей Московского региона в возрасте старше 80 лет

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

*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 и стадии иммуностарения. Анализировали данные проточной полихромной цитометрии 155 пациентов в возрасте 80–89 лет (1-я группа) и 276 долгожителей в возрасте 90–104 лет (2-я группа). Были подобраны иммунограммы с однотипными количественными изменениями хелперных CD4<sup>+</sup>, цитотоксических CD8<sup>+</sup> и активированных CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup> Т-клеток. Средние абсолютные значения показателей с аналогичным типом отклонений от нормы не зависели от возраста. Однако во 2-й группе чаще выявлялись лица с иммунодефицитом (80 ± 5%) и реже — с активацией иммунитета (20 ± 5%), чем в 1-й группе (33,5 ± 7,5% и 66,5 ± 7,5% соответственно). Можно полагать, что выделенные типы отклонений от нормы отражают последовательные стадии естественного иммуностарения, связанные с количественным дефицитом CD4<sup>+</sup> и/или CD8<sup>+</sup>. Возможно, иммунное воспаление на этом фоне стимулирует ускоренное старение.

*Ключевые слова: долгожители, иммунологические маркеры воспаления и старения, кластерный анализ, стадии физиологического иммуностарения, старческий иммунодефицит*

## Characteristics of T-Lymphocyte Sub-Types in the Moscow Region Residents over the Age of 80 Years

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

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

The aim of the study was to determine the markers and the stages of the immunosenescence. The data of flowing polychrome cytometry of 155 patients at the age of 80–89 years (group 1) and 276 patients at the age of 90–104 years (group 2) were analyzed. Immunograms were picked with homogeneous quantitative changes helper CD4<sup>+</sup>, cytotoxic CD8<sup>+</sup> and activated CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup> T-cells. The average absolute values of indices with the analogous type of deviations from the standard did not depend on the age. However in the 2<sup>nd</sup> group persons with immunodeficiency were identified more often (80 ± 5%) and less with activation of immunity (20 ± 5%), than in the 1<sup>st</sup> group (33.5 ± 7.5% and 66.5 ± 7.5%, accordingly). It was assumed that the change of types of deviations from the standard reflects the sequential stages of natural immunosenescence, associated with quantitative CD4<sup>+</sup> and/or CD8<sup>+</sup> deficiency. Possibly the immune inflammation stimulates the accelerated aging against this background.

*Keywords: centenarians, immunological markers of inflammation and senescence, cluster analysis, stages of physiological immunosenescence, senile immunodeficiency*

Основной причиной старения человека считают хронические воспалительные процессы, ассоциированные с возрастзависимыми патологиями [1, 2]. Такие заболевания воспалительного генеза, как хронические неспецифические заболевания легких, атеросклероз, сахарный диабет 2 типа полагают причиной ускоренного старения, в

процесс которого вовлекается иммунная система и, в первую очередь, Т-лимфоциты [3–13]. Напротив, долгожители могут служить моделью «успешного» (физиологического) старения. Состояние их иммунитета, обеспечившего им столь долгое проживание, может быть принято в качестве дополнения к эталону долгожительства.

Целью исследования было выявить иммунологические маркеры и их изменения в процессе физиологического старения. Для решения этого вопроса были отобраны иммунограммы первичного скринингового исследования пациентов в возрасте от 80 до 104 лет с основным диагнозом ИБС и со схожим спектром возрастзависимых хронических соматических заболеваний вне стадии обострения. Учитывая роль воспаления в процессе старения,

### 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 30.05.2014, принята к печати 17.09.2014

исследования были дополнены определением активированных CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup> Т-клеток (Т<sub>акт</sub>) и концентрации С-реактивного белка (С-РБ). Мы полагали, что выбранная модель может выявить динамику естественных количественных изменений показателей иммунитета на последних этапах жизни человека, когда процессы разрушения и отмирания клеток организма становятся необратимыми.

### Пациенты и методы

Материалом для исследования были клетки крови пациентов Российского геронтологического научно-клинического центра. Были обследованы 155 человек в возрасте 80–89 лет (1-я группа) и 276 долгожителей в возрасте 90–104 лет (2-я группа). Структура полиморбидности в обеих группах была аналогичной, из исследования были исключены лица с обострениями хронических процессов и с заболеваниями воспалительного и аутоиммунного генеза. Все исследования проводили на основе информированного согласия пациентов и их родственников в соответствии с международными этическими требованиями ВОЗ (Женева, 1993). Методом полихромной проточной цитометрии (прибор FACSCalibur и моноклональные антитела фирмы Becton Dickinson, США) определяли лимфоциты (Лф) с поверхностным рецептором CD3 и их субпопуляции с фенотипом хелперных CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> (CD4<sup>+</sup>), цитотоксических CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> (CD8<sup>+</sup>) и активированных CD3<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup> Т-клеток. Концентрацию С-РБ для дифференциации хронического и острого воспаления определяли методом иммуноферментного ана-

лиза (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*) и частота отклонений от нормы (*E*, %) с доверительным интервалом (*I*<sub>95</sub>) при уровне вероятности *p* < 0,05. Для сравнения средних показателей применяли *t*-критерий Стьюдента.

### Результаты исследования и их обсуждение

На основе предварительно проведенной стандартной статистической обработки данных иммунограмм выделили кластер показателей CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, Т<sub>акт</sub> и С-РБ, отклонения которых от нормы были наиболее частотными. Стандартный статистический анализ этих показателей без учета их индивидуальных отклонений от нормы представлен в табл. 1, 2.

В обеих возрастных группах средние значения CD8<sup>+</sup> были одинаковыми и достоверно ниже нормы, а среднее количество Т<sub>акт</sub> и С-РБ достоверно превышало норму. Процент CD4<sup>+</sup> с численностью, превышающей норму, у пациентов 1-й группы был выше, чем во 2-й (28 и 13% соответственно). Напротив, у лиц старше 90 лет возрастал процент CD4<sup>+</sup>, величина которых была ниже нормы (44 против 15%). Достоверно с возрастом увеличивался дефицит CD8<sup>+</sup> (58 и 73%). Во 2-й группе частота выявления Т<sub>акт</sub> была достоверно ниже, чем в 1-й (68 и 85%). Примерно у половины пациентов наблюдали повышенную концентрацию С-РБ, несмотря на отбор пациентов без обострений хронических заболеваний на момент исследования.

Таблица 1. Возрастные изменения отдельных показателей иммунограммы, *M* (*I*<sub>95</sub>)

Показатель	Норма	1-я группа	2-я группа
Лф, кл/мкл	2100 (1200–3000)	2100 (1970–2230)	1610* (1330–1890)
CD4 <sup>+</sup> , кл/мкл	850 (600–1100)	870 (340–1300)	720 (300–1140)
CD8 <sup>+</sup> , кл/мкл	600 (400–800)	240* (200–280)	235* (195–275)
Т <sub>акт</sub> , кл/мкл	≤100	240* (210–270)	255* (185–325)
С-РБ, мг/л	≤8,0	13* (9–17)	16* (11–21)

\* — достоверные различия с нормой (*p* < 0,05)

Таблица 2. Возрастные изменения частоты отклонений показателей иммунограммы от нормы в сравниваемых группах, *E* (*I*<sub>95</sub>), %

Показатель	Выше нормы		Ниже нормы	
	1-я группа	2-я группа	1-я группа	2-я группа
Лф	12 (7–17)	6 (3–9)	10 (5–15)	20* (15–25)
CD4 <sup>+</sup>	28 (21–35)	13* (9–17)	15 (9–21)	44* (38–50)
CD8 <sup>+</sup>	7 (3–11)	5 (2–8)	58 (50–66)	73* (68–78)
Т <sub>акт</sub>	85 (78–92)	68* (62–74)	-	-
С-РБ	43 (30–56)	58* (52–64)	-	-

\* — достоверные различия с 1-й группой (*p* < 0,05)

На основе кластерного анализа в соответствии с индивидуальными отклонениями от нормы численности субпопуляций CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> в каждой возрастной группе были отображены иммунограммы пациентов с однотипными изменениями: N/N, ↑/N, ↑/↑, N/↑, ↓/↑, ↑/↓, N/↓, ↓/N, ↓/↓, где N — значение показателя, соответствующее норме, ↑ — превышающее норму и ↓ — ниже нормы.

При вариантах, включающих увеличение численности CD4<sup>+</sup> и/или CD8<sup>+</sup> (↑/N, ↑/↑ и N/↑), в 100% случаев количество T<sub>акт</sub> превышало норму, что позволило объединить их в группу с иммунитетом в состоянии активации. В эту же категорию был отнесен вариант N/N, при котором частота T<sub>акт</sub> составила 100% в 1-й группе, и также только у трех из 36 долгожителей 2-й группы этот показатель соответствовал норме. Типы отклонений ↓/↑, ↑/↓, N/↓, ↓/N, и ↓/↓ характеризовались количественным дефицитом CD8<sup>+</sup> и/или CD4<sup>+</sup>, у большинства из них количество T<sub>акт</sub> было выше нормы, причем во 2-й группе процент таких пациентов был ниже (59%), чем в 1-й (70%) (табл. 3).

В табл. 4 представлены средние значения T-субпопуляций, входящих в кластер с различными векторами отклонений от нормы. Сравнивая варианты с аналогичными изменениями показателей CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> в двух возрастных группах, мы не обнаружили разницы в средних величинах. Увеличение средних значений количества T<sub>акт</sub> было отмечено при всех вариантах отклонений от нормы, кроме ↓/↓. Вариант ↓/↑ был отмечен только у трех долгожителей, поэтому при дальнейшей статистической обработке его исключили.

Среди долгожителей было достоверно больше лиц с иммунодефицитом (80 ± 5%), чем в 1-й группе (66,5 ± 7,5%), и достоверно меньше тех, чей иммунитет находился в состоянии активации (20 ± 5% и 33,5 ± 7,5% соответственно).

Таким образом, изменения численности субпопуляций CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> и T<sub>акт</sub> можно рассматривать в качестве наиболее доступных маркеров стадий иммуностарения. Для повышения информативности первичного скринингового исследования лиц старших возрастных групп рационально дополнить его определением T<sub>акт</sub> и С-РБ в качестве маркеров иммуновоспаления. Отметим, что варианты изменений численности и вектора этих показателей были такими же, как у ранее обследованных нами пациентов с сахарным диабетом 2 типа в возрасте от 50 до 89 лет. Исключением были 3 долгожителя с вариантом ↓/N, который отсутствовал у обследованных пациентов с сахарным диабетом 2 типа в возрасте 50–89 лет [13].

На основании полученных результатов можно предположить связь между изменениями величины и вектора компонентов кластера и последовательными изменениями в иммунитете от начальных этапов активации по типу иммунного ответа до развития хронического иммунного воспаления (высокие значения M для T<sub>акт</sub>), сопровождающегося аутоиммунными реакциями и формированием вторичного иммунодефицита.

Маркером долгожительства для лиц старше 80 лет, по-видимому, могут быть варианты CD4<sup>+</sup>N/CD8<sup>+</sup>N и CD4<sup>+</sup>↓/CD8<sup>+</sup>↓, при которых сохраняется соотношение этих субпо-

Таблица 3. Варианты количественных изменений показателей CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>, характеризующих состояние иммунитета как активацию или дефицит, и частота их выявления у пациентов с T<sub>акт</sub> выше нормы

Группа	Число пациентов	Активация CD4 <sup>+</sup> и/или CD8 <sup>+</sup>					Дефицит CD4 <sup>+</sup> и/или CD8 <sup>+</sup>				
		N/N	↑/N	↑/↑	N/↑	↓/↑	↑/↓	N/↓	↓/N	↓/↓	
1-я	всего	25	16	5	6	0	10	56	13	24	
	с T <sub>акт</sub> > N	25	16	5	6	0	10	41	9	12	
			<b>100</b>					<b>70 (62,5–77,5)</b>			
2-я	всего	36	7	5	7	3	24	75	17	102	
	с T <sub>акт</sub> > N	33	7	5	7	3	20	50	11	47	
			<b>94,5 (91,5–97,5)</b>					<b>59* (52–66)</b>			

Жирным шрифтом указана E (I<sub>95</sub>) для пациентов с T<sub>акт</sub> выше нормы.

\* — достоверные различия с 1-й группой (p < 0,05)

Таблица 4. Характеристика субпопуляционного состава T-лимфоцитов при разных вариантах количественных изменений CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> в сравниваемых группах, M (I<sub>95</sub>), кл/мкл

Показатель	Группа	N/N	↑/N	↑/↑	N/↑	↑/↓	N/↓	↓/N	↓/↓
CD4 <sup>+</sup>	1-я	830 (810–850)	1600 (1350–1850)	1530 (1230–1830)	920 (830–1010)	1520 (1300–1710)	810 (750–870)	480 (420–540)	410 (380–440)
	2-я	815 (765–865)	1430 (1220–1640)	1480 (1300–1660)	880 (750–910)	1420 (1280–1560)	820 (780–860)	450 (360–540)	400 (380–420)
CD8 <sup>+</sup>	1-я	510 (480–540)	540 (470–610)	920 (790–1050)	1015 (805–1255)	230 (190–270)	200 (180–220)	540 (400–680)	160 (130–190)
	2-я	540 (500–580)	635 (435–735)	1010 (880–1140)	1300 (740–1860)	200 (160–240)	210 (190–230)	600 (530–670)	170 (140–200)
T <sub>акт</sub>	1-я	340 (260–420)	345 (205–485)	400 (300–500)	450 (350–650)	300 (160–440)	200 (160–240)	170 (100–240)	170 (90–250)
	2-я	380 (270–490)	440 (250–630)	1240 (500–1980)	490 (400–580)	250 (160–340)	200 (190–210)	190 (140–240)	160 (50–270)

Таблица 5. Частота выявления пациентов с разными вариантами количественных изменений CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>, характеризующими состояние иммунитета как активацию или иммунодефицит, E (I<sub>95</sub>), %

Группа	Активация CD4 <sup>+</sup> и/или CD8 <sup>+</sup>				Иммунодефицит CD4 <sup>+</sup> и/или CD8 <sup>+</sup>				
	N/N	↑/N	↑/↑	N/↑	↓/↑	↑/↓	N/↓	↓/N	↓/↓
1-я	16 (10–22)	10 (1–19)	3 (0–6)	4 (1–7)	0	6 (2–10)	36 (38–44)	8 (4–12)	15 (9–21)
		33,5 (26–41)				66,5 (59–74)			
2-я	14 (10–18)	2,5 (0,5–4,5)	1 (0–2)	2,5 (0,5–4,5)	1 (0–2)	9 (6–12)	27* (22–32)	6 (3–9)	37* (31–43)
		20* (15–25)				80* (75–85)			

\* — достоверные различия с 1-й группой (p < 0,05)

пуляций 2:1, а количество T<sub>акт</sub> и концентрация С-РБ соответствуют норме. Нарастание количественного дефицита CD4<sup>+</sup> и/или CD8<sup>+</sup> на фоне хронического иммунного воспаления является угрозой «успешному» старению.

Полагаем, что динамика иммуностарения будет подтверждена данными последующего анализа лонгитудинального исследования, которое проводили на протяжении 2–5 лет.

### Выводы

1. На основе первичного скринингового иммунологического анализа Т-лимфоцитов крови 431 пациента в возрасте от 80 до 104 лет выделен кластер показателей CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>/T<sub>акт</sub>, количественные варианты компонентов которого характеризуют изменения в Т-клеточном звене иммунитета в процессе старения и могут расцениваться как маркеры последнего.

2. Однотипные изменения компонентов кластера отмечены как в возрастной группе 80–89 лет, так и у долгожителей, и характеризовались одинаковыми средними величинами.

3. Среди долгожителей был выше процент лиц с иммунодефицитом (80 ± 5%) и ниже — с иммунитетом в состоянии активации (20 ± 5%), чем у лиц 80–89 лет (66,5 ± 7,5% и 33,5 ± 7,5% соответственно).

4. С процессом «успешного» старения ассоциировались варианты CD4<sup>+</sup>N/CD8<sup>+</sup>N и CD4<sup>+</sup>↓/CD8<sup>+</sup>↓, при которых количество T<sub>акт</sub> и концентрация С-РБ соответствовали норме. Угрозой «успешному» старению, по-видимому, может быть длительное иммунное воспаление на фоне иммунодефицита и хронических возрастзависимых заболеваний.

5. Для повышения информативности первичного скринингового исследования лиц старших возрастных групп рационально дополнить его определением T<sub>акт</sub>.

### Литература

1. 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.
2. Howcroft T.K., Campisi J., Louis G.B. et al. The role of inflammation in age-related disease // Aging (Albany NY). 2013. V.5 (1). P.84–93.
3. Miller R.A. Aging and immune function // Int Rev Cytol. 1991. V.124. P.187–215.

4. Симонова А.В. Фенотип лимфоцитов крови при воспалительных заболеваниях человека. М.: Изд-во «ИНТО», 2001. 228 с.
5. Ярилин А.А. Старение иммунной системы и тимус // Клини. геронтол. 2003. Т.9. №3. С.8–17.
6. Асташкин Е.И. Изменение процессов сигнализации при старении Т-лимфоцитов человека // Клини. геронтол. 2003. Т.9. №3. С.18–26.
7. Linton P.J., Dorshkind K. Age-related changes in lymphocyte development and function // Nat Immunol. 2004. V.5 (2). P.133–139.
8. Столпникова В.Н., Кочергина Н.И., Карленко О.М., Мирошниченко И.В. Количественные изменения показателей иммунитета у долгожителей // Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунол. 2006. №6. С.50–53.
9. Gruver A.L., Hudson L.L., Sempowsky G.D. Immunosenescence of ageing // J Pathol. 2007. V.211 (2). P.144–156.
10. Larbi A., Fülöp T., Pawelec G. Immune receptor signaling, aging and autoimmunity // Adv Exp Med Biol. 2008. V.640. P.312–324.
11. Lugli E., Troiano L., Pinti M. et al. Lymphocytes Sub-Types and Functions in Centenarians as Models for Successful Ageing // Handbook on Immunosenescence / Ed. by T.Fulop, C.Franceschi, K.Hirokawa, G.Pawelec. Berlin: Springer Science-Business Media B.V., 2009. P.29–62.
12. Caruso C., Buffa S., Candore G. et al. Mechanisms of immunosenescence // Immun Ageing. 2009. V.6. P.10–18.
13. Мирошниченко И.В., Левашова Т.В., Столпникова В.Н., Сорокина Е.А. Возрастные изменения субпопуляционного состава Т-лимфоцитов у пациентов с сахарным диабетом 2 типа // Вестн. РГМУ. 2014. №1. С.5–9.

### 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

Топорова Светлана Геннадьевна, доктор медицинских наук, профессор, 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: toporovasg@mail.ru

# Отдаленные результаты лечения подростков и молодежи с лимфомой Ходжкина по модифицированному педиатрическому протоколу DAL-HD-90

Е.Г.Аршанская<sup>2,4</sup>, С.В.Сёмочкин<sup>1,2</sup>, В.М.Сотников<sup>3</sup>, В.Л.Иванова<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, кафедра онкологии, гематологии и лучевой терапии педиатрического факультета, Москва (зав. кафедрой — проф. С.А.Румянцев);

<sup>2</sup>Федеральный научно-клинический центр детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева,

отдел оптимизации лечения подростков и молодежи с гематологическими заболеваниями, Москва (зав. отделом — проф. С.В.Сёмочкин);

<sup>3</sup>Российский научный центр рентгенодиагностики, отдел лучевой терапии и комбинированных методов лечения, Москва (зав. отделом — проф. Г.А.Паншин);

<sup>4</sup>Городская клиническая больница им. С.П.Боткина, Москва (главный врач — проф. А.В.Шабунин)

В статье представлен анализ отдаленных результатов терапии группы подростков ( $n = 48$ ; медиана возраста — 16,6 года; минимальный и максимальный возраст — 15,0 и 18,1 года) и молодежи ( $n = 49$ ; медиана возраста — 21,0 года; минимальный и максимальный возраст — 18,5 и 33,6 года) с первичной лимфомой Ходжкина. Все пациенты были пролечены по педиатрическому протоколу DAL-HD-90 в период с 1997 по 2008 г. По всей группе больных 12-летняя бессобытийная выживаемость составила  $73,4 \pm 4,8\%$ , общая выживаемость —  $81,5 \pm 4,7\%$ . Для подростков 12-летняя бессобытийная выживаемость при ранних стадиях болезни документирована на уровне  $83,3 \pm 15,2\%$ , при промежуточных —  $80,9 \pm 10,0\%$  и при поздних —  $72,2 \pm 9,8\%$ . Долгосрочные результаты лечения молодых взрослых с промежуточными и поздними стадиями лимфомы Ходжкина уступают таковым подросткам. Частота вторичных опухолей по всем пациентам составила 2,1% случаев.

Ключевые слова: подростки, молодежь, лимфома Ходжкина, протокол DAL-HD-90

## Long-Term Results of Treatment of Adolescents and Young Adults with Hodgkin's Lymphoma according to the Modified Pediatric Protocol DAL-HD-90

E.G.Arshanskaya<sup>2,4</sup>, S.V.Semochkin<sup>1,2</sup>, V.M.Sotnikov<sup>3</sup>, V.L.Ivanova<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Pirogov Russian National Research Medical University, Department of Oncology, Hematology and Radiotherapy of Pediatric Faculty, Moscow (Head of the Department — Prof. S.A.Rumyantsev);

<sup>2</sup>Federal Scientific and Clinical Centre of Pediatric Hematology, Oncology and Immunology named after Dmitry Rogachev,

Department of Optimizing the Treatment of Adolescents and Young Adults with Hematological Diseases, Moscow (Head of the Department — Prof. S.V.Semochkin);

<sup>3</sup>Russian Scientific Center of Roentgen Radiology, Department of Radiation Therapy and Combined Treatments, Moscow (Head of the Department — Prof. G.A.Panshin);

<sup>4</sup>Municipal Clinical Hospital named after S.P.Botkin, Moscow (Chief Doctor — Prof. A.V.Shabunin)

This article presents the analysis of long-term results of therapy of adolescents ( $n = 48$ ; median age — 16.6 years; minimum and maximum age — 15.0 and 18.1) and young adults ( $n = 49$ ; median age — 21.0 years; minimum and maximum age — 18.5 and 33.6) with primary Hodgkin's lymphoma (HL). During 1997–2008 all the patients were treated according to the pediatric protocol DAL-HD-90. Twelve-year event-free survival was  $73.4 \pm 4.8\%$  and overall survival —  $81.5 \pm 4.7\%$  for all patients. Twelve-year event-free survival for adolescents at the early stages of HL was documented at the level of  $83.3 \pm 15.2\%$ , at the intermediate stages —  $80.9 \pm 10.0\%$  and at the advanced stages —  $72.2 \pm 9.8\%$ . Long-term treatment results of young adults with intermediate and advanced stages of HL were inferior to those of adolescents. The frequency of secondary tumors in all patients was in 2.1% of cases.

Key words: adolescents, young adults, Hodgkin's lymphoma, protocol DAL-HD-90



Подростки и молодые взрослые представляют собой уникальную по своим биологическим и социальным особенностям возрастную категорию, определяемую периодом жизни от 15 до 30 лет [1]. С клинических позиций пациенты этой группы отличаются от детей и взрослых старших возрастов индивидуальной структурой онкологических заболеваний, биологическими характеристиками опухолей, особенностями метаболизма химиопрепаратов, максимальными требованиями к защите репродуктивной функции, сохранению психологического и физического благополучия при проведении агрессивных методов лечения [1, 2]. Подростки и молодежь реже других участвуют в клинических исследованиях и часто, по крайней мере, внешне легкомысленно относятся к своему заболеванию, что в крайней форме выражается в немотивированных случаях отказа от лечения или несоблюдении сроков его проведения [3].

Одно из самых частых онкологических заболеваний подростков и молодежи — лимфома Ходжкина (ЛХ). Успехи последних десятилетий в лечении данной патологии внесли особый вклад в понимание принципов диагностики, стадирования и лечения онкологических заболеваний в целом [4]. Понимание оптимальной терапии ЛХ для подростков и молодежи до настоящего времени не определено [5]. Как педиатрические, так и взрослые онкологические исследовательские группы демонстрируют впечатляющие успехи в лечении ЛХ при том, что их подходы имеют существенные различия [6–8].

Цель работы — оценить долгосрочную выживаемость подростков и молодежи с лимфомой Ходжкина, пролеченных по модифицированному педиатрическому протоколу DAL-HD-90. Работа представляет собой финальные результаты собственного оригинального проспективного клинического исследования.

### Пациенты и методы

В период с 11.1997 по 04.2008 г. по модифицированному протоколу DAL-HD-90 были пролечены 48 подростков (21 юноша и 27 девушек) и 49 молодых взрослых (16 юношей и 33 девушки) с впервые диагностированной ЛХ. Анализ результатов выполнен по состоянию на 30.01.2014.

Больным с ранними стадиями (IA, IB, IIA по классификации Ann-Арбор) проводили терапию в объеме двух циклов химиотерапии по схеме ODPА (винкристин, дакарбазин, преднизолон, адриамицин) для лиц женского или OEPА (винкристин, этопозид, преднизолон, адриамицин) для лиц мужского пола. Пациентам с промежуточными

стадиями (IIB, IIIA, IEA, IEB, IIEA) в программу терапии дополнительно включали 2 цикла консолидации COPD (циклофосфамид, винкристин, преднизолон, дакарбазин). В случае генерализованных стадий (IIIB, IVA, IVB, IIEB, IIIEA, IIIEB) вне зависимости от пола назначали 2 цикла ODPА и 4 цикла COPD. Лучевую терапию проводили на первично пораженные лимфатические области в суммарной очаговой дозе 30 Гр плюс дополнительно 6–10 Гр на остаточные опухоли. Облучение первично вовлеченных нелимфоидных органов (за исключением костного мозга) осуществляли в дозах, адаптированных к лучевой толерантности соответствующих нормальных тканей. Легкие, печень и почки не включали в программу лучевой терапии в случае полной регрессии опухолевых очагов в данных органах в процессе химиотерапии. Подробное описание модификации оригинального протокола представлено в наших предыдущих публикациях [9].

Эффективность лечения определяли по частоте достижения полных ремиссий (ПР), частоте рецидивов, случаев первичной рефрактерности, смертей, по показателям общей (ОВ) и бессобытийной выживаемости (БСВ). Под отрицательным событием при расчете БСВ понимали рецидив, смерть вследствие любой причины, прогрессирование на терапии, отсутствие ПР после окончания всей программы лечения, осложнения терапии, повлекшие ее прекращение, вторые опухоли или любые другие отдаленные осложнения, угрожающие жизни. Выбывшими из под наблюдения считали субъектов, по которым не было сведений в течение последних 12 мес.

Статистическую обработку результатов исследования осуществляли с использованием компьютерной программы «SPSS 20.0». Показатели выживаемости рассчитывали по методу Каплана–Мейера, стандартную ошибку для показателей выживаемости — по формуле Гринвуда. Значимость различий между кривыми выживаемости определяли с помощью лог-ранк теста. Анализ показателей выживаемости выполнен с учетом сведений о потерянных пациентах по методу LOCF (Last Observation Carried Forward), основанному на включении в анализ данных последнего обследования, не соответствующего по времени точке окончания исследования [10]. Сравнительный анализ качественных признаков между группами проводили с помощью непараметрического критерия  $\chi^2$ , порядковых —  $U$ -критерия Манна–Уитни. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ . Количественные признаки, не имеющие нормального распределения, описывали медианой и крайними значениями признака в изучаемой совокупности —  $Me (X_{\min}-X_{\max})$ .

### Результаты исследования и их обсуждение

Инициальная характеристика больных, включенных в исследование, представлена в табл. 1. Медиана возраста на момент начала лечения по протоколу для группы подростков составила 16,6 (15,0–18,1) года, для молодых взрослых — 21,0 (18,5–33,6) года. В популяции преобладали лица женского пола (61,9%). Доминирующим гистологическим вариантом заболевания был нодулярный склероз (73,2%). К ранним стадиям по классификации Ann-Арбор были отнесены 11 (11,3%) пациентов, промежуточным —

#### Для корреспонденции:

Сёмочкин Сергей Вячеславович, доктор медицинских наук, заведующий отделом оптимизации лечения подростков и молодежи с гематологическими заболеваниями Федерального научно-клинического центра детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева, профессор кафедры онкологии, гематологии и лучевой терапии педиатрического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова

Адрес: 117997, Москва, Ленинский пр-т, 117/2

Телефон: (495) 653-1478

E-mail: semochkin\_sv@rsmu.ru

Статья поступила 24.06.2014, принята к печати 17.09.2014

**Таблица 1. Инициальные характеристики больных**

Показатель	Подростки		Молодежь		Итого	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Число пациентов	48	100,0	49	100,0	97	100,0
Возраст, лет	16,6 (15,0–18,1)		21,0 (18,5–33,6)		18,9 (15,0–33,6)	
Девушки	27	56,2	33	67,3	60	61,9
Гистологический вариант классической ЛХ:						
нодулярный склероз	35	72,9	36	73,5	71	73,2
смешанно-клеточный	12	25,0	12	24,5	24	24,7
лимфоидное истощение	1	2,1	1	2,0	2	2,1
Прогностические факторы:						
симптомы интоксикации (В-стадии)	38	79,2	41	83,7	79	81,4
повышение СОЭ*	7	14,6	8	16,3	15	15,5
опухолевые массы (10 см и более)	10	20,8	7	14,3	17	17,5
число пораженных лимфатических регионов (4 и более)	35	72,9	26	53,1	61	62,9
Терапевтические группы DAL-HD-90:						
ранние стадии	6	12,5	5	10,2	11	11,3
промежуточные стадии	19	39,6	15	30,6	34	35,1
распространенные стадии	23	47,9	29	59,2	52	53,6

*Статистически значимых различий между подростками и молодыми взрослыми при сравнении групп по всем показателям не выявлено;*  
\* — повышение СОЭ более 30 мм/ч при В-стадиях и более 50 мм/ч при А-стадиях

**Таблица 2. Результаты терапии в зависимости от возраста наблюдаемых больных**

Показатель	Подростки		Молодежь		Итого	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Число пациентов	48	100,0	49	100,0	97	100,0
Срок наблюдения за выжившими пациентами, лет	12,2 (6,7–17,2)		11,0 (4,3–16,3)		12,0 (4,3–17,2)	
Полная ремиссия	46	95,8	43	87,8	89	91,8
Первичная рефрактерность	2	4,2	6	12,2	8	8,2
Рецидивы:						
ранние	1	2,1	1	2,0	2	2,1
поздние	6	12,5	6	12,2	12	12,4
Причины смерти:						
прогрессия/рецидивы	4	8,3	5	10,2	9	9,3
осложнения терапии	2	4,2	2	4,1	4	4,1
травма	1	2,1	0	0,0	1	1,0
Вторичные опухоли	0	0,0	2	4,1	2	2,1
Потеряны из-под наблюдения	15	31,3	10	20,4	25	25,8
Живы (под наблюдением)	26	54,2	32	65,3	58	59,8

*Статистически значимых различий между подростками и молодыми взрослыми при сравнении групп по всем показателям не выявлено*

34 (35,1%) и распространенным — 52 (53,6%). При сравнении групп по инициальным прогностическим факторам, включая симптомы интоксикации (В-стадии), повышение СОЭ, число пораженных лимфатических регионов и наличие больших инициальных опухолевых масс (10 см и более в наибольшем измерении), достоверных различий между подростками и молодыми взрослыми не выявлено.

Результаты лечения в зависимости от возраста представлены в табл. 2. По состоянию на 30.01.2014 медиана наблюдения за выжившими пациентами для группы подростков составила 12,2 (6,7–17,2) года, для молодых взрослых — 11,0 (4,3–16,3). Прослеживается тенденция более высокой частоты ПР для подростков, чем для молодых взрослых (95,8 против 87,8% соответственно) за счет меньшего числа случаев первичной рефрактерности,

однако достоверности различий между группами не выявлено. По частоте рецидивов достоверных различий также не отмечено. В исследовании документировано 2 случая вторичной солидной опухоли, диагностированной в пределах полей облучения (рак яичника и рак щитовидной железы) только в старшей возрастной группе. Ни одного случая миелодиспластического синдрома или вторичного острого миелоидного лейкоза не зарегистрировано.

Количество смертельных исходов вследствие любых причин между группами также достоверно не различалось — 7 (14,6%) против 7 (14,3%) соответственно. В первой контрольной точке нашего исследования (01.04.2008) был потерян из-под наблюдения лишь один (1,0%) пациент, при финальном анализе (30.01.2014) — уже 25 (25,8%). Подростки представляют собой небольшую возрастную когорту, для

которой характерны высокая мобильность, частые смены места жительства и фамилий при создании собственных семей, что затрудняет длительный контроль над статусом выживших пациентов с онкологическими заболеваниями и снижает, в конечном счете, качество исследований. В нашей работе в группе подростков было потеряно в 1,5 раза больше пациентов, чем среди молодых взрослых — 15 (31,3%) против 10 (20,4%) соответственно, а также в 1,3 раза больше мужчин, чем женщин, — 11 (29,7%) против 14 (23,3%) (в обоих случаях различия недостоверны).

По всем пациентам 6-летняя ОВ составила  $88,6 \pm 3,4\%$ , 12-летняя —  $81,5 \pm 4,7\%$ . По данному параметру не выявлено достоверных различий между подростками и молодежью. У подростков 6-летняя ОВ составила —  $89,1 \pm 4,6\%$  ( $n = 49$ ; умерли — 5; потеряны — 0) против  $88,2 \pm 5,0\%$  (48; 5; 1) у молодежи; 12-летняя ОВ у подростков —  $82,0 \pm 6,4\%$  (49; 7; 15) против  $80,7 \pm 6,8\%$  (48; 7; 10) у молодежи. Различия между группами недостоверны (рис. 1).

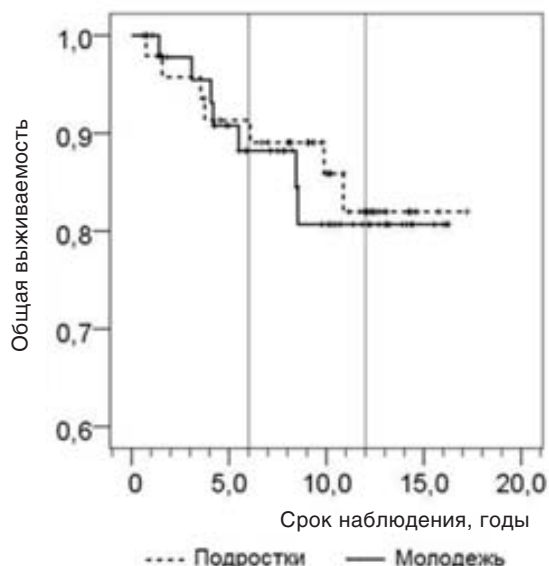


Рис. 1. Общая выживаемость пациентов с ЛХ в зависимости от возраста.

Кривые БСВ в зависимости от возраста представлены на рис. 2. По всем больным 6-летняя БСВ составила  $79,1 \pm 4,3\%$ , 12-летняя —  $73,4 \pm 4,8\%$ . В отношении данного параметра прослеживается тенденция к повышению количества неблагоприятных событий с возрастом. Для подростков 6-летняя БСВ составила  $85,0 \pm 5,2\%$  ( $n = 49$ ; события — 7; потери — 0) против  $72,7 \pm 6,8\%$  (48; 12; 1) для молодежи; 12-летняя —  $77,3 \pm 6,4\%$  (49; 10; 15) против  $69,7 \pm 7,2\%$  (48; 13; 10). Различия между группами недостоверны.

Анализ БСВ в зависимости от терапевтической группы протокола DAL-HD-90 представлен на рис. 3. Для пациентов с ранними стадиями болезни 12-летняя БСВ составила  $90,9 \pm 8,7\%$ , промежуточными —  $77,7 \pm 8,3\%$  и распространенными —  $65,9 \pm 7,1\%$  ( $p > 0,05$  при всех вариантах сравнения). Для пациентов с промежуточными и поздними стадиями болезни прослеживается тенденция ухудшения показателя БСВ с возрастом пациентов.

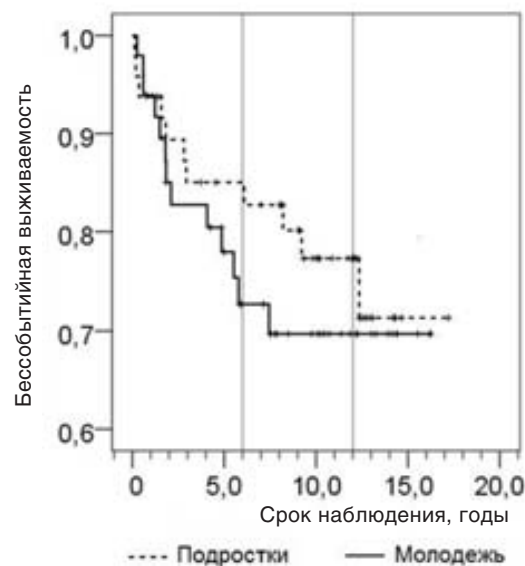


Рис. 2. Бесобытийная выживаемость пациентов с ЛХ в зависимости от возраста.

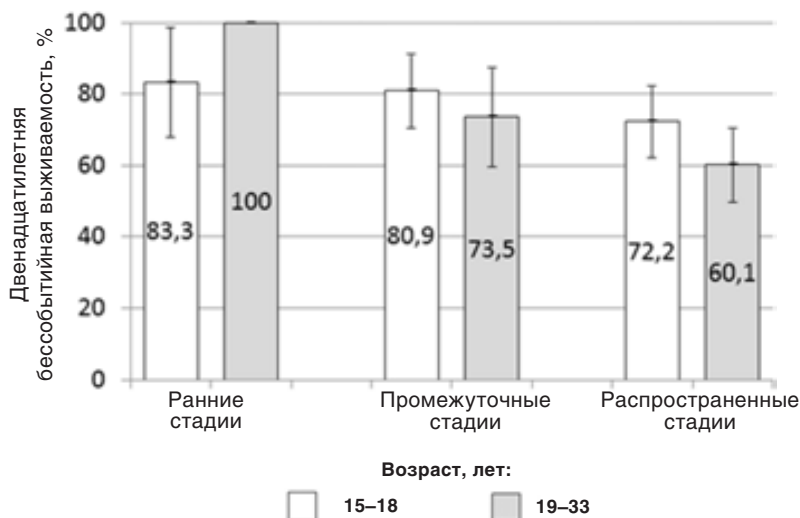


Рис. 3. Бесобытийная выживаемость (12-летняя) пациентов в зависимости от распространенности ЛХ. Статистически значимых различий между группами в рамках стадий не выявлено.

В доступной литературе число публикаций, касающихся длительных сроков наблюдения за подростками и молодежью с ЛХ, весьма ограничено, вследствие чего нет полной ясности в плане выбора лучшего терапевтического подхода. В частности, анализ базы данных Weston Park Hospital (Великобритания) пациентов с ЛХ ( $n = 145$ ), пролеченных по взрослым программам, продемонстрировал крайне неблагоприятную выживаемость при поздних стадиях [5]. Вероятность 20-летней БСВ для пациентов 15–19 лет составила лишь 16,6% (медиана наблюдения — 14,3 года) против 58,7% (медиана наблюдения — 15,3 года) для возраста 20–25 лет ( $p < 0,05$ ), ОВ — 52,5 против 80,2% ( $p < 0,05$ ). В другом недавно опубликованном исследовании, выполненном в Венгрии, представлен анализ лечения пациентов в возрасте от 14 до 21 года ( $n = 245$ ) по педиатрическим (OPPA/OEPA ± COPP) и взрослым (ABVD) протоколам [7]. В данной работе продемонстрировано преимущество педиатрической программы для лечения подростков до 18 лет по сравнению со взрослой: 10-летняя БСВ —  $82,4 \pm 4\%$  против  $59,1 \pm 8\%$  ( $p < 0,05$ ). В отношении молодых взрослых никакого преимущества получено не было, что корреспондирует с нашими данными.

С другой стороны, данные германской исследовательской группы по ЛХ (German Hodgkin Study Group, GHSG) в серии исследований HD4–HD9 не выявили различий в результатах лечения подростков ( $n = 557$ ; возраст — 15–20 лет) и молодых взрослых ( $n = 3228$ ; 21–45 лет) при лечении по взрослым протоколам ABVD и BEACOPP [11]. В данной работе 6-летняя выживаемость, свободная от неудач в лечении, была идентичной для подростков (80,2%) и для молодых взрослых (79,7%), однако 6-летняя ОВ была лучше для подростков (93,6 против 90,9%;  $p < 0,01$ ).

### Заключение

Отдаленные результаты нашего исследования продемонстрировали высокую эффективность модифицированного педиатрического протокола DAL-HD-90 в лечении подростков и молодежи с первичной лимфомой Ходжкина. По всей группе пациентов 12-летняя бессобытийная выживаемость составила 73,4%, общая выживаемость — 81,5%. Оптимальные результаты получены для подростков 15–18 лет: 12-летняя бессобытийная выживаемость при ранних стадиях — 83,3%, промежуточных — 80,9% и поздних — 72,2%. Долгосрочные результаты лечения молодых взрослых по данному протоколу, по всей видимости, уступают таковым у подростков, однако, достоверных статистических различий не получено. Частота вторичных опухолей не превысила 2,1% случаев.

### Литература

1. Румянцев А.Г., Птушкин В.В., Семочкин С.В. Пути улучшения результатов лечения злокачественных опухолей у подростков и молодых взрослых // Онкогематология. 2011. №1. С.20–30.
2. Винокуров А.А., Румянцева Ю.В. Лимфома Ходжкина и проблемы репродукции у мужчин // Клини. онкогематол. 2013. Т.6. №3. С.23–26.
3. Bleyer A., Budd T., Montello M. Adolescents and young adults with cancer: the scope of the problem and criticality of clinical trials // Cancer. 2006. V.107. Suppl.7. P.1645–1655.
4. Демина Е.А. Лимфома Ходжкина: от Томаса Ходжкина до наших дней // Клини. онкогематол. 2008. Т.1. №2. С.114–118.
5. Herbertson R.A., Evans L.S., Hutchinson J. et al. Poor outcome in adolescents with high-risk Hodgkin lymphoma // Int J Oncol. 2008. V.33 (1). P.145–151.
6. Foltz L.M., Song K.W., Connors J.M. Hodgkin's lymphoma in adolescents // J Clin Oncol. 2006. V.24 (16). P.2520–2526.
7. Müller J., Illés A., Molnár Z. et al. Adolescent Hodgkin lymphoma: are treatment results more favorable with pediatric than with adult regimens? // J Pediatr Hematol Oncol. 2011. V.33 (2). P.e60–e63.
8. Лимфома Ходжкина / Под ред. В.П.Харченко. М.: Русское слово, 2009. 319 с.
9. Семочкин С.В., Лория С.С., Аршанская Е.Г., Румянцев А.Г. Результаты терапии подростков и лиц молодого возраста с лимфомой Ходжкина по протоколу DAL-HD-90M // Гематол. и трансфузиол. 2007. Т.52. №5. С.15–22.
10. Little R.J.A., Rubin D.B. Statistical Analysis with Missing Data. 2<sup>nd</sup> ed. NY: John Wiley, 2002. 408 p.
11. Eichenauer D.A., Bredenfeld H., Haverkamp H. et al. Hodgkin's lymphoma in adolescents treated with adult protocols: a report from the German Hodgkin study group // J Clin Oncol. 2009. V.27 (36). P.6079–6085.

### Информация об авторах:

Аршанская Евгения Григорьевна, младший научный сотрудник отдела оптимизации лечения подростков и молодежи с гематологическими заболеваниями Федерального научно-клинического центра детской гематологии, онкологии и иммунологии им. Дмитрия Рогачева, врач-гематолог Городской клинической больницы им. С.П.Боткина  
Адрес: 125284, Москва, 2-й Боткинский пр-д, 5/19  
Телефон: (499) 728-8139  
E-mail: arshanskaya.evgeniya@gmail.com

Сотников Владимир Михайлович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий отделением лучевых и комбинированных методов лечения Российского научного центра рентгенорадиологии  
Адрес: 117997, Москва, ул. Профсоюзная, 86  
Телефон: (495) 333-9210  
E-mail: vmsotnikov@mail.ru

Иванова Валентина Леонидовна, заведующая гематологическим центром Городской клинической больницы им. С.П.Боткина, главный внештатный гематолог департамента здравоохранения г. Москвы  
Адрес: 125284, Москва, 2-й Боткинский пр-д, 5/19  
Телефон: (495) 945-2330  
E-mail: gemcentr-botkina@yandex.ru

# Дисбаланс антиэндотоксинового иммунитета у больных бронхиальной астмой

В.А.Белоглазов, Ю.О.Попенко

Крымский государственный медицинский университет имени С.И.Георгиевского,  
кафедра внутренней медицины № 2, Симферополь  
(зав. кафедрой — проф. В.А.Белоглазов)

Цель исследования — определение состояния антиэндотоксинового (АЭТ) иммунитета у больных со среднетяжелой и тяжелой персистирующей бронхиальной астмой. Обследованы 109 пациентов, находившихся на амбулаторном лечении основного заболевания. Выделены две группы: 1-я группа — больные со среднетяжелой бронхиальной астмой — 68 человек (62,4%), средний балл по опроснику ACQ —  $3,00 \pm 0,14$ , ОФВ<sub>1</sub> —  $67,01 \pm 2,10\%$ ; 2-я группа — больные с тяжелой бронхиальной астмой — 41 человек (37,6%), средний балл по опроснику ACQ —  $4,06 \pm 0,12$ , ОФВ<sub>1</sub> —  $34,45 \pm 1,05\%$ . Установлено, что в обеих клинических группах уровни общего секреторного IgA и секреторного АЭТ-IgA в индуцированной мокроте выше, чем у здоровых доноров. Наблюдалось также повышение уровня АЭТ-IgM в сыворотке крови в обеих группах по сравнению с донорами. По уровню сывороточных АЭТ-IgG больные исследуемых групп относились к нормореспондерам. В 1-й группе зарегистрирован повышенный уровень АЭТ-IgA в сыворотке крови, во 2-й группе данный показатель приближался к показателю доноров. Определен повышенный уровень С-реактивного белка в обеих группах. Предполагается, что дисбаланс АЭТ-иммунитета влияет на тяжесть и течение бронхиальной астмы согласно феномену эндотоксиновой агрессии.

Ключевые слова: антиэндотоксиновый иммунитет, бронхиальная астма, мукозальный иммунитет, гуморальный иммунитет

## Imbalance of Anti-Endotoxin Immunity in Patients with Bronchial Asthma

V.A.Beloglazov, Yu.O.Popenko

Crimean State Medical University named after S.I.Georgievsky,  
Department of Internal Medicine № 2, Simferopol  
(Head of the Department — Prof. V.A.Beloglazov)

The aim of our investigation was to determine the state of anti-endotoxin (AET) immunity in patients with moderate and severe persistent bronchial asthma. 109 patients were examined receiving outpatient treatment of the basic disease. All patients were divided into two groups: group 1 — patients with moderate bronchial asthma — 68 subjects (62,4%) with average score of  $3.00 \pm 0.14$  according to ACQ, FEV<sub>1</sub> —  $67.01 \pm 2.10\%$ ; group 2 — patients with severe bronchial asthma — 41 subjects (37,6%) with average score of  $4.06 \pm 0.12$  according to ACQ, FEV<sub>1</sub> —  $34.45 \pm 1.05\%$ . It was proved that in both clinical groups the levels of total secretory IgA and secretory AET-IgA in induced sputum were higher than those of healthy donors. It was observed the increase of the level of AET-IgM in blood serum in both clinical groups in comparison with donors, as for the level of serum AET-IgG patients of the studied groups were treated as normal responders. It was registered the increased level of AET-IgA in blood serum in group 1, in group 2 this indicator was getting closer to that of the donors. The increased level of C-reactive protein was determined in both groups. It is assumed that the imbalance of anti-endotoxin immunity influences the severity and the course of bronchial asthma according to the phenomenon of endotoxin aggression.

Key words: anti-endotoxin immunity, bronchial asthma, mucosal immunity, humoral immunity

Несмотря на существенные успехи, достигнутые в лечении бронхиальной астмы (БА) на сегодняшний день, актуальной проблемой остается тяжелая форма этого заболевания, доля которой составляет более 20%, что ука-

зывает на неудовлетворительный контроль над течением данного заболевания [1]. В мире ежегодно регистрируется около 250 тыс. смертей от астмы [2].

В настоящее время интенсивно изучаются патогенетические механизмы формирования нейтрофильного компонента воспаления при БА, который является центральным в патогенезе неконтролируемой астмы [3]. Известно, что эндотоксин (ЭТ) грамотрицательной флоры может быть непосредственным фактором развития нейтрофильного компонента воспаления, при этом интегральный эффект ЭТ зависит от баланса между его поступлением во внутреннюю среду организма и состоянием ЭТ-нейтрализующих систем [4]. Вместе с тем исследований, посвященных изу-

### Для корреспонденции:

Белоглазов Владимир Алексеевич, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой внутренней медицины № 2 Крымского государственного медицинского университета имени С.И.Георгиевского  
Адрес: 295017, Республика Крым, Симферополь, ул. Киевская, 69  
Телефон: (0652) 60-8598  
E-mail: biloglazov@mail.ru

Статья поступила 06.06.2014, принята к печати 17.09.2014

чению закономерностей изменения антиэндотоксинового (АЭТ) иммунитета в зависимости от тяжести течения БА явно недостаточно [5, 6].

Целью исследования было изучение состояния системного и местного АЭТ-иммунитета у больных со среднетяжелой и тяжелой персистирующей БА.

### Пациенты и методы

Обследованы 109 больных БА в возрасте от 18 до 60 лет (средний возраст —  $44,0 \pm 1,1$  года), 63 женщины и 46 мужчин, находившихся на амбулаторном лечении основного заболевания в соответствии с приказом МОЗ Украины от 19.03.07 № 128. Критерии включения в исследование: персистирующая БА III и IV степени; отсутствие обострения БА в течение 6 недель, предшествующих включению в исследование; комбинированная терапия БА (прием ингаляционных глюкокортикостероидов и  $\beta_2$ -агонистов длительного действия) не менее 1 года; отягощенный анамнез. Критерии исключения из исследования: хроническое обструктивное заболевание легких; острые и хронические инфекционные заболевания (активный туберкулез); тяжелые заболевания внутренних органов, нервной, эндокринной систем с нарушением их функции (системные заболевания соединительной ткани, неконтролируемый сахарный диабет, выраженная почечная, печеночная недостаточность, сердечная недостаточность IIА–III степени); курение; онкологические заболевания; операции, связанные с уменьшением объема легких; беременность.

Все больные были разделены на две клинические группы в зависимости от тяжести заболевания. В 1-ю группу вошли больные со среднетяжелой БА — 68 человек (62,4%), средний балл по опроснику АСQ —  $3,00 \pm 0,14$ , ОФВ<sub>1</sub> —  $67,01 \pm 2,10\%$ . Пациенты 1-й группы получали комбинированную терапию: сальметерол в дозе 50–100 мкг/сут и флутиказона пропионат в дозе 500–750 мкг/сут. Во 2-ю группу были включены больные с тяжелой БА — 41 человек (37,6%), средний балл по опроснику АСQ —  $4,06 \pm 0,12$ , ОФВ<sub>1</sub> —  $34,45 \pm 1,05\%$ . Пациенты 2-й клинической группы получали следующую комбинированную терапию: сальметерол в дозе 100 мкг/сут и флутиказона пропионат в дозе 1000 мкг/сут. Контрольную группу составили 23 здоровых донора в возрасте от 18 до 60 лет (средний возраст —  $39 \pm 2$  года), 13 женщин и 10 мужчин.

Уровень контроля над БА определяли с помощью опросника АСQ (Asthma Control Questionnaire) Elizabeth Juniper (1999). Оценку выраженности симптомов БА проводили по визуально-аналоговой балльной шкале: 0 баллов — симптом отсутствует, 6 баллов — симптом максимально выражен. Средние значения АСQ-теста до 0,75 балла рассматривали как контролируемую астму, от 0,75 до 1,5 балла — как частично контролируемую, более 1,5 балла — как неконтролируемую астму.

Уровни антиэндотоксиновых антител классов А, М, G (соответственно АЭТ-IgA, АЭТ-IgM, АЭТ-IgG) в сыворотке крови определяли методом твердофазного ИФА. В качестве антигена использовали коммерческий препарат липополисахарида *Escherichia coli* K235 (Sigma Chem. Co.,

USA). Содержание секреторного АЭТ-IgA (АЭТ-sIgA) и общего секреторного IgA (sIgA) в индуцированной мокроте оценивали с помощью метода твердофазного ИФА по протоколам, разработанным в лаборатории клинической иммунологии ЦНИЛ Крымского государственного медицинского университета им. С.И.Георгиевского [7]. Индуцированную мокроту получали в соответствии с рекомендациями Европейского респираторного общества [8].

Выраженность системного воспаления оценивали по концентрации С-реактивного белка (С-РБ), которую определяли высокочувствительным методом твердофазного ИФА («сэндвич»-вариант) с использованием биотин-стрептавидиновой системы усиления сигнала [9].

Полученные результаты представлены в виде медианы и интерквартильного размаха — Me (25–75-й процентиля). Для множественного сравнения использовали ранговый однофакторный анализ Крускала–Уоллиса и критерий Данна. Для выявления связи между признаками определяли коэффициент ранговой корреляции Спирмена ( $\rho$ ).

### Результаты исследования и их обсуждение

Результаты исследования гуморального антительного АЭТ-иммунитета и С-РБ у больных БА представлены в табл. 1. Видно, что уровень АЭТ-IgA в 1-й группе был достоверно выше нормального (полученного в контрольной группе) в 1,7 раза, во 2-й группе различий с нормой по данному показателю не выявлено, между 1-й и 2-й группами различий не зарегистрировано. Содержание АЭТ-IgM было повышенным в обеих группах больных БА по сравнению с нормой: в 1-й группе в 1,9 раза, во 2-й — в 2,0 раза; межгрупповых различий по данному показателю не установлено. При сравнении сывороточных концентраций АЭТ-IgG у больных 1-й и 2-й групп с нормой и между собой достоверных различий не определено. Установлено повышение концентрации С-РБ в обеих клинических группах больных БА: в 1-й группе — в 10,1 раза, во 2-й — в 14,4 раза. При этом выявлены и межгрупповые различия: наиболее высокий уровень С-РБ был отмечен у больных 2-й группы — с тяжелым течением БА.

Данные по содержанию общего sIgA и АЭТ-sIgA в индуцированной мокроте больных БА представлены в табл. 2. Видно, что эти показатели превышают уровень нормы в обеих группах: общий sIgA — в 2,1 раза, АЭТ-sIgA — в 5,3 раза. Межгрупповых различий по этим показателям не установлено.

Таким образом, нами выявлена высокая выраженность мукозального АЭТ-иммунитета у обследованных больных, что проявлялось в повышенном уровне сывороточного и секреторного АЭТ-IgA при среднетяжелой БА и в повышенном уровне секреторного АЭТ-IgA на фоне достоверно не отличавшегося от нормы сывороточного АЭТ-IgA при тяжелой БА. Полученные данные свидетельствуют о воздействии чрезмерного эндотоксинового стимула на уровне слизистых оболочек, причем выявленная дисфункция АЭТ-иммунитета отражает тяжесть и длительность течения заболевания.

В литературе высокий уровень sIgA рассматривается как отражение интенсивного антигенного стимула на сли-

Таблица 1. Уровень антиэндотоксиновых антител классов А, М, G и С-реактивного белка в сыворотке крови больных БА

Показатель	Контрольная группа, n = 23	1-я группа, n = 68	2-я группа, n = 41
АЭТ-IgA, ед. опт. плотн.	0,130 (0,107–0,187)	0,225 (0,170–0,311) <i>p</i> < 0,01	0,182 (0,153–0,235)
АЭТ-IgM, ед. опт. плотн.	0,095 (0,051–0,247)	0,179 (0,130–0,346) <i>p</i> < 0,01	0,194 (0,147–0,328) <i>p</i> < 0,01
АЭТ-IgG, ед. опт. плотн.	0,606 (0,431–0,894)	0,711 (0,560–0,892)	0,636 (0,495–1,588)
Уровень С-РБ, мг/л	0,20 (0,11–0,40)	2,02 (1,17–4,40) <i>p</i> < 0,01	2,88 (1,62–5,39) <i>p</i> < 0,01 <i>p</i> <sub>1</sub> < 0,05

*p* — уровень достоверности различий с контрольной группой; *p*<sub>1</sub> — достоверность различий между группами 1 и 2

Таблица 2. Уровень общего секреторного IgA и антиэндотоксинового секреторного IgA в индуцированной мокроте у больных БА

Показатель	Контрольная группа, n = 23	1-я группа, n = 68	2-я группа, n = 41
Общий sIgA, ед. опт. плотн.	31,10 (15,00–41,80)	66,75 (36,40–106,50) <i>p</i> < 0,01	66,60 (37,75–109,55) <i>p</i> < 0,01
АЭТ-sIgA, ед. опт. плотн.	0,037 (0,030–0,053)	0,193 (0,141–0,297) <i>p</i> < 0,01	0,195 (0,152–0,274) <i>p</i> < 0,01

*p* — уровень достоверности различий с контрольной группой

зистые оболочки при высоком уровне гуморального анти-тельного ответа. Например, повышенные уровни общего sIgA и АЭТ-sIgA были выявлены у больных неспецифическим язвенным колитом и больных с болезнью Крона. При этих заболеваниях регистрируется повышение транслокации ЭТ во внутренние среды организма и мукозальный барьер, по данным авторов, функционально не способен предотвратить ЭТ-агрессию [10]. По нашему мнению, несостоятельность мукозального АЭТ-иммунитета может быть связана как с самой молекулой АЭТ-sIgA (низкая аффинность к ЭТ), так и с нарушением слизистого барьера на уровне межэпителиальных соединений, в результате чего резко возрастает кишечная проницаемость по отношению к различным ксенобиотикам, включая ЭТ. При тяжелой бронхиальной астме ЭТ-агрессия может быть также связана с усилением шунтового кровотока (минуя печень, через портокавальные анастомозы) за счет активации симпатической нервной системы и применения значительных доз β<sub>2</sub>-симпатомиметиков [11].

Известно, что специфический АЭТ-IgA является строительным материалом для формирования АЭТ-sIgA. Повышение концентрации сывороточного IgA рассматривается как его участие в формировании периферического мукозального иммунного ответа на аллерген [12]. По нашим данным, во 2-й группе больных БА уровень АЭТ-IgA не отличался от такового в контрольной группе. Это, по нашему мнению, обусловлено истощением резервов данного звена АЭТ-иммунитета и связано с тяжестью течения хронического воспаления у больных рассматриваемой группы.

Уровни сывороточного АЭТ-IgG у больных в обеих клинических группах не отличались от нормы, что указывает на антительный нормореспондерный ответ на ЭТ [13]. Антительный нормореспондерный ответ на ЭТ можно объяснить либо повышенным потреблением данных антител

в процессе нейтрализации чрезмерного поступления ЭТ в системный кровоток на оси кишечник — порталный кровоток, либо преобладанием местного (ингаляционного) воздействия ЭТ окружающей среды, о чем свидетельствует повышенный уровень секреторного АЭТ-IgA. В то же время повышение концентрации в крови АЭТ-IgM косвенно подтверждает наличие системной антигенемии (эндотоксинемии) [14].

Известно, что с повышением уровня С-РБ увеличивается выраженность симптомов БА [15]. В нашем исследовании была зарегистрирована аналогичная тенденция. При этом выявлена положительная корреляционная связь (показатель ранговой корреляции Спирмена *p* = 0,782, *p* < 0,01) между уровнем С-РБ и средним баллом по опроснику ACQ. Поскольку С-РБ потенциально может отражать выраженность не только системного воспаления, но и нейтрофильного воспаления, индуцированного ЭТ при БА [16], полученные нами данные подтверждают важную роль ЭТ в патогенезе БА.

## Выводы

1. У больных с тяжелой и среднетяжелой персистирующей БА в индуцированной мокроте выявлено повышение показателей мукозального иммунитета: уровень секреторного АЭТ-IgA был повышен в 5,3 раза (*p* < 0,01), общего секреторного IgA — в 2,1 раза (*p* < 0,01) по сравнению с нормой.

2. У больных с тяжелой и среднетяжелой персистирующей БА зарегистрировано повышение сывороточного АЭТ-IgM в 2 раза (*p* < 0,05) относительно уровня нормы, что отражает активную транслокацию ЭТ (ингаляционного и кишечного происхождения) во внутренние среды организма на фоне неизмененного уровня АЭТ-IgG. Уровень АЭТ-IgA в 1-й группе был достоверно выше нормы

в 1,7 раза ( $p < 0,05$ ), во 2-й группе различий с нормой по данному показателю не установлено.

3. Выявленный дисбаланс антиэндотоксинового иммунитета требует разработки лечебных мероприятий, направленных на его устранение.

## Литература

1. Чучалин А.Г. Бронхиальная астма: новые перспективы в терапии // Тер. архив. 2012. №3. С.5–11.
2. Global strategy for asthma management and prevention [Electronic resource] // Global initiative for asthma [Official website]. URL: [http://www.ginasthma.org/local/uploads/files/GINA\\_Report\\_March13\\_1.pdf](http://www.ginasthma.org/local/uploads/files/GINA_Report_March13_1.pdf) (accessed: 12.05.2013).
3. Геренг Е.А., Суходоло И.В., Огородова Л.М. и др. Роль клеточных и молекулярных мишеней в формировании различных паттернов воспаления при гетерогенных фенотипах тяжелой бронхиальной астмы // Пульмонология. 2009. №5. С.78–82.
4. Thorne P.S., Kulhankova K., Yin M. et al. Endotoxin exposure is a risk factor for asthma: the national survey of endotoxin in United States housin // Am J Respir Crit Care Med. 2005. V.172. P.1371–1377.
5. Delfino R.J., Staimer N., Tjoa T. Personal endotoxin exposure in a panel study of school children with asthma [Electronic resource] // BMC [Official website]. Environmental Health 2011, 10:69. doi:10.1186/1476-069X-10-69 URL: <http://www.ehjournal.net/content/10/1/69> (accessed: 12.01.2014).
6. Знаменская Л.К. Антиэндотоксиновый иммунитет у больных бронхиальной астмой при специфической иммунотерапии: Автореф. дис. ... канд. мед. наук. Симферополь, 2011. 15 с.
7. Гордиенко А.И. Использование твердофазного иммуноферментного анализа для определения общего и антиэндотоксинового секреторного IgA человека // Тавричesk. мед.-биол. вестн. 2009. Т.12. №3 (47). С.82–89.
8. Paggiaro P.L., Chanez P., Holz O. et al. Sputum induction // Eur Respir J Suppl. 2002 Sep. V.37. P.3s–8s.
9. Гордієнко А.І., Білоглазов В.О., Бакова А.А. Високочутливий імуноферментний метод кількісного визначення вмісту С-реактивного білка в крові: інформаційний лист про нововведення в системі охорони здоров'я. К.: УКРМЕДПАТЕНТІНФОРМ, 2010. №139. 4 с.
10. Currie C.G., McCallum K., Poxton I.R. Mucosal and systemic antibody responses to the lipopolysaccharide of Escherichia coli O157 in health and disease // J Med Microbiol. 2001. V.50 (4). P.345–354.
11. Аниховская И.А., Опарина О.Н., Яковлева М.М. и др. Кишечный эндотоксин как универсальный фактор адаптации и патогенеза общего адаптационного синдрома // Физиол. чел. 2006. Т.32. №2. С.87–91.
12. Möller C., Dreborg S., Ferdousi H.A. et al. Pollen immunotherapy reduces the development of asthma in children with seasonal rhinoconjunctivitis (the PAT-study) // J Allergy Clin Immunol. 2002. V.109 (2). P.251–256.
13. Гордиенко А.И., Бакова А.И., Химич Н.В., Белоглазов В.А. Уровни естественных антител к липополисахаридам энтеробактерий у постоянных доноров республики Крым // Імунологія та алергологія. 2003. №4. С.31–36.
14. Радзівіл П.М., Білоглазов В.О. Аналіз показників антиендотоксинового імунітету хворих на грамнегативну позагоспітальну та госпітальну пневмоній з летальним результатом // Вісник наукових досліджень. 2008. Т.52. №3. С.35–37.
15. Takemura M., Matsumoto H., Niimi A. et al. High sensitivity C-reactive protein in asthma // Eur Respir J. 2006. V.27 (5). P.908–912.
16. Simpson J.L., Grissell T.V., Douwes J. et al. Innate immune activation in neutrophilic asthma and bronchiectasis // Thorax. 2007. V.62 (3). P.211–218.

## Информация об авторе:

Попенко Юлия Олеговна, аспирант кафедры внутренней медицины № 2 Крымского государственного медицинского университета имени С.И.Георгиевского  
 Адрес: 295017, Республика Крым, Симферополь, ул. Киевская, 69  
 Телефон: (0652) 60-8598  
 E-mail: juska\_@mail.ru



# Способы моделирования острого панкреатита (обзор литературы)

М.А.Агапов<sup>1</sup>, В.А.Горский<sup>1</sup>, В.А.Петров<sup>1</sup>, М.Д.Поливода<sup>1</sup>, А.Ю.Кравченко<sup>2</sup>, А.И.Баттаев<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, Москва (ректор — проф. А.Г.Камкин);

<sup>2</sup>Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М.Сеченова (ректор — чл.-кор. РАМН, проф. П.В.Глыбочко);

<sup>3</sup>Главный военный клинический госпиталь ФСБ России, Голицыно, Московская область (начальник — проф. В.В.Кичин)

Изучение патогенеза острого панкреатита и исследование новых лечебных стратегий являются одними из основных научных направлений urgentной хирургии. В связи с этим экспериментальные модели острого панкреатита до сих пор остаются важным исследовательским инструментом. В данном обзоре представлены инвазивные и неинвазивные модели острого панкреатита. Обсуждаются как недостатки, так и положительные свойства каждой модели.

*Ключевые слова:* острый панкреатит, экспериментальные модели

## Modeling Techniques of Acute Pancreatitis: A Literature Review

М.А.Агапов<sup>1</sup>, В.А.Горский<sup>1</sup>, В.А.Петров<sup>1</sup>, М.Д.Поливода<sup>1</sup>, А.Ю.Кравченко<sup>2</sup>, А.И.Баттаев<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow (Rector — Prof. A.G.Kamkin);

<sup>2</sup>I.M.Sechenov First Moscow State Medical University (Rector — Corr. Member of RAMS, Prof. P.V.Glybochko);

<sup>3</sup>Main Military Clinical Hospital of the Russian FSS, Golitsyno, Moscow Region (Head — Prof. V.V.Kichin)

The study of pathogenesis of acute pancreatitis and exploration of new treatment strategies are among the main scientific directions of urgent surgery. In connection with this, experimental models of acute pancreatitis are still an important research tool. In this review the invasive and noninvasive models of acute pancreatitis are presented. There are discussed disadvantages and positive features of each model.

*Key words:* acute pancreatitis, experimental models

Субклеточные механизмы развития острого панкреатита (ОП) до сих пор не известны. Возможности терапевтического воздействия ограничены из-за отсутствия понимания молекулярных аспектов течения данного заболевания. Именно поэтому исследование патофизиологических процессов, лежащих в основе развития ОП, должно привести к появлению новых патогенетически целесообразных стратегий лечения. Незаменимым подспорьем в данном вопросе остается изучение ОП в эксперименте на лабораторных животных.

До конца 1970-х гг. XX века основными лабораторными животными для моделирования ОП были собаки. В настоящее время, учитывая экономический и этический аспекты, чаще для проведения экспериментов используют мышей, крыс, опоссумов и кроликов. Безусловно, один из ключевых параметров при выборе лабораторного животного — необходимость в последующей экстраполяции полученных результатов на организм человека, поэтому следует учитывать также анатомические и физиологические различия.

К настоящему времени предложено множество методик для изучения ОП. Группа методик, связанных с различными видами размождения поджелудочной железы (ПЖ) (травматические), в настоящее время интересна только в историческом аспекте, так как не отвечает в достаточной мере требованию экстраполяции патологического процесса. Сюда следует отнести термические (раскаленным инструментом типа металлической «гребенки»), механические травмы ПЖ [1]. Те же недостатки присущи и токсико-инфекционной группе. Это методы,

### Для корреспонденции:

Агапов Михаил Андреевич, доктор медицинских наук, доцент кафедры экспериментальной и клинической хирургии медико-биологического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова

Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1

Телефон: (495) 952-9677

E-mail: getinfo911@mail.ru

Статья поступила 04.04.2014, принята к печати 17.09.2014

основанные на введении непосредственно в ткань ПЖ желчи, скипидара, хлорэтила, растворов хлористоводородной кислоты, хлорида цинка, хромовой кислоты. Исходом таких воздействий является склероз паренхимы [2].

Для удобства изложения материала мы предприняли попытку разделить существующие модели ОП на инвазивные и неинвазивные.

### **Неинвазивные модели острого панкреатита**

Одними из первых, кто предложил для развития ОП стимуляцию работы ПЖ, были Lium и Portsmouth (1948). При этом в качестве стимуляторов использовали различные вещества (инсулин подкожно, пилокарпин подкожно, эзерин внутримышечно, промолотая печень с молоком или сметана 2 раза в день) [3]. Данные модели по своей эффективности в значительной степени уступают церулеиновой модели ОП.

**Инъекция церулеина.** Церулеин (синтетический аналог холецистокинин-панкреозимина) успешно использовали для моделирования ОП у крыс [4], мышей [5], собак [6] и сирийских хомяков [7]. Считается, что ОП можно индуцировать путем внутривенного, подкожного или внутрибрюшинного введения препарата. Церулеин вызывает увеличение секреции протеолитических ферментов до уровней, необходимых для развития аутолиза ацинарных клеток [8].

Инфузия сверхмаксимальных доз церулеина приводит к снижению секреции и развитию ОП с характерным интерстициальным отеком, воспалительной инфильтрацией и в некоторых случаях — с присоединением некроза [9]. У мышей церулеин вызывает тяжелый ОП, сопровождающийся некрозом около 40% ацинарных клеток [5]. Церулеиновая модель характеризуется простотой воспроизведения, мини-инвазивностью и, как следствие, отсутствием отрицательных моментов лапаротомии, поэтому в настоящее время является одной из наиболее востребованных для индукции ОП.

**Алкоголь-индуцированные модели острого панкреатита.** Эффекты этанола, оказываемые на ткань ПЖ, были также исследованы в эксперименте. Необходимо отметить, что данную модель, несмотря на кажущуюся простоту, достаточно сложно воспроизвести [10]. В свое время разрабатывались модели, основанные на введении этанола в панкреатический проток или ткань ПЖ [11].

При создании алкогольной модели ОП можно использовать разные пути введения этанола: внутривенный, пероральный, внутрижелудочный. Морфологические изменения ПЖ при данной модели зависят от вида животного, дозы вводимого этанола и наличия или отсутствия предварительной сенсibilизации. Этанол приводит к развитию ОП путем интрапанкреатической активации ферментов, или патологической стимуляции ацинарных клеток, или путем стимуляции секреторных клеток двенадцатиперстной кишки [12].

K.R.Wedgwood и соавт. [13] в своем исследовании для индукции ОП у кошек использовали пероральное введение этанола (этанол 20% в молоке, 10 мл/кг каждые 8 ч в

течение 48 ч). H.S.Friedman и соавт. [14] изучали влияние этанола на состояние кровотока в ПЖ у собак. Они обнаружили снижение уровня кровотока после внутривенного введения этанола, причем доза соответствовала легкой или умеренной степени алкогольной интоксикации у человека. J.Werner и соавт. [15] в своих работах изучали влияние на ПЖ крыс Sprague–Dawley не самого этанола, а продуктов его метаболизма, и в частности этилового эфира жирных кислот. При этом наблюдались активация трипсиногена и патоморфологические изменения — развитие отека ПЖ, вакуолизация ацинарных клеток. Кроме того, авторы пришли к выводу, что концентрации этилового эфира жирных кислот, обнаруженные в плазме крови у человека, соответствуют концентрациям, оказывающим повреждающее действие на ПЖ у крыс.

Таким образом, алкогольные модели просты в исполнении и достаточно дешевы. К минусам данной группы можно отнести обратимость и плохую воспроизводимость.

**Иммунологически индуцированные модели острого панкреатита (аллергические модели).** Аллергические модели ОП основаны на воспроизведении феноменов Артюса или Шварцмана. A.Thal и соавт. [16] одни из первых описали иммунологически индуцированную модель ОП. В эксперименте были использованы козы и кролики, которым вводили токсины *Escherichia coli* и *meningococci* в панкреатический проток (феномен Шварцмана). Это приводило к локальной воспалительной реакции с последующим развитием геморрагического панкреонекроза (ПН). В другом исследовании A.Thal и соавт. [17], связанном с феноменом Артюса, были использованы кролики, сенсibilизированные внутривенным или подкожным введением овальбумина. При этом степень ОП варьировала от развития острого отечного панкреатита до тяжелого ПН. Аллергическую модель ОП также исследовали A.M.Фундылер (1940) и Н.Н.Кореневич (1966). Эти эксперименты были повторены и подтверждены С.А.Stetson (1951), R.Good и L.Thomas (1953) [3].

В настоящее время иммунологически индуцированные модели очень редко используются для изучения ОП. Это объясняется технической сложностью исполнения, дороговизной, ограниченной воспроизводимостью и, конечно, низкой клинической значимостью. При этом использование моделей данной группы оправдано для исследования патогенеза ОП, индуцированного токсинами или наркотическими препаратами [18].

**Модели острого панкреатита, индуцированные диетой.** С.А.Шалимов и Е.Б.Медвецкий в совместных работах показали, что при добавлении крысам в пищу водного раствора фенола (10 мг/кг) в течение 6 мес развивается склероз с последующей кистозной трансформацией ПЖ без видимых признаков воспаления [2].

V.Lombardi и соавт. [19] первыми описали развитие ОП у молодых самок мышей при кормлении их пищей, не содержащей холина и дополненной этионином. В результате такой диеты развивается геморрагический ПН с системными осложнениями (ацидоз, гипоксия, гиповолемия). Уровень смертности на 4-е сутки варьирует от 0 до 100% и может контролироваться продолжительностью диеты [20]. Если животным давать достаточное количе-

ство холина в сочетании с 0,5% этионином, то летальность приближается к 10%. При этом холин-дефицитная диета без этионина не приводит к развитию ОП и не сопровождается гибелью животных [19].

Преимущества рассматриваемой модели — хорошая воспроизводимость, простота исполнения, доступность, низкий уровень развития инфицированного ПН (порядка 3–8%) [19], а также возможность контроля уровня летальности. Недостатки модели связаны с несоответствием этиологии ОП у человека. При этом существенное значение имеет тот факт, что системные осложнения, характерные для данной модели, связаны не столько с возникновением ОП, сколько с развитием других осложнений соответствующей диеты (паратит, жировая дистрофия печени). Это в значительной степени затрудняет изучение системных осложнений ОП.

**Модель острого панкреатита с использованием L-аргинина.** Т. Mizunuma и соавт. разработали другую неинвазивную модель ОП. Крысам вводили большую дозу L-аргинина. При этом исследователи наблюдали развитие ПН с летальностью до 2,5% [21].

В 2004 г. Р. Негуи и соавт. [22] описали фазы развития аргинин-индуцированного ОП у крыс. Начальная фаза ОП характеризуется острым воспалением ткани ПЖ с межклеточным отеком, лейкоцитарной инфильтрацией, дилатацией капилляров и микрофокальными некрозами паренхимы. При этом островки Лангерганса остаются неповрежденными. В последующем, к концу первой недели, в ткани ПЖ появляются жировые вкрапления, являющиеся признаками атрофии поврежденных участков. Клинические проявления данной модели сопровождаются гиповолемией и полиорганной (легочной, почечной и печеночной) недостаточностью [23]. Таким образом, L-аргининовая модель является особенно эффективной для изучения механизмов развития системных осложнений ОП.

### Инвазивные модели ОП

История данных методик нашла свое отражение еще в работах И.П. Павлова, где было доказано, что изолированная перевязка панкреатического протока сопровождается только развитием фиброза ткани ПЖ [24]. Следует остановиться на наиболее эффективных и востребованных в настоящее время моделях.

**Окклюзия петли двенадцатиперстной кишки.** Модель заключается в перекрытии просвета двенадцатиперстной кишки проксимальнее и дистальнее фатерова соска, что приводит к забросу дуоденального содержимого в билиопанкреатический проток. Впервые эта модель была предложена R.V. Pfeffer и соавт. При этом в течение 9–11 ч исследователи наблюдали развитие некроза с геморрагическим пропитыванием ПЖ. Вместе с тем воспалительные изменения и проявления жирового некроза в ткани обнаружены не были. Именно поэтому сделано предположение о том, что данная модель в большей степени подходит для изучения первичного некроза ПЖ, развивающегося без явлений воспаления, и что ведущим фактором патогенеза является сосудистый [25].

U. Chetty и соавт. модифицировали описанную выше методику: они под давлением вводили в перевязанную двенадцатиперстную кишку инфицированную желчь. Это приводило к развитию выраженного смешанного (геморрагического и жирового) ПН. В отличие от R.V. Pfeffer и соавт., данным исследователям удалось добиться развития более тяжелого ПН [26].

Помимо детального изучения патогенеза ОП методика с временной окклюзией двенадцатиперстной кишки позволила исследовать некоторые стратегии лечения. Так, впервые экспериментально было изучено влияние на течение ОП ингибиторов протеаз и трипсина, соматостатина [27], простагландина E<sub>1</sub>, вазопрессина и декстрана 40 [28]. Данная модель, несмотря на свою простоту, не получила широкого распространения из-за появления более совершенных методик.

**Перфузия билиопанкреатического протока.** В настоящее время одна из популярных моделей развития ОП — введение желчи в панкреатический проток. При этом тяжелый ОП развивается в течение 2–24 ч. Тяжесть ОП и его соотношение с таковым у человека зависят от концентрации и состава желчи, давления, объема и времени введения [29]. Таким образом, у экспериментатора существует возможность «управлять» тяжестью заболевания, главным образом посредством изменения давления в протоке или концентрации солей желчных кислот.

Перфузию билиопанкреатического протока проводили как у собак, так и у мелких лабораторных животных — крыс. У собак при введении в панкреатический проток аутожелчи или смеси желчи с трипсином развивается картина геморрагического ПН, сопровождающегося гибелью животных в течение 24 ч [3]. Сейчас чаще всего средой для проведения этой методики служит соленая желчь с различными показателями гидрофобности.

Безусловные преимущества данной модели — быстрота развития ОП, воспроизводимость и соответствие патофизиологической картины. Кроме того, отсутствует прямое влияние данного метода на моторику кишечника и состав микрофлоры. Факторы, снижающие ценность модели, — ее трудоемкость, а также возможность попадания в билиопанкреатический проток бактерий из двенадцатиперстной кишки наряду с желчью.

**Перфузия билиопанкреатического протока и одномоментная гиперстимуляция секреции.** Модель развития ОП, вызываемая комбинацией ретроградного введения в билиопанкреатический проток гликодезоксихолевой кислоты и гиперстимуляции церулеином (внутривенно), позиционировалась J. Schmidt и соавт. как оптимальная для оценки новых подходов к лечению [30]. Хотя модель имеет все недостатки двух методик, из которых состоит, она оказалась достаточно ценной для изучения процессов, происходящих при ПН. Ее главное преимущество — оптимальная сопоставимость по характеру течения, патофизиологии и микробиологическим параметрам с ОП у человека [30].

**Перевязка желчного протока.** Для данной модели характерна перевязка желчного протока ниже места впадения в него панкреатического, т.е. в непосредственной близости к стенке двенадцатиперстной кишки. Данная

модель по своим патогенетическим механизмам очень близка к билиарному ОП у человека.

При перевязке желчного протока у крыс и мышей происходит развитие ПН, характеризующегося умеренной воспалительной реакцией, геморрагическим пропитыванием, некрозом ацинарных клеток и наличием участков стеатонекроза. Кроме того, может развиваться полиорганный недостаток. В таких случаях, помимо изменений в поджелудочной железе, можно обнаружить наличие микротромбов в легких, желудке и почках [31].

Модель с перевязкой желчного протока является достаточно трудоемкой и дорогой и обладает низкой воспроизводимостью. При этом у крыс, мышей и опоссумов развивается механическая желтуха, что приводит к изменению параметров иммунной системы [32]. Эти эффекты значительно усложняют интерпретацию полученных результатов.

#### **Вмешательства на сосудах поджелудочной железы.**

Целью нижеописанных моделей была оценка сосудистого фактора в патогенезе ПН. Нарушение микроциркуляции является основной причиной смерти в ходе тяжелого ОП. Экспериментальные данные свидетельствуют о том, что нарушения микроциркуляции инициируют повреждение ткани не только ПЖ, но и толстой кишки, печени, легких и почек [33].

В 1962 г. **R.B.Pfeffer и соавт. обнаружили, что при внутрисосудистом введении микросфер диаметром 10–20 мкм развивается острый геморрагической ПН.** Данная модель может быть использована для исследования коагулопатии, микротромбозов, возникающих при ПН. Та же группа авторов выполняла перевязку верхней панкреатодуоденальной артерии, которая сопровождалась некрозом паренхимы в области головки ПЖ. Основным недостатком данной модели — ее плохая воспроизводимость [34].

Нарушение венозного оттока само по себе влияет на течение патологического процесса в ПЖ. Это связано с тем, что при протоковой гипертензии ферменты попадают в периацинарные пространства, где контактируют с продуктами гемолиза эритроцитов, появляющихся там вследствие развивающейся портальной гипертензии. Образующиеся в результате этого производные гема являются токсичными веществами, вызывающими вторичную альтерацию ацинарных клеток [2].

**Вмешательства на нервах ПЖ.** Т.Kusunoki (1936) показал, что перерезка чревных нервов приводит к утяжелению течения экспериментального панкреатита, вызванного внутривенным введением желчи, в то время как двусторонняя поддиафрагмальная ваготомия не оказывает такого влияния или, наоборот, является смягчающим (лечебным) фактором.

А.С.Вольпе и соавт. (1955) наблюдали ОП у кошек при хроническом раздражении солнечного сплетения инъекцией в него угольной взвеси и пищевой стимуляции функции ПЖ ежедневным внутривенным введением 40 мл жира [3].

#### **Заключение**

Тенденции развития экспериментальной науки обусловлены наличием нерешенных проблем в современной

хирургии. Одна из таких проблем — отсутствие снижения показателя летальности от ОП, наблюдаемое в течение последних десятилетий. Основное количество летальных исходов связано с полиорганный недостаточностью в начальной фазе заболевания или с осложнениями инфицированного ПН.

Для экспериментального исследования первой стадии ОП с синдромом системной воспалительной реакции и полиорганный недостаточностью необходимо создание модели с обширной деструкцией ткани ПЖ и наличием системных проявлений. Анализ литературы показывает, что модели перфузии билиопанкреатического протока и безхолиновая диета у мышей приводят к соответствующим морфологическим изменениям ПЖ и показателям летальности, сопоставимым с таковыми в человеческой популяции.

Для изучения поздних инфекционных осложнений ОП оптимальными являются модели с низким уровнем летальности и сохранением условий для бактериальной транслокации. Наиболее эффективной является модель с окклюзией просвета двенадцатиперстной кишки. При анализе результатов необходимо учитывать, что в данных моделях происходит рефлюкс микроорганизмов через билиопанкреатический проток.

Что касается исследования новых терапевтических стратегий, то в эксперименте лечение начинается сразу после индукции ОП. По этой причине интерпретировать данные результаты достаточно сложно. С другой стороны, у грызунов течение ОП более стремительное, чем у человека, и поэтому «терапевтическое окно» (возможность эффективной терапии до появления осложнений) значительно уже, что может привести к ложноотрицательному результату исследования.

Многие модели ОП в настоящее время утратили свою актуальность. Современные методики основаны на базовых принципах, проистекающих из известных нам основ патогенеза данного заболевания. Несмотря на это, идеальная модель ОП, с помощью которой можно было бы оценить патофизиологию осложнений, возможность лечения и профилактики, еще не найдена. Каждая из вышеприведенных моделей имеет свои недостатки, но и не лишена преимуществ. Это необходимо учитывать перед проектированием исследования и при интерпретации полученных результатов.

#### **Литература**

1. Лопухин Ю.М. Экспериментальная хирургия. М.: Медицина, 1971. С.92–93.
2. Шалимов С.А., Радзиховский А.П., Кейсевич Л.В. Руководство по экспериментальной хирургии. М.: Медицина, 1989. С.190–205.
3. Лопухин Ю.М., Владимиров В.Г., Журавлев А.Г. Экспериментальная хирургия. М.: Династия, 2011. С.142–150.
4. Watanabe O., Baccino F.M., Steer M.L., Meldolesi J. Supramaximal caerulein stimulation and ultrastructure of rat pancreatic acinar cell: early morphological changes during development of experimental pancreatitis // *Am J Physiol.* 1984. V.246 (4 Pt. 1). P.G457–G467.
5. Niederau C., Ferrell L.D., Grendell J.H. Caerulein-induced acute necrotizing pancreatitis in mice: protective effects of proglumide, benzotript, and secretin // *Gastroenterology.* 1985. V.88 (5 Pt. 1). P.1192–1204.

6. Renner I.G., Wisner J.R. Jr. Exogenous secretin ameliorates ceruletide induced acute pancreatitis in the dog // *Dig Dis Sci.* 1983. V.28. P.946.
7. Adler G., Kern H.F., Scheele G.A. Experimental models and concepts in acute pancreatitis // *The exocrine pancreas: biology, pathobiology, diseases* / Ed. by V.W.L.Go. New York: Raven Press, 1986. P.234–238.
8. Konturek S.J., Dembinski A., Konturek P.J. et al. Role of platelet activating factor in pathogenesis of acute pancreatitis in rats // *Gut.* 1992. V.33 (9). P.1268–1274.
9. Lampel M., Kern H.F. Acute interstitial pancreatitis in the rat induced by excessive doses of a pancreatic secretagogue // *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol.* 1977. V.373 (2). P.97–117.
10. Andrzejewska A., Dlugosz J.W., Jurkowska G. The effect of antecedent acute ethanol ingestion on the pancreas ultrastructure in taurocholate pancreatitis in rats // *Exp Mol Pathol.* 1998. V.65 (2). P.64–77.
11. Foitzik T., Lewandowski K.B., Fernandez-del Castillo C. et al. Exocrine hyperstimulation but not pancreatic duct obstruction increases the susceptibility to alcohol-related pancreatic injury // *Arch Surg.* 1994. V.129 (10). P.1081–1085.
12. Saluja A.K., Lu L., Yamaguchi Y. et al. A cholecystokinin-releasing factor mediates ethanol-induced stimulation of rat pancreatic secretion // *J Clin Invest.* 1997. V.99 (3). P.506–512.
13. Wedgwood K.R., Adler G., Kern H., Reber H.A. Effects of oral agents on pancreatic duct permeability. A model of acute alcoholic pancreatitis // *Dig Dis Sci.* 1986. V.31 (10). P.1081–1088.
14. Friedman H.S., Lowery R., Shaughnessy E., Scorza J. The effects of ethanol on pancreatic blood flow in awake and anesthetized dogs // *Proc Soc Exp Biol Med.* 1983. V.174 (3). P.377–382.
15. Werner J., Laposata M., Fernandez-del Castillo C. et al. Pancreatic injury in rats induced by fatty acid ethyl ester, a nonoxidative metabolite of alcohol // *Gastroenterology.* 1997. V.113 (1). P.286–294.
16. Thal A., Brackney E. Acute hemorrhagic pancreatic necrosis produced by local Shwartzman reaction: experimental study on pancreatitis // *J Am Med Assoc.* 1954. V.155 (6). P.569–574.
17. Thal A. Studies on pancreatitis. II. Acute pancreatic necrosis produced experimentally by the arthus sensitization reaction // *Surgery.* 1955. V.37 (6). P.911–917.
18. Banerjee A.K., Galloway S.W., Kingsnorth A.N. Experimental models of acute pancreatitis // *Br J Surg.* 1994. V.81 (8). P.1096–1103.
19. Lombardi B. Influence of dietary factors on the pancreatotoxicity of ethionine // *Am J Pathol.* 1976. V.84 (3). P.633–648.
20. Niederau C., Luthen R., Niederau M.C. et al. Acute experimental hemorrhagic-necrotizing pancreatitis induced by feeding a choline-deficient, ethionine-supplemented diet. Methodology and standards // *Eur Surg Res.* 1992. V.24 (Suppl 1). P.40–54.
21. Mizunuma T., Kawamura S., Kishino Y. Effects of injecting excess arginine on rat pancreas // *J Nutr.* 1984. V.114 (3). P.467–471.
22. Hegyi P., Rakonczay Z. Jr., Sari R. et al. L-arginine-induced experimental pancreatitis // *World J Gastroenterol.* 2004. V.10 (14). P.2003–2009.
23. Steinberg W., Tenner S. Acute pancreatitis // *N Engl J Med.* 1994. V.330 (17). P.1198–1210.
24. Павлов И.П. Лекции о работе главных пищеварительных желез. 6-е изд. М.: Либроком, 2010. 248 с.
25. Pfeffer R.B., Stasior O., Hinton J.W. The clinical picture of the sequential development of acute hemorrhagic pancreatitis in the dog // *Surg Forum.* 1957. V.8. P.248–251.
26. Chetty U., Gilmour H.M., Taylor T.V. Experimental acute pancreatitis in the rat — a new model // *Gut.* 1980. V.21 (2). P.115–117.
27. De Rai P., Franciosi C., Confalonieri G.M. et al. Effects of somatostatin on acute pancreatitis induced in rats by injection of taurocholate and trypsin into a temporarily closed duodenal loop // *Int J Pancreatol.* 1988. V.3 (5). P.367–373.
28. Crockett K.V., Reising J.R., Wirman J.A. et al. Effect of Dextran 40 and aprotinin on experimental acute pancreatitis // *J Surg Res.* 1984. V.36 (3). P.256–264.
29. Armstrong C.P., Taylor T.V., Torrance H.B. Effects of bile, infection and pressure on pancreatic duct integrity // *Br J Surg.* 1985. V.72 (10). P.792–795.
30. Schmidt J., Rattner D.W., Lewandowski K. et al. A better model of acute pancreatitis for evaluating therapy // *Ann Surg.* 1992. V.215 (1). P.44–56.
31. Vasilescu C., Tasca C. Acute experimental pancreatitis — morphological evidence for the development of a multiple organ failure syndrome // *Rom J Morphol Embryol.* 1991. V.37 (1–2). P.25–29.
32. Sheen-Chen S.M., Eng H.L., Hung K.S. Altered serum transforming growth factor-beta1 and monocyte chemoattractant protein-1 levels in obstructive jaundice // *World J Surg.* 2004. V.28 (10). P.967–970.
33. Bassi D., Kollias N., Fernandez-del Castillo C. et al. Impairment of pancreatic microcirculation correlates with the severity of acute experimental pancreatitis // *J Am Coll Surg.* 1994. V.179 (3). P.257–263.
34. Pfeffer R.B., Lazzarini-Robertson A. Jr., Safadi D. et al. Gradations of pancreatitis, edematous, through hemorrhagic, experimentally produced by controlled injection of microspheres into blood vessels in dogs // *Surgery.* 1962. V.51. P.764–769.

---

**Информация об авторах:**

Горский Виктор Александрович, доктор медицинских наук, профессор, и.о. заведующего кафедрой экспериментальной и клинической хирургии медико-биологического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова  
 Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1  
 Телефон: (495) 952-9677  
 E-mail: gorviks@yandex.ru

Петров Владимир Александрович, кандидат биологических наук, доцент, профессор кафедры общей и медицинской биофизики медико-биологического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова  
 Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1  
 Телефон: (495) 434-3118  
 E-mail: vladimpetrov@mail.ru

Поливода Михаил Дмитриевич, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник отдела экспериментальной хирургии НИИ фундаментальных и прикладных биомедицинских исследований Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова  
 Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1  
 Телефон: (495) 434-1401  
 E-mail: oett@rsmu.ru

Кравченко Александр Юрьевич, кандидат медицинских наук, доцент кафедры колопроктологии и эндоскопической хирургии Первого Московского государственного медицинского университета им. И.М.Сеченова  
 Адрес: 119435, Москва, ул. Погодина, 1, стр. 1  
 Телефон: (495) 952-9677  
 E-mail: getinfo911@mail.ru

Баттаев Алан Ильясович, врач-хирург Главного военного клинического госпиталя ФСБ России  
 Адрес: 143040, МО, Голицыно, Петровское ш., 48  
 Телефон: (495) 952-9677  
 E-mail: getinfo911@mail.ru

# Эффективность сочетанной анестезии при выполнении обширных лапароскопических операций на органах желудочно-кишечного тракта

С.В.Свиридов, А.А.Малышев

*Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, кафедра анестезиологии, реаниматологии и интенсивной терапии лечебного факультета, Москва (зав. кафедрой — проф. С.В.Свиридов)*

Цель исследования — оценить эффективность мультимодального обезболивания пациентов после обширных лапароскопических операций на органах желудочно-кишечного тракта (ЖКТ). Обследованы 127 хирургических больных в возрасте  $65 \pm 13$  лет, оперированных в плановом порядке с применением лапароскопической техники (1-я группа) либо лапаротомным доступом (2-я группа). По методу обезболивания в 1-й группе выделены две подгруппы: в 1А подгруппе применялось комбинирование ненаркотических противовоспалительных препаратов и эпидуральной анальгезии (ЭА), в 1Б подгруппе ЭА не применялась. Обезболивание у пациентов 2-й группы выполнялось по методике 1А подгруппы. В послеоперационном периоде на 2, 6 и 11-е сутки выполнена динамическая оценка параметров центральной гемодинамики (ЦГД) с использованием неинвазивной реографической методики, а также оценка болевого синдрома и физической активности. Выявлено раннее восстановление физической активности в 1Б подгруппе, несмотря на более интенсивный послеоперационный болевой синдром в сравнении с 1А и 2-й группами. При оценке параметров ЦГД отмечено наибольшее снижение сократительной способности миокарда в 1Б подгруппе с последующим восстановлением исходных значений к 11-м суткам послеоперационного периода. По результатам исследования сделано заключение о том, что ЭА следует считать обязательным компонентом интра- и послеоперационного обезболивания при выполнении обширных лапароскопических операций на органах ЖКТ.

*Ключевые слова: лапароскопия, сочетанная анестезия, эпидуральная анальгезия, пневмоперитонеум, малоинвазивная хирургия, абдоминальная хирургия*

## Efficiency of Combined Anesthesia in Extensive Laparoscopic Surgery of Gastrointestinal Tract

S.V.Sviridov, A.A.Malyshev

*Pirogov Russian National Research Medical University, Department of Anesthesiology, Resuscitation and Intensive Therapy of Medical Faculty, Moscow (Head of the Department — Prof. S.V.Sviridov)*

The purpose of the study was to evaluate the efficiency of multimodal analgesia in patients after extensive laparoscopic surgery on the organs of the gastrointestinal tract (GIT). The study involved 127 surgical patients aged  $65 \pm 13$  years, operated routinely using the laparoscopic technique (group 1) or laparotomy (group 2). According to the method of anesthesia in the first group there were identified 2 subgroups: in the 1A subgroup there was used a combination of non-narcotic anti-inflammatory drugs and epidural analgesia (EA) and in the 1B subgroup epidural analgesia was not applied. Anesthesia in patients of group 2 was performed according to the method of the 1A subgroup. In the postoperative period, on the 2<sup>nd</sup>, 6<sup>th</sup> and 11<sup>th</sup> days there was made a dynamic estimation of parameters of central hemodynamics (CHD) using noninvasive rheographic techniques; as well as an assessment of pain and physical activity. There was identified early recovery of physical activity in the 1B subgroup, despite more intense pain syndrome in comparison with the 1A and the 2<sup>nd</sup> groups. The estimation of parameters of CHD had the highest decrease of myocardial contractility in the 1B subgroup followed by reduction of the initial values by the 11<sup>th</sup> day. According to the results of the study there was made a conclusion that the epidural analgesia should be considered as a mandatory component of intra- and postoperative anesthesia when performing extensive laparoscopic surgery on the organs of the gastrointestinal tract.

*Key words: laparoscopy, combined anesthesia, epidural analgesia, pneumoperitoneum, mini-invasive surgery, abdominal surgery*

### Для корреспонденции:

Малышев Анатолий Анатольевич, ассистент кафедры анестезиологии, реаниматологии и интенсивной терапии лечебного факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова

Адрес: 115093, Москва, ул. Павловская, 25

Телефон: (495) 955-6597

E-mail: hypokrat@list.ru

Статья поступила 02.09.2014, принята к печати 17.09.2014

Современные подходы к анестезиологическому обеспечению обширных абдоминальных операций определяют целесообразность проведения сочетанной анестезии непосредственно на интраоперационном этапе и пролонгированной эпидуральной анальгезии (ПЭА) в комбинации с ненаркотическими противовоспалительными препаратами (НПВП), слабым или сильным наркотическим анальгетиком, спазмолитиком, адъювантами и дру-

гими лекарственными средствами в послеоперационном периоде. Данная тактика общепризнана, широко применяется в клинической практике и обеспечивает пациентам высокое качество антистрессовой защиты [1–3].

За последние годы в структуре оперативных вмешательств на органах желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) и гепатобилиарной зоны существенно возросло число эндовидеоскопических операций. Это веление времени, и с этим нельзя не считаться. Кроме того, результаты операций с использованием эндовидеоскопических методов в абдоминальной хирургии принципиально изменили взгляд клиницистов на возможность ранней послеоперационной реабилитации пациентов, существенно сократилось время лечения больных в отделениях интенсивной терапии (ОИТ) и в стационаре, снизилось число послеоперационных инфекционных осложнений, более сдержанной стала периоперационная инфузионно-трансфузионная терапия и пр. [4–6]. В связи с этим стало формироваться мнение о том, что классические подходы к анестезиологическому обеспечению пациентов в абдоминальной хирургии должны быть пересмотрены. В частности, ряд исследователей ставят под сомнение целесообразность проведения сочетанной анестезии при эндовидеоскопических операциях на органах ЖКТ [4, 7], т.е. применение эпидуральной анальгезии в системе интра- и послеоперационного обезболивания не считается обязательным. В качестве основного аргумента против ПЭА используется положение о малой травматичности хирургического доступа при проведении операций под эндовидеоконтролем, что определяет, в свою очередь, менее выраженный послеоперационный болевой синдром (ПБС), для устранения которого достаточно лишь назначения НПВП и слабых опиатов. Кроме того, полагают, что исключив ПЭА из системы анестезиологического обеспечения лапароскопических операций, можно добиться большей гемодинамической стабильности у пациентов, так как устраняется фактор гипотонии за счет симпатического блока после введения в эпидуральное пространство раствора местного анестетика. В то же время не всегда отмечают, что гемодинамическая стабильность при лапароскопических операциях зависит не только от выбора метода анестезии и компонентов анестезии, но и от таких факторов, как: а) длительный пневмоперитонеум, при котором снижается венозный возврат к сердцу, ухудшается спланхничный кровоток, повышается среднее внутригрудное давление, увеличивается постнагрузка на миокард и пр.; б) продолжительное пребывание пациентов на операционном столе в положении Фовлера или Тренделенбурга; в) высокообъемная инфузионная терапия и другие факторы [8, 9]. Таким образом, устойчивость кровообращения и центральной гемодинамики (ЦГД) при лапароскопических операциях носит многофакторный характер, а повреждение тканей при проведении обширных и продолжительных по времени эндовидеоскопических операций на органах ЖКТ может быть также значительным, а ПБС — выраженным.

Цель исследования — оценить эффективность мультимодального послеоперационного обезболивания пациентов после обширных лапароскопических операций на органах ЖКТ и гепатобилиарной зоны.

## Пациенты и методы

В исследование были включены 127 хирургических больных (мужчин — 55, женщин — 72) в возрасте  $65,2 \pm 13,3$  года. У 109 пациентов (91,3%) показаниями к операции служили онкологические заболевания: рак двенадцатиперстной кишки — 1 больной, рак желудка — 20, рак поджелудочной железы и панкреатических протоков — 10, рак ободочной кишки — 46, рак сигмовидной кишки — 32, рак прямой кишки — 7 больных. В остальных случаях показаниями к оперативным вмешательствам служили: мегаколон — 1 больной, киста поджелудочной железы — 2, дивертикулез толстой кишки — 2, язвенная болезнь желудка — 6 больных. Характер операций: резекция желудка — 18 больных, гастрэктомия — 5, панкреатодуоденальная резекция — 8, гемиколэктомия — 42, колэктомия — 1, резекция сигмовидной кишки — 32, резекция прямой кишки — 7 больных. По причине выполнения паллиативных вмешательств из исследования в послеоперационном периоде (согласно протоколу) были исключены 14 пациентов.

Все хирургические больные ( $n = 113$ ) были рандомизированы на две группы. Пациентам 1-й группы (основной) ( $n = 51$ ) выполнены эндовидеоскопические операции на органах ЖКТ и гепатобилиарной зоны, во 2-й группе больных (контрольной) ( $n = 62$ ) аналогичные по объему абдоминальные операции выполнены из классического (лапаротомного) доступа. В зависимости от тактики интра- и послеоперационного обезболивания пациенты 1-й группы дополнительно разделены на две подгруппы: 1А подгруппа ( $n = 42$ ) — операции выполнены под сочетанной анестезией (эпидуральной и общей), а послеоперационное обезболивание осуществлялось посредством ПЭА (раствором местного анестетика ропивакаина 0,2%) в комбинации с парентеральным введением НПВП и опиатов; 1Б подгруппа ( $n = 9$ ) — эпидуральная анальгезия во время операции и в послеоперационном периоде не применялась. Периоперационное обезболивание у пациентов 2-й группы выполняли по методике 1А подгруппы.

Подготовка к операции, выбор тактики анестезиологического пособия и послеоперационного обезболивания у хирургических больных, вошедших в исследование, были унифицированы. Премедикация: на ночь перед операцией — в/м диазепам 10 мг, в день операции (за 40 мин до поступления в операционную) — в/м диазепам 10 мг. Во время операции у всех пациентов проводили общую анестезию с применением севофлюрана — 0,8–1,3 МАК в сочетании с дробным внутривенным введением наркотического анальгетика фентанила (0,05–0,2 мг каждые 30–40 мин) и миоплегией рокурония бромидом в дозе 0,3–0,5 мг/кг массы тела. В 1А подгруппе и контрольной группе общую анестезию комбинировали с эпидуральной анальгезией посредством инфузии эпидурально 0,2% раствора ропивакаина в дозе 6–10 мл/ч через катетер, установленный на средне- либо нижнегрудном уровне (в зависимости от локализации патологического процесса). По окончании операции все пациенты были переведены в ОИТ. Послеоперационное обезболивание у пациентов 1А подгруппы и 2-й группы выполнено по методике ПЭА 0,2% ропивакаином со скоростью 6–10 мл/ч в сочетании с НПВП (в/м кеторол в дозе 30 мг 2–3 раза в сутки, по часам), по показаниям внутривенно вводился

спазмолитик баралгин в дозе 5–10 мл/сут и внутримышечно — наркотический анальгетик тримеперидин (промедол) 2% в дозе 1,0 мл. У пациентов 1Б подгруппы лечение ПБС осуществляли комбинированием НПВП, спазмолитика баралгина в указанных дозировках и наркотического анальгетика промедола по показаниям.

Оценку выраженности ПБС у всех пациентов с первых суток послеоперационного периода проводили с использованием цифровой рейтинговой шкалы (ЦРШ) — от 0 до 10 баллов, где 0 баллов — отсутствие боли, 10 баллов — сильная боль. Больные заполняли анкеты самостоятельно, в присутствии врача, результаты заносились в протокол лечения. Особое значение в рамках данного исследования имело определение физической активности пациентов в послеоперационном периоде. С этой целью была разработана шкала от 0 до 5 баллов, где 0 баллов соответствовал неподвижному положению пациента в постели, а 5 баллов — свободному палатному режиму передвижения.

Оценку ПБС у хирургических больных в ОИТ осуществляли ежедневно. В то же время для динамического контроля показателей качества обезболивания были выбраны фиксированные точки, определившие этапы исследования ПБС: 1-й этап — за 2–3 дня до оперативного вмешательства (исходные значения), 2-й этап — через 14–20 ч после операции, 3-й этап — на 5–6-е сутки после операции (в условиях хирургического отделения), 4-й этап — на 11-е сутки после операции (накануне выписки из стационара). Дополнительно у пациентов 1-й группы иммунотурбометрическим методом на аппарате «Lambda 12» (Perkin Elmer, США) выполнено исследование гормона стресса кортизола в плазме крови (референсные значения: 6,2–19,4 мкг/дл).

У наблюдаемых больных в послеоперационном периоде в режиме мониторинга оценивали: а) показатели систолического артериального давления (САД), диастолического артериального давления (ДАД) и частоты сердечных сокращений (ЧСС); б) методом биоимпедансной реографии по Кубичеку на аппаратно-компьютерном комплексе «РПЦ-01 Медасс» (Россия) — ударный объем (УО), сердечный выброс (СВ), сердечный индекс (СИ), давление наполнения

левого желудочка (ДНЛЖ), общее периферическое сосудистое сопротивление (ОПСС), базовый трансторакальный импеданс (БИ) и др. По результатам измерения СИ, УО и ОПСС судили о наличии у пациентов определенного типа ЦГД: нормокинетического, гипокинетического, гиперкинетического, гипокинетического-застойного.

Статистическая обработка полученных результатов выполнена при помощи программы «Статистика 7.0» (StatSoft, США). Для оценки статистической достоверности использовали *t*-критерий Стьюдента, критерий Вилкоксона.

### Результаты исследования и их обсуждение

Подготовку хирургических больных к операции и наркозу осуществляли согласно общепринятым правилам. С учетом планируемого исследования всех пациентов за 2–3 дня до операции ознакомили с анкетами контроля эффективности послеоперационного обезболивания в виде ЦРШ и тривиальной шкалы оценки физической активности в послеоперационном периоде, пациентам были объяснены задачи и правила их заполнения, проведено обучающее тестирование.

Известно, что оценка ПБС в баллах по различным шкалам является субъективным методом исследования, непременное условие которого — наличие у пациентов ясного сознания, что позволяет совместно с лечащим врачом адекватно оценивать выраженность боли. Как правило, наибольшая выраженность ПБС у хирургических больных приходится на первые сутки послеоперационного периода, когда заканчивается действие общих анестетиков. Напомним, что у пациентов 1А подгруппы и 2-й группы в послеоперационном периоде выполняли ПЭА в комбинации с НПВП, опиатами и адъювантами, т.е. интра- и послеоперационное обезболивание не прерывалось, что существенно. У пациентов 1Б подгруппы, где ПЭА не применяли, обезболивающие препараты в первые сутки после операции вводили строго по часам, через равные промежутки времени, а в последующие дни, исходя из выраженности ПБС, обезболивание проводили по методике предупреждающей аналгезии. Результаты исследования ПБС представлены на рис. 1.

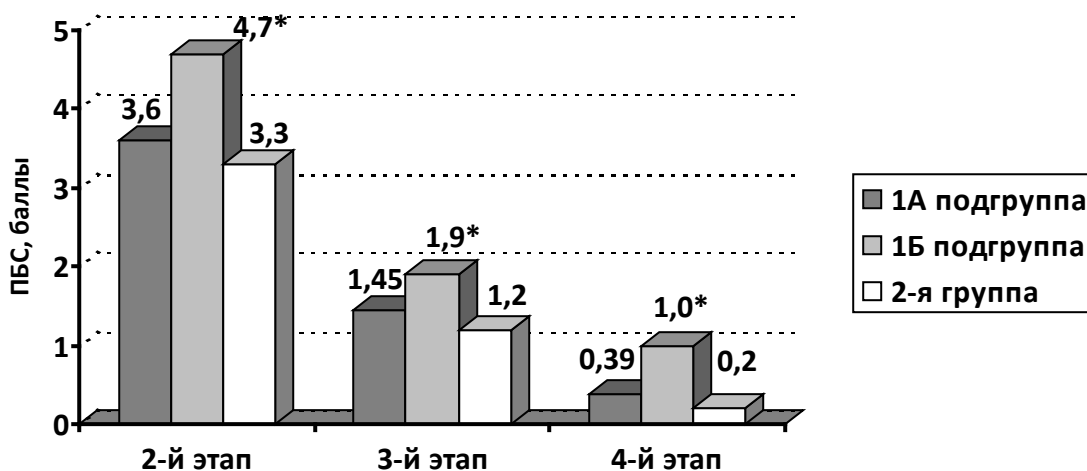


Рис. 1. Динамика ПБС у хирургических больных на этапах исследования. \* —  $p < 0,01$  по сравнению с показателями 1А подгруппы и 2-й группы на соответствующем этапе исследования.



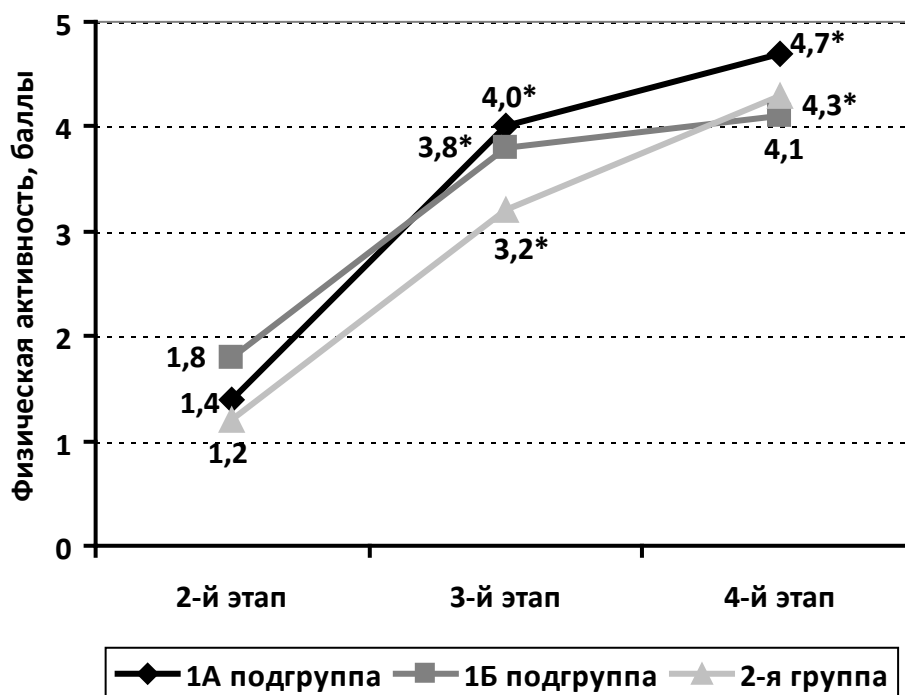


Рис. 2. Оценка физической активности хирургических больных на этапах исследования. \* —  $p < 0,01$  по сравнению с показателем предыдущего этапа.

Установлено, что в первые сутки после операции наилучшее обезболивание, по данным ЦРШ, было получено у пациентов 2-й группы и 1А подгруппы. В то же время выраженность ПБС на указанном этапе в 1А подгруппе оценивали в 3,6 балла, а у пациентов 2-й группы — в 3,3 балла, что отражает сопоставимый характер травмы тканей после операций на органах ЖКТ из лапаротомного и лапароскопического доступов. У пациентов подгруппы 1Б значения по ЦРШ были выше, достигая 4,7 балла (характерно для умеренного ПБС), и это потребовало дополнительного назначения опиатов. У больных этой группы на данном этапе также зарегистрированы более высокие показатели в плазме крови гормона стресса кортизола —  $46,3 \pm 7,6$  мкг/дл против  $35,6 \pm 13,3$  мкг/дл в подгруппе 1А. Таким образом, уже с первых суток послеоперационного периода качество обезболивания пациентов, у которых применяли ПЭА, было выше. Характерно, что у пациентов подгруппы 1А и 2-й группы расход наркотического анальгетика фентанила непосредственно во время анестезии был в 1,5 раза меньше, чем в подгруппе 1Б, составив соответственно 192, 182 и 290 мкг/ч, что, безусловно, связано с применением сочетанной анестезии и высокой ролью эпидуральной анальгезии как компонента обезболивания.

В течение ближайших дней после операции болевой синдром был эффективно купирован у всех хирургических больных (см. рис. 1), при этом выраженность ПБС у пациентов 1Б подгруппы была достоверно выше на всех этапах исследования. В то же время необходимо обратить внимание специалистов на факт сохранения ПБС у отдельных пациентов вплоть до выписки из стационара, несмотря на восстановление достаточной физической активности (рис. 2), впоследствии это может привести к развитию хронического болевого синдрома. Статистиче-

ски значимая динамика показателя физической активности не выявлена лишь на 4-м этапе у пациентов 1Б подгруппы.

Не вызывает сомнений целесообразность проведения во время обширных абдоминальных операций сочетанной анестезии с последующей ПЭА в послеоперационном периоде. Именно у больных с ПЭА (1А подгруппа и 2-я группа) отмечена более быстрая нормализация показателей кровообращения и ЦГД в послеоперационном периоде (табл. 1). Так, у пациентов, перенесших операции на органах ЖКТ и гепатобилиарной зоны из лапаротомного доступа, в первые сутки после операции снижение СИ против исходных значений составило 10,5% (2-я группа), 20% — в 1А подгруппе и 27,8% — в 1Б подгруппе. Поскольку у пациентов 1А подгруппы и контрольной группы различия касались только способа хирургического доступа при идентичном подходе к периоперационному обезболиванию, можно заключить, что снижение СИ обусловлено главным образом последствиями пневмоперитонеума и его негативным влиянием на сократительную способность миокарда. В том случае, если эпидуральная анальгезия во время эндовидеоскопических операций на органах ЖКТ не используется, снижение СИ может быть более выраженным, что и наблюдали у пациентов в 1Б подгруппе. Именно в этой подгруппе больных отмечали наибольшие значения ОПСС. Данный показатель в ближайшем послеоперационном периоде вырос на 34,5%, что вместе со снижением СИ способствовало развитию гипокинетического-застойного типа регуляции кровообращения. При этом исходно указанный тип ЦГД не был выявлен у пациентов данной подгруппы (табл. 2).

Можно по-разному относиться к принципу выделения у больных типов гемодинамики (нормокинетического, гипо-

Таблица 1. Динамика параметров ЦГД у пациентов на этапах исследования ( $M \pm \sigma$ )

Параметр ЦГД	1-й этап	2-й этап	3-й этап	4-й этап	
САД, мм рт.ст.	1А подгруппа	138,7 ± 11,1	138,6 ± 22,0	127,9 ± 9,4 **	130,5 ± 6,5
	1Б подгруппа	143,9 ± 15,7	142,2 ± 19,1	125,6 ± 20,1*	128,9 ± 17,6
	2-я группа	134,6 ± 13,1	131,6 ± 13,5*	128,0 ± 11,1	129,8 ± 13,1
ДАД, мм рт.ст.	1А подгруппа	85,3 ± 5,9	72,7 ± 10,3**	72,3 ± 9,0	77,7 ± 8,0**
	1Б подгруппа	87,2 ± 9,0	80,6 ± 13,8	77,7 ± 13,9	78,3 ± 10,6
	2-я группа	81,7 ± 10,3	73,0 ± 8,9**	72,6 ± 10,1	76,9 ± 10,7**
ЧСС, мин <sup>-1</sup>	1А подгруппа	70,1 ± 6,9	75,5 ± 9,1*	75,7 ± 10,3	72,1 ± 6,6*
	1Б подгруппа	69,9 ± 11,1	84,4 ± 7,3*	97,9 ± 21,4	92,2 ± 20,1
	2-я группа	73,8 ± 15,9	85,4 ± 14,6**	83,4 ± 14,6	75,4 ± 14,4**
СИ, л/(мин×м <sup>2</sup> )	1А подгруппа	2,0 ± 0,6	1,6 ± 0,5**	1,6 ± 0,4	2,0 ± 0,6**
	1Б подгруппа	1,8 ± 0,5	1,3 ± 0,3*	1,3 ± 0,3	1,3 ± 0,5
	2-я группа	1,9 ± 0,4	1,7 ± 0,5*	1,8 ± 0,5	2,1 ± 0,6**
ОПСС, дин×см <sup>5</sup>	1А подгруппа	2440,8 ± 530,1	2441,4 ± 987,9	2390,6 ± 488,3	2378,5 ± 802,1
	1Б подгруппа	2550,1 ± 587,9	3429,2 ± 588,3*	3247,3 ± 541,2	3113,7 ± 1091,7
	2-я группа	2291,9 ± 451,4	2373,8 ± 404,8	2112,1 ± 358,3**	2121,6 ± 439,8
ДНЛЖ, мм рт.ст.	1А подгруппа	16,5 ± 3,1	16,7 ± 2,8	16,6 ± 2,5	15,9 ± 1,9
	1Б подгруппа	15,1 ± 0,3	17,9 ± 1,8	19,5 ± 2,9	18,6 ± 5,0
	2-я группа	16,5 ± 3,6	19,1 ± 14,6**	17,8 ± 4,4	16,1 ± 1,9**
БИ, Ом	1А подгруппа	32,7 ± 5,6	30,4 ± 6,2	30,9 ± 4,5	30,7 ± 4,2
	1Б подгруппа	31,8 ± 2,8	29,1 ± 4,9	31,4 ± 3,8	29,7 ± 4,3
	2-я группа	31,8 ± 4,3	25,7 ± 5,7**	27,3 ± 5,6*	28,5 ± 6,1*

\* —  $p < 0,05$ , \*\* —  $p < 0,01$  по сравнению с предыдущим этапом

Таблица 2. Распределение хирургических больных по типам кровообращения на этапах исследования

Тип ЦГД	1А подгруппа (n = 42)				1Б подгруппа (n = 9)				2-я группа (n = 62)			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Нормокинетический, %	27,2	6,0	0	18,2	22,2	0	0	0	22,9	13,1	24,6	29,5
Гипокинетический, %	54,5	75,8	90,9	72,7	77,8	77,8	33,3	66,7	67,2	57,4	70,5	70,5
Гипокинетический-застойный, %	18,2	18,2	9,1	9,1	0	22,2	66,7	33,3	9,8	29,5	4,9	0

кинетического, гиперкинетического, гипокинетического-застойного и других) по результатам исследования СИ, ОПСС и ДНЛЖ. Есть как сторонники, так и явные противники такой интерпретации показателей кровообращения, но данный подход в клинической практике существует и находит широкое применение. Более того, он позволяет более четко проследить динамику отдельных факторов регуляции кровообращения, направленных на поддержание гемодинамики. Это чрезвычайно важный аспект интенсивной терапии больных после обширных и травматичных абдоминальных операций. Кроме того, за последние годы в структуре хирургических больных существенно возросло число пациентов пожилого возраста, имеющих возрастные изменения сердечно-сосудистой системы, стало больше пациентов с сопутствующими заболеваниями (ишемической болезнью сердца, артериальной гипертензией, постинфарктным кардиосклерозом,

сердечной недостаточностью и другими заболеваниями). Установлено, что исходно у 66,5% хирургических больных превалировал гипокинетический тип регуляции ЦГД, у 9,3% выявлен гипокинетический-застойный тип кровообращения (повышенные значения ДНЛЖ и ОПСС при снижении СИ) и только у 24,2% больных он оценивался как нормокинетический. Таким образом, у 75% больных исходно отмечалось снижение сократительной способности миокарда на фоне увеличения ОПСС. В связи с этим необходимо использовать наиболее щадящие по отношению к сердечно-сосудистой системе методы анестезиологического обеспечения. Применение сочетанной анестезии и мультимодального обезболивания с использованием ПЭА в послеоперационном периоде позволило свести к минимуму угрозу развития кардиальных осложнений у хирургических больных. В то же время отказ от ПЭА при лапароскопических операциях не делает гемо-

динамику более стабильной. Именно в 1Б подгруппе в послеоперационном периоде увеличилось число больных с гипокINETическим-застойным типом регуляции ЦГД (см. табл. 2), чего не наблюдалось в контрольной группе и в 1А подгруппе.

Принципиально важным является правильное понимание со стороны клиницистов тяжести состояния хирургических больных, перенесших операции на органах ЖКТ из различного операционного доступа, на момент окончания лечения в стационаре и переводе на долечивание в амбулаторное звено здравоохранения, т.е. при выписке из клиники домой. Анализ результатов исследования ЦГД у больных через 11 дней после операции (см. табл. 1) показывает, что показатели СИ, ОПСС и ДНЛЖ у пациентов 2-й группы и 1А подгруппы достоверно не отличались от исходных значений, что можно расценивать как хороший результат. Напротив, у пациентов 1Б подгруппы величины ОПСС и ДНЛЖ были выше, чем при поступлении в больницу, соответственно на 22,1 и 23,2%, а средние значения СИ понизились на 27,8%. Более того, именно в данной подгруппе к 4-му этапу исследования возросло число пациентов с гипокINETическим-застойным типом регуляции ЦГД, что нежелательно. Полученные результаты оценки ПБС и ЦГД у больных после обширных лапароскопических операций на органах ЖКТ и гепатобилиарной зоны в условиях пневмоперитонеума потребовали пересмотра в нашей клинике общей тактики анестезиологического обеспечения в пользу обязательного проведения сочетанной анестезии на интраоперационном этапе и мульти-модального обезболивания с ПЭА в послеоперационном периоде.

### Заключение

Следует отметить, что выполнение обширных и продолжительных эндовидеоскопических операций на органах брюшной полости стало реальностью современной мировой хирургии. Это неопровержимый факт. Еще в 2001 г. данные статистики министерств здравоохранения ряда стран (например, Великобритании или Австралии) указывали на то, что доля лапароскопических операций при заболеваниях толстой кишки не превышала 1%, а в следующие 8 лет их число увеличилось до 25% [10, 11]. Предпочтение лапароскопической технике отдается и в ряде клиник нашей страны. В частности, опыт ГБУЗ «Городская клиническая больница № 4» Департамента здравоохранения г. Москвы за 2010–2013 гг. показывает увеличение общего числа видеоассистированных операций в структуре оперативных вмешательств на органах ЖКТ и гепатобилиарной зоны с 34,4 до 58,2%, что существенно. В то же время мы должны правильно понимать и оценивать тот факт, что операции, проведенной под эн-

довидеоконтролем на толстой и тонкой кишках, желудке, поджелудочной железе и других органах, присущи все проявления, характерные для хирургической травмы и системно-воспалительного ответа, а также то, что больные требуют не меньшей антистрессовой защиты и поддержания стабильного уровня гемодинамики на протяжении периоперационного периода.

### Литература

1. Guay J. The effect of neuraxial block on surgical blood loss and blood transfusion requirements: a meta-analysis // *J Clin Anesth.* 2006. V.18 (2). P.124–128.
2. Marret E., Remy C., Bonnet F. et al. Meta-analysis of epidural analgesia versus parenteral opioid after colorectal surgery // *Br J Surg.* 2007. V.94 (6). P.665–673.
3. Wu C.L., Cohen S.R., Richman J.M. et al. Efficacy of postoperative patient-controlled and continuous infusion epidural analgesia versus intravenous patient-controlled analgesia with opioids: a meta-analysis // *Anesthesiology.* 2005. V.103 (5). P.1079–1088.
4. Gustafsson U.O., Scott M.J., Schwenk W. et al. Guidelines for perioperative care in elective colonic surgery: Enhanced Recovery After Surgery (ERAS<sup>®</sup>) Society recommendations // *World J Surg.* 2013. V.37 (2). P.259–284.
5. Lassen K., Coolsen M.M., Slim K. et al. Guidelines for perioperative care for pancreaticoduodenectomy: Enhanced Recovery After Surgery (ERAS<sup>®</sup>) Society recommendations // *World J Surg.* 2013. V.37 (2). P.240–258.
6. Nygren J., Thacker J., Carli F. et al. Guidelines for perioperative care in elective rectal/pelvic surgery: Enhanced Recovery After Surgery (ERAS<sup>®</sup>) Society recommendations // *World J Surg.* 2013. V.37 (2). P.285–305.
7. Siegel R., Cuesta M.A., Targarona E. et al. Laparoscopic extraperitoneal rectal cancer surgery: the clinical practice guidelines of the European Association for Endoscopic Surgery (EAES) // *Surg Endosc.* 2011. V.25. P.2423–2440.
8. Neudecker J., Sauerland S., Neugebauer E. et al. The European Association for Endoscopic Surgery clinical practice guideline on the pneumoperitoneum for laparoscopic surgery // *Surg Endosc.* 2002. V.16 (7). P.1121–1143.
9. Meyers J.K., Lembeck L., O’Kane H., Baue A.E. Changes in functional residual capacity of the lung after operation // *Arch Surg.* 1975. V.110 (5). P.576–583.
10. Laparoscopic surgery for colorectal cancer. NICE technology appraisal guidance 105, Aug 2006 [Electronic resource] // NICE [Official website]. URL: <http://guidance.nice.org.uk/TA105> (accessed: 04.05.2014).
11. Thompson B.S., Coory M.D., Lumley J.W. National trends in the uptake of laparoscopic resection for colorectal cancer, 2000–2008 // *Med J Aust.* 2011. V.194 (9). P.443–447.

### Информация об авторе:

Свиридов Сергей Викторович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой анестезиологии, реаниматологии и интенсивной терапии лечебного факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова  
Адрес: 115093, Москва, ул. Павловская, 25  
Телефон: (495) 955-6597  
E-mail: sviridov.ru@mail.ru

# Применение внутрисуставных инъекций в лечении остеоартрозов и перспективы использования обогащенной тромбоцитами плазмы (обзор литературы)

Б.В.Хонинов<sup>1</sup>, О.Н.Сергунин<sup>1</sup>, П.А.Скороглядов<sup>2</sup>, А.А.Бегалиев<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Городская клиническая больница № 64, Москва  
(главный врач — проф. О.В.Шарапова);

<sup>2</sup>Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова,  
кафедра травматологии, ортопедии и военно-полевой хирургии педиатрического факультета, Москва  
(зав. кафедрой — проф. А.В.Скороглядов);

<sup>3</sup>Кыргызско-Российский Славянский университет,  
кафедра травматологии, ортопедии и урологии медицинского факультета,  
Бишкек, Кыргызская Республика  
(зав. кафедрой — проф. Г.С.Чернецова)

Выполнен анализ современных представлений о применении новых технологий в лечении гонартроза (ГА), а также собственного опыта в лечении этого заболевания. Приведены данные о применении обогащенной тромбоцитами плазмы (ОТП), для изготовления которой используют цельную аутокровь. Рассмотрены механизмы действия ОТП и результаты клинических исследований, в которых была использована аутологичная кондиционированная плазма при лечении ГА. Отмечено, что метод является несложным технически и лишен тяжелых побочных эффектов. Приведены данные о том, что локальное применение ОТП у больных ГА вызывает выраженную положительную динамику функционального состояния коленных суставов при начальных проявлениях остеоартроза, однако при ГА II–III рентгенологических стадий позитивное влияние ОТП менее эффективно. Сделано заключение о перспективности проведения дальнейших исследований механизма действия ОТП. Необходимо, в частности, выяснить, является ли ОТП лишь средством симптоматического лечения остеоартроза или относится также к патогенетически обоснованным методам лечения данного заболевания.

*Ключевые слова:* остеоартроз, коленный сустав, тромбоциты, обогащенная тромбоцитами плазма

## Intra-Articular Injections Use in the Osteoarthritis Treatment and Platelet-Rich Plasma Prospects: A Literature Review

B.V.Khoninov<sup>1</sup>, O.N.Sergunin<sup>1</sup>, P.A.Skoroglyadov<sup>2</sup>, A.A.Begaliev<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Municipal Clinical Hospital № 64, Moscow  
(Chief Doctor — Prof. O.V.Sharapova);

<sup>2</sup>Pirogov 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);

<sup>3</sup>Kyrgyz-Russian Slavic University,  
Department of Traumatology, Orthopedics and Urology of Faculty of Medicine,  
Bishkek, Kyrgyz Republic  
(Head of the Department — G.S.Chernetsova)

There was performed the analysis of modern concepts and own experience of the new technologies use in the treatment of gonarthrosis. There are presented the data on the use of platelet-rich plasma (PRP), which is used for the manufacture of whole autologous blood. There are reviewed the mechanisms of PRP action, the results of clinical studies in which there was used autologous conditioned plasma in the treatment of gonarthrosis. It is noted that the method is technically simple and devoid of serious side effects. There are presented the data that the local application of PRP in patients with knee osteoarthritis produces a strong positive dynamics of the functional state of the knee joints in case of early manifestations of osteoarthritis, but in gonarthrosis of II–III radiographic stages the positive impact of osteoarthritis is less efficient. It is concluded that there are prospects for further studies of the mechanism of PRP action. It is necessary, in particular, to clarify whether PRP is only the means of symptomatic treatment of osteoarthritis or it also relates to pathogenetic reasonable methods of treatment of this disease.

*Key words:* osteoarthritis, knee joint, platelets, platelet-rich plasma

**О**стеоартроз является широко распространенным заболеванием коленного сустава, которое может приводить к инвалидизации [1]. До 50 лет мужчины страдают остеоартрозом чаще, чем женщины, в то время как среди больных старше 65 лет женщин вдвое больше, чем мужчин, что может быть связано с наступлением менопаузы [2].

Подхрящевая костная ткань, синовиальная оболочка и хрящ являются одинаково важными составляющими, которые отвечают за биохимическое и биомеханическое равновесие в суставе [3]. Известно, что гонартроз (ГА) поражает все три элемента. Хрящевые клетки — хондроциты — вырабатывают внеклеточный матрикс, который состоит главным образом из коллагена II типа, протеогликанов и гликозаминогликанов. В последние годы проводятся активные исследования клинической эффективности новых подходов к лечению ГА с применением обогащенной тромбоцитами плазмы (ОТП).

Цель исследования — анализ современных представлений о применении новых технологий в лечении остеоартроза коленного сустава.

#### **Патогенетическое обоснование применения обогащенной тромбоцитами плазмы и гиалуроновой кислоты в лечении артроза**

Ранее основными факторами этиопатогенеза артроза считали перегрузку сустава и механический стресс. Однако в последние десятилетия возрос интерес к изучению особенностей метаболизма, определяющих биохимический баланс, необходимый для нормального функционирования сустава. Было показано, что этот баланс можно корректировать, контролируя биохимические ингибиторы металлопротеиназ (интерлейкин-4 (ИЛ-4), ИЛ-10, ИЛ-13, тканевой ингибитор металлопротеиназ, инсулиноподобный фактор роста, трансформирующий фактор роста бета), а также биохимические элементы, которые усиливают их синтез (ИЛ-1 $\beta$ , фактор некроза опухоли альфа, ИЛ-8, ИЛ-6, ИЛ-17, ИЛ-18, лейкоцитарный ингибирующий фактор, оксид азота) [4]. Кроме того, большое внимание уделяют синовиальной жидкости и ее основной составляющей — гиалуроновой кислоте (ГК). Синовиальная жидкость необходима для смазывания суставной поверхности, снижения нагрузки на поверхность, «расширения» зоны нагрузки и переноса питательных веществ для хрящевой ткани из синовиальной оболочки.

При артрите в синовиальной жидкости значительно снижается концентрация ГК, ее вязкость, молекулярный вес и эластичность [5, 6]. Результаты исследований, проведенных в течение последних двух десятилетий, свидетельствуют о том, что эффект ГК опосредован двумя механизмами [7]. Во-первых, это коррекция вязкости, т.е. восстановление механических и вязкоэластических

свойств синовиальной жидкости, во-вторых — вискоиндукция — стимуляция эндогенной выработки ГК синовиоцитами и хондроцитами.

Применение ГК рекомендуется для лечения позднего ГА перед хирургическим вмешательством. Кроме того, использование ГК является альтернативой применению нестероидных противовоспалительных препаратов и/или соединений на основе кортизона при наличии непереносимости, противопоказаний, а также при отсутствии эффекта. Схема применения ГК зависит от молекулярной массы препарата. Анализ литературных данных свидетельствует о том, что чаще всего выполняют по одной инъекции препарата каждые 3–5 нед [8].

Консервативное лечение ГА широко освещено в литературе последних десятилетий. В частности, показано, что применение ГК приводит к восстановлению естественного реологического и метаболического гомеостаза пораженного артрозом сустава. Воздействие ГК на биохимическом уровне улучшает защитные, смазывающие и амортизирующие свойства синовиальной жидкости [9, 10].

Все более широкое распространение приобретает применение факторов роста в целях модулирования времени репарации поврежденных и травмированных тканей. ОТП является препаратом факторов роста нового типа. При ее изготовлении цельную аутокровь центрифугируют для получения концентрации тромбоцитов, превышающей таковую в цельной крови [11, 12].

Альфа-гранулы тромбоцитов содержат целый ряд медиаторов — факторов роста, в частности инсулиноподобный фактор роста-1, основной фактор роста фибробластов, тромбоцитарный фактор роста, эпидермальный фактор роста, сосудистый эндотелиальный фактор роста и трансформирующий фактор роста бета, которые участвуют в ослаблении воспалительной реакции, удалении некротизированных клеток и реконструкции тканей [13].

Следует отметить, что попытки использования отдельных факторов роста изолированно при экспериментальном остеоартрозе не приводили к значимым результатам [14]. В отличие от этого биологические препараты на основе ОТП оказались высокоэффективными при лечении спортивных травм, в послеоперационном периоде (в том числе и при внутрисуставных операциях), в стоматологии и косметологии. Имеется положительный опыт использования ОТП ревматологами при хронических тендинитах коленного, локтевого и голеностопного суставов [15].

Более 10 лет ОТП применяется в челюстно-лицевой и пластической хирургии. В настоящее время данный препарат приобретает популярность в ортопедии и спортивной медицине как средство для лечения энтезопатии, тендинитов, острых и хронических повреждений мышц, миофиброза и плечелопаточного периартрита [10, 16].

#### **Особенности применения препаратов обогащенной тромбоцитами плазмы в лечении артрозов**

При проведении лечения с помощью ОТП используется так называемая технология «двойного шприца». Двойной шприц, в который отбирается кровь пациента, содержит

#### **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 14.07.2014, принята к печати 17.09.2014

1 мл антикоагулянта (цитрат натрия), средний объем отобранной крови составляет 12 мл. Производится центрифугирование взятой крови, позволяющее получать ОТП, которая впоследствии может храниться в замороженном виде. В ходе лечения производят инфильтрацию тканей сустава с использованием доступа, обеспечивающего максимальное поступление ОТП во внутрисуставное пространство. Благодаря использованию метода «двойного шприца» цикл получения ОТП является замкнутым, сохраняется стерильность и апирогенность материала, что делает его максимально безопасным для пациента, а метод — простым для выполнения.

Предположительно, применение ОТП оказывает противовоспалительное воздействие на мягкие ткани, как при острых, так и при хронических заболеваниях за счет выделения тромбоцитами факторов роста [17, 18]. Специалисты сходятся в том, что в ОТП должно содержаться большое количество факторов роста, но концентрация лейкоцитов должна быть относительно невысокой. В настоящее время на рынке представлено большое количество так называемых систем ОТП, удовлетворяющих этим требованиям. Одна из них — система Autologous Conditioned Plasma (ACP), которая лишена нежелательных свойств, характерных для ОТП вследствие выделения лейкоцитами активных форм кислорода, протеолитических ферментов и матриксных металлопротеиназ.

Как известно, более половины лейкоцитов являются нейтрофилами. Показано, что чрезмерная нейтрофильная инфильтрация способствует поддержанию процессов хронического воспаления в незаживающих ранах [19]. Установлено, что макрофаги удаляют из раны посторонние материалы посредством фагоцитоза. В то же время макрофаги должны удалить и частицы, оставшиеся после выделения нейтрофилами активированных протеолитических ферментов [20]. По этой причине целесообразность применения ОТП с высоким содержанием нейтрофилов представляется сомнительной. Дополнительное количество нейтрофилов может усилить разрушение тканевого матрикса и нарушить процесс запуска каскада заживления. Макрофаги осуществляют фагоцитоз, однако тромбоциты выделяют хемокины, которые активируют макрофаги и привлекают их в зону повреждения [21].

Находится все больше подтверждений тому, что тромбоциты обладают антибиотическим эффектом, который опосредован выделяемыми ими антибиотическими белками [22].

Эффективность ОТП при ГА изучена в небольшом числе исследований, в одном из которых сравнивали эффективность ОТП и ГК [23]. В работе F.Cerza и соавт. описаны результаты одного из наиболее крупных исследований — проспективного рандомизированного сравнительного клинического исследования, в рамках которого была использована аутологичная кондиционированная плазма (Biocore, Arthrex Inc, Германия) [24]. Этот препарат ОТП был выбран в связи с высоким содержанием в нем факторов роста и значительно сниженным количеством лейкоцитов [1]. Следует отметить, что другие системы ОТП содержат лейкоциты, которые могут оказывать неблагоприятное воздействие на ткани, выделяя провоспалительные вещества [19, 25].

В исследовании M.Lotz наблюдались 120 пациентов (из них мужчин — 53, женщин — 67) с клинически и рентгенологически диагностированным ГА I, II или III степени по рентгенологической шкале Kellgren–Lawrence [26]. Все пациенты ранее получали физиотерапию или фармакологическую терапию с неудовлетворительным эффектом. В 1-й группе (60 пациентов) было выполнено 4-кратное внутрисуставное введение аутологичной кондиционированной плазмы (ACP). Для инфильтрации использовали двойной шприц, содержащий 1 мл антикоагулянта (цитрат натрия). Во 2-й группе (60 пациентов) было выполнено 4-кратное внутрисуставное введение ГК (20 мг/2 мл, Hyalgan Fidia, Abano Terme, Италия). Терапия пораженного ГА сустава проводилась 1 раз в неделю в течение 4 нед. В обеих группах инфильтрацию выполняли верхнелатеральным доступом, который является наиболее безопасным и обеспечивает поступление препарата во внутрисуставное пространство в 93% случаев. Результаты работы позволили авторам сделать ряд важных заключений. Так, было показано, что местная инфильтрация ОТП оказывает значимый эффект вскоре после последней инъекции, постепенное улучшение происходит в течение 24 нед.

Исследователи обращают внимание на то, что метод является несложным технически и лишен тяжелых побочных эффектов [27]. После процедуры пациент может немедленно вернуться к повседневной жизни. Некоторые из пациентов отметили уменьшение боли уже через несколько часов после первой процедуры.

Результаты применения ОТП значительно превосходили результаты лечения с помощью ГК, также отмечено устойчивое снижение показателей по шкале WOMAC. Кроме того, имеющиеся данные указывали, что в группе пациентов с ГА III степени это различие было более выраженным.

Л.Ю.Широкова и соавт. оценивали клиническую эффективность локального (внутрисуставного) применения аутологичной ОТП в терапии ГА. В течение 3 мес авторы осуществляли клиническое наблюдение за 83 женщинами с ГА, которые на протяжении 3 нед получали внутрисуставные инъекции ОТП по 5 мл 2 раза в неделю. Установлено изменение функционального состояния коленного сустава, наиболее значимое при начальной стадии и практически отсутствующее при тяжелой форме заболевания (осложненного синовитом). При типичном ГА II–III рентгенологических стадий позитивное влияние кратковременно и отмечалось только в ранний одномесечный период наблюдения. Результаты проведенного авторами однофакторного дисперсионного анализа влияния терапии ОТП на оценку функционального состояния сустава в динамической гравиметрической пробе и по индексу WOMAC однозначно показали максимальную эффективность лечения ОТП в группе больных с начальным ГА. Сила влияния фактора применения ОТП у больных с типичным ГА после первого месяца полностью соответствовала таковой у пациентов с начальным ГА, но значительно уступала ей в отсроченный период (3 мес). У лиц с осложненным ГА какое-либо влияние ОТП на исследуемые функциональные показатели отсутствовало ( $F_{\max} = 3,14, p > 0,05$ ) [28].

К настоящему времени опубликовано только 7 исследований по применению ОТП при остеоартрозе коленного су-

става. Данные исследования являются разнородными: одни из них — пилотные и имеют малый объем, для других характерно отсутствие контроля или применение многократных инъекций без конкретного обоснования. В опубликованных работах отсутствует стандартизация протоколов исследований, методик отделения тромбоцитов и показателей исхода лечения. Из-за этого не представляется возможным оценить доказательную базу для клинического применения ОТП и концентрированных препаратов аутологичной крови в целях лечения большинства ортопедических заболеваний, в том числе артроза коленного сустава [29].

Поскольку препараты ОТП для инъекций могут значительно различаться по количеству лейкоцитов и концентрации тромбоцитов, A.Mishra и соавт. опубликовали классификацию препаратов ОТП [30].

Мета-анализ, выполненный U.Sheth и соавт., показал, что в настоящее время для применения ОТП во многих ситуациях отсутствуют достаточные доказательства [29]. Однако в ходе каждого из опубликованных исследований по применению ОТП при остеоартрозе коленного сустава отмечено некоторое улучшение состояния пациентов, которое, впрочем, получало только приблизительную количественную оценку [31, 32].

Е.Коп и соавт. отмечают хороший лечебный эффект у молодых пациентов мужского пола с низким индексом массы тела [32], при этом доля мужчин среди участников данного исследования была больше, чем, например, в исследовании M.Sanchez и соавт., в котором участвовало больше женщин [33]. В исследовании Е.Коп продемонстрирована динамика показателей, а также отмечена слабовыраженная тенденция к ухудшению объективного и субъективного показателей шкалы Международного комитета по регистрации состояния коленного сустава (International Knee Documentation Committee — IKDC) в течение 2–6 мес, которая не достигла статистической значимости в эти сроки. Значимое уменьшение показателей этой шкалы было выявлено только через 12 мес [32]. Позднее авторы данного исследования опубликовали отчет о результатах обследования пациентов через 24 мес, продемонстрировав дальнейшее снижение объективного и субъективного показателей [15]. Эти данные вызвали вопрос, целесообразно ли многократное введение препарата с интервалом 6 мес или 1 год для достижения более длительного облегчения симптомов и замедления прогрессирования остеоартроза, если эффективность однократного и двукратного введения представляется одинаковой, а достигнутый эффект со временем уменьшается? Безусловно, необходимо проведение дальнейших исследований в этом направлении.

M.Sanchez и соавт. продемонстрировали значительное улучшение состояния 33,3% пациентов в группе, получавшей ОТП, через 5 нед [33]. По данным Е.Коп и соавт., доля пациентов, удовлетворенных лечением, составила 80% [32]. В другом исследовании доля удовлетворенных лечением пациентов, получавших ОТП, через 6 мес составила 64,0–67,3%, тогда как в контрольной группе — только 4,3% [34].

Большинство авторов сообщают о случаях боли в месте инъекций, кратковременного местного воспаления и повторного скопления выпота [23], однако точная частота этих осложнений не указана. S.Patel и соавт. сообщают, что те

участники исследования, у которых возникали указанные нежелательные эффекты, получили несколько большее количество тромбоцитов (2,53 млрд), чем пациенты без осложнений (1,96 млрд). Это позволило исследователям выдвинуть предположение о том, что увеличение количества введенных тромбоцитов связано с возрастанием риска осложнений [34].

Некоторые авторы выполняли инъекции ОТП с интервалом 3 нед. Для этого производили однократный забор крови в количестве 150 мл, отделяли плазму, хранили ее при температуре -30 °С и размораживали перед очередной инъекцией. Для сбора ОТП часто применяли открытые системы, при этом указывали, что хранить выделенные тромбоциты нецелесообразно [35], так как при замораживании форма тромбоцитов может меняться, а их функциональные свойства — ухудшаться, в частности, может произойти дегрануляция альфа-гранул. Это также следует учитывать при оценке результатов применения ОТП в лечении артроза.

S.Patel и соавт. в своей работе фиксировали время первой инъекции и момента появления положительного эффекта. Среднее время развития эффекта составило 17,63 суток (95% доверительный интервал — 14,59–20,68) [34]. Некоторые авторы постулируют, что терапевтическим эффектом следует считать хондрогенез, но, вероятно, этот процесс происходит слишком медленно, чтобы пациенты могли ощутить улучшение [32].

S.Patel и соавт. предположили, что улучшение состояния пациентов можно объяснить тем, что введенные тромбоциты действуют на различных уровнях, но не стимулируют анаболизм и не замедляют катаболизм хрящевой ткани [34]. Возможно, ОТП влияет на гомеостаз в тканях сустава в целом, уменьшая гиперплазию синовиальной оболочки и модулируя уровень цитокинов, тем самым способствуя улучшению клинического состояния, даже если это лишь временный эффект без воздействия на структуру хрящевой ткани и прогрессирование дегенерации сустава [35, 36].

## Заключение

Проведенный анализ данных литературы показывает увеличение количества сообщений о применении обогащенной тромбоцитами плазмы в лечении заболеваний суставов. В ряде работ установлено, что локальное применение ОТП у больных гонартрозом вызывает выраженную положительную динамику функционального состояния коленных суставов при начальных проявлениях остеоартроза. При ГА II–III рентгенологических стадий позитивное влияние ОТП менее эффективно. Представляется целесообразным применение ОТП у больных остеоартрозом коленного сустава, а также у пациентов, которым выполняется артроскопическая пластика передней крестообразной связки, артроскопическая остеоперфорация и абразивная хондропластика мышечков бедренной кости.

Достаточно очевидна необходимость проведения дальнейших широкомасштабных клинических исследований для подтверждения полученных к настоящему времени данных и оценки их в отдаленные сроки, раскрытия механизма действия ОТП, а также для уточнения, является ли ОТП лишь средством симптоматического лечения или патогенетически обоснованным методом лечения остеоартроза.

**Литература**

1. Buhr M., Siekmann W. Intra-articular injection of platelet rich plasma for the treatment of cartilage damage // *Orthopädische Praxis*. 2009. V.45 (1). P.10–16.
2. Neustadt D.H. Osteoarthritis // *Conn's Current Therapy* / Ed. by R.E.Rakel. Philadelphia, PA: W.B.Saunders, 2003. P.1075–1079.
3. Punzi L., Oliviero F., Plebani M. New biochemical insights into the pathogenesis of osteoarthritis and the role of laboratory investigations in clinical assessment // *Crit Rev Clin Lab Sci*. 2005. V.42 (4). P.279–309.
4. D'Lima D.D., Hashimoto S., Chen P.C. et al. Impact of mechanical trauma on matrix and cells // *Clin Orthop Relat Res*. 2001. V.391 (suppl). P.S90–S99.
5. Balazs E.A. Analgesic effect of elastoviscous hyaluronan solutions and the treatment of arthritic pain // *Cells Tissues Organs*. 2003. V.174 (1–2). P.49–62.
6. Vadalà G., Di Martino A., Tirindelli M.C. Use of autologous bone marrow cells concentrate enriched with platelet-rich fibrin on corticocancellous bone allograft for posterolateral multilevel cervical fusion // *J Tissue Eng Regen Med*. 2008. V.2 (8). P.515–520.
7. Bernstein J. Therapeutic effects of hyaluronic acid on osteoarthritis of the knee // *J Bone Joint Surg Am*. 2004. V.86-A (11). P.2567.
8. Bellamy N., Campbell J., Robinson V. et al. Viscosupplementation for the treatment of the osteoarthritis of the knee // *Cochrane Database Syst Rev*. 2006. V.2. CD005321.
9. Du Toit D.F., Kleintjes W.G., Otto M.J. et al. Soft and hard-tissue augmentation with platelet-rich plasma: tissue culture dynamics, regeneration and molecular biology perspective // *Int J Shoulder Surg*. 2007. V.1 (2). P.64–73.
10. Hee H.T., Majd M.E., Holt R.T., Myers L. Do autologous growth factors enhance transforaminal lumbar interbody fusion? // *Eur Spine J*. 2003. V.12 (4). P.400–407.
11. Mishra A., Pavelko T. Treatment of chronic elbow tendinosis with buffered platelet-rich plasma // *Am J Sports Med*. 2006. V.34 (11). P.1774–1778.
12. Sampson S., Gerhardt M., Mandelbaum B. Platelet rich plasma injection grafts for musculoskeletal injuries: a review // *Curr Rev Musculoskelet Med*. 2008. V.1 (3–4). P.165–174.
13. Woodell-May J.E., Pietrzak W.S. Platelet-rich plasma in orthopaedics // *Orthopedic Biology and Medicine: Musculoskeletal Tissue Regeneration* / Ed. by W.S.Pietrzak. Totawa, NJ: Humana Press, 2008. P.547–568.
14. Marx R.E., Carlson E.R., Eichstaedt R.M. et al. Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts // *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 1998. V.85 (6). P.638–646.
15. Filardo G., Kon E., Buda R. et al. Platelet-rich plasma intra-articular knee injections for the treatment of degenerative cartilage lesions and osteoarthritis // *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2011. V.19 (4). P.528–535.
16. Foster T.E., Puskas B.L., Mandelbaum B.R. et al. Platelet-rich plasma: from basic science to clinical applications // *Am J Sports Med*. 2009. V.37 (11). P.2259–2272.
17. Crovetti G., Martinelli G., Issi M. et al. Platelet gel for healing cutaneous chronic wounds // *Transfus Apher Sci*. 2004. V.30 (2). P.145–151.
18. Driver V.R., Hanft J., Fyelling C.P. et al. A prospective, randomized, controlled trial of autologous platelet-rich plasma gel for the treatment of diabetic foot ulcers // *Ostomy Wound Manage*. 2006. V.52 (6). P.68–70, 72, 74.
19. Diegelmann R.F., Evans M.C. Wound healing: an overview of acute, fibrotic and delayed healing // *Front Biosci*. 2004. V.9. P.283–289.
20. Martin P., D'Souza D., Martin J. et al. Wound healing in the PU.1 null mouse — tissue repair is not dependent on inflammatory cells // *Curr Biol*. 2003. V.13 (13). P.1122–1128.
21. Scott A., Khan K.M., Roberts C.R. et al. What do we mean by the term «inflammation»? A contemporary basic science update for sports medicine // *Br J Sports Med*. 2004. V.38 (3). P.372–380.
22. Tang Y.Q., Yeaman M.R., Selsted M.E. Antimicrobial peptides from human platelets // *Infect Immun*. 2002. V.70 (12). P.6524–6533.
23. Kon E., Mandelbaum B., Buda R. et al. Platelet-rich plasma intra-articular injection versus hyaluronic acid viscosupplementation as treatments for cartilage pathology: from early degeneration to osteoarthritis // *Arthroscopy*. 2011. V.27 (11). P.1490–1501.
24. Cerza F., Carnu S., Carcangiu A. et al. Comparison between hyaluronic acid and platelet-rich plasma, intra-articular infiltration in the treatment of gonarthrosis // *Am J Sports Med*. 2012. V.40 (12). P.2822–2827.
25. Martin P., Leibovich S.J. Inflammatory cells during wound repair: the good, the bad and the ugly // *Trends Cell Biol*. 2005. V.15 (11). P.599–607.
26. Lotz M. Cytokines in cartilage injury and repair // *Clin Orthop Relat Res*. 2001. V.391 (suppl.). P.S108–S115.
27. Jackson D.W., Evans N.A., Thomas B.M. Accuracy of needle placement into the intra-articular space of the knee // *J Bone Joint Surg Am*. 2002. V.84 (9). P.1522–1527.
28. Широкова Л.Ю., Носков С.М., Бахтиарова Т.И. и др. Локальная терапия гонартроза аутологичной, обогащенной тромбоцитами плазмой // *Совр. технол. мед*. 2012. Т.1. С.97–100.
29. Sheth U., Simunovic N., Klein G. et al. Efficacy of autologous platelet-rich plasma use for orthopaedic indications: a meta-analysis // *J Bone Joint Surg Am*. 2012. V.94 (4). P.298–307.
30. Mishra A., Harmon K., Woodall J., Vieira A. Sports medicine applications of platelet rich plasma // *Curr Pharm Biotechnol*. 2012. V.13 (7). P.1185–1195.
31. Filardo G. Use of platelet-rich plasma for the treatment of refractory jumper's knee // *J Int Orthop*. 2010. V.34 (6). P.909–915.
32. Kon E., Buda R., Filardo G. et al. Platelet-rich plasma: intra-articular knee injections produced favorable results on degenerative cartilage lesions // *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2010. V.18 (4). P.472–479.
33. Sanchez M., Anita E., Azofra J. et al. Intra-articular injection of an autologous preparation rich in growth factors for the treatment of knee OA: a retrospective cohort study // *Clin Exp Rheumatol*. 2008. V.26 (5). P.910–913.
34. Patel S., Dhillon M.S., Aggarwal S. et al. Treatment with platelet-rich plasma is more effective than placebo for knee osteoarthritis: a prospective, double-blind, randomized trial // *Am J Sports Med*. 2013. V.41 (2). P.356–364.
35. Anita E., Sanchez M., Nurden A. et al. Platelet-released growth factors enhance the secretion of hyaluronic acid and induce hepatocyte growth factor production by synovial fibroblasts from arthritic patients // *Rheumatology (Oxford)*. 2007. V.46 (12). P.1769–1772.
36. Dhillon M., Patel S., Bali K. Platelet-rich plasma intra-articular knee injections for the treatment of degenerative cartilage lesions and osteoarthritis // *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2011. V.19 (5). P.863–864.

**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

Бегалиев Алмаз Асанович, кандидат медицинских наук, доцент кафедры  
травматологии, ортопедии и урологии медицинского факультета  
Кыргызско-Российского Славянского университета  
Адрес: 720000, Кыргызская Республика, Бишкек, ул. Киевская, 44  
Телефон: (996 312) 54-3092  
E-mail: begaliev303@mail.ru



# Этиология, патогенез и лечение склерозирующего лишая вульвы (обзор литературы)

Т.П.Крапошина, А.Ю.Филюшкина, М.Г.Антонян

Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И.Евдокимова, кафедра акушерства и гинекологии лечебного факультета (зав. кафедрой — проф. И.Б.Манухин)

В обзоре обобщены литературные данные, касающиеся этиологии, патогенеза и лечения склерозирующего лишая вульвы. В структуре гинекологической патологии доля пациенток со склерозирующим лишаем вульвы составляет около 7%. Длительное течение заболевания, сопровождаемое изнурительным зудом, может привести к нервно-психическим и вегетососудистым расстройствам, а также нарушениям взаимоотношений пациентов с окружающими. Известны нейрогенная, эндокринная, обменная, инфекционная, аутоиммунная и другие теории развития склерозирующего лишая вульвы. В связи с особенностями патогенеза этого заболевания все больше исследователей склоняются к необходимости введения в лечебную практику топических кортикостероидов.

*Ключевые слова:* склерозирующий лишай вульвы, этиопатогенез, топические кортикостероиды

## Etiology, Pathogenesis and Treatment of Lichen Sclerosus of the Vulvae: A Literature Review

T.P.Kraposhina, A.Yu.Filyushkina, M.G.Antonyan

Moscow State University of Medicine and Dentistry named after A.I.Evdokimov, Department of Obstetrics and Gynecology of Medical Faculty (Head of the Department — Prof. I.B.Manukhin)

This review generalizes the literary data on the etiology, pathogenesis and treatment of lichen sclerosus of the vulva. In the structure of gynecological pathology proportion of patients with trunk is about 7%. Long term course of the disease, accompanied by debilitating itching can lead to neuropsychiatric and vegetative-vascular disorders, as well as violations of patients' relationships with others. There are known neurogenic, endocrine, metabolic, infectious, autoimmune and some other development theories of lichen sclerosus of the vulva. Due to the nature of pathogenetic mechanisms in the development of lichen sclerosus of the vulva more and more researchers are inclined to the necessity of introduction of topical corticosteroids in the medical practice.

*Key words:* lichen sclerosus of the vulva, etiopathogenesis, topical corticosteroids

**П**онятие «хронические дистрофические заболевания вульвы» (ХДЗВ) включает такие нозологические формы, как склерозирующий лишай и плоскоклеточная гиперплазия. В структуре гинекологической заболеваемости дистрофия вульвы занимает от 0,6 до 9% и представляет собой важную проблему, имеющую как медицинские, так и социальные аспекты [1–4]. ХДЗВ относятся к группе доброкачественных заболеваний вульвы, тем не менее, согласно статистическим данным, рак вульвы на фоне склерозирующего лишая регистрируется в 65–75% наблюдений. Пик заболеваемости чаще

приходится на шестое десятилетие жизни женщин. Однако все чаще в литературе появляются сообщения о верификации дистрофических заболеваний вульвы в препубертатном, пубертатном, репродуктивном периоде и в перименопаузе [5–7].

Клинические проявления ХДЗВ — зуд, болезненность, диспареуния и дизурические расстройства — являются причиной неврозов и депрессивных состояний, которые особенно характерны для склерозирующего лишая. Отсутствие специфических проявлений или незначительная их выраженность на ранней стадии заболевания затрудняет верификацию диагноза и, как следствие, ведет к несвоевременности лечения, сказывается на адекватности терапии, а значит, служит причиной прогрессирования симптоматики и патоморфологических изменений в тканях наружных половых органов.

В 1989 г. Международным обществом по изучению патологии вульвы и Международным обществом патоморфологов была принята новая классификация заболе-

### Для корреспонденции:

Филюшкина Алена Юрьевна, аспирант кафедры акушерства и гинекологии лечебного факультета Московского медико-стоматологического университета им. А.И.Евдокимова

Адрес: 127473, Москва, ул. Делегатская, 20, стр. 1

Телефон: (495) 609-6700

E-mail: filal1983@mail.ru

Статья поступила 21.05.2014, принята к печати 17.09.2014

ваний вульвы (признанная клиницистами всего мира до настоящего времени), согласно которой ХДЗВ относятся к доброкачественным поражениям [8, 9]:

1. Склерозирующий лишай.
2. Плоскоклеточная гиперплазия.
3. Другие дерматиты и дерматозы.

Впервые склерозирующий лишай был описан в 1885 г. A.Breisky для характеристики белесоватых изменений на вульве у пациенток в постменопаузе. Продолжительное время заболевание считалось следствием инволютивных изменений тканей наружных половых органов [2, 3, 10]. Однако верификация диагноза в детском, ювенильном и репродуктивном периоде указывает на отсутствие зависимости подобных изменений вульвы от возраста больных, поэтому данная теория является спорной.

Согласно определению ВОЗ, склерозирующий лишай представляет собой хроническое воспалительное заболевание вульвы неизвестной этиологии с периодами обострений и ремиссий. Клинические проявления заболевания характеризуются прогрессирующей атрофией и склерозом вульвы с выраженным зудом. Кожно-слизистые покровы наружных половых органов при этом белого или восково-желтого цвета, истончены, местами покрыты пестехиями. По мере прогрессирования заболевания аналогичные изменения могут быть обнаружены в полостях носа и рта, на ладонях. Таким образом, стало очевидным, что для склерозирующего лишая возможна и экстрагенитальная локализация [11–14].

Этиология и патогенез хронической дистрофии кожно-слизистых покровов до настоящего времени изучены недостаточно. Данные литературы свидетельствуют о полиэтиологичности этих заболеваний. Известны нейрогенная, эндокринная, обменная, инфекционная, наследственная, аутоиммунная теории развития [2, 3, 7, 15–20].

Ранее предпринимались попытки выявить инфекционные агенты, ответственные за развитие дистрофии. В качестве таких агентов рассматривались вирус папилломы человека, вирус простого герпеса, вирус гепатита С, плеоморфные и кислотоустойчивые бациллы, спирохеты *Borrelia burgdorferi*. Однако результаты серологических тестов и исследований методом полимеразной цепной реакции не подтверждают взаимосвязь между данными возбудителями и развитием дистрофии вульвы [3, 21, 22].

По мнению ряда исследователей [1–3], в основе патогенеза ХДЗВ лежат сложные нейроэндокринные и обменные сдвиги, обусловленные изменениями нервной системы, в частности ее гипоталамических центров, с последующими трофическими нарушениями в области наружных гениталий. Изучение гормонального гомеостаза у больных склерозирующим лишаем выявило выраженное нарушение гипофизарно-надпочечниковой системы, которое проявлялось увеличением уровня кортизола в сыворотке крови и содержания 17-КС в суточной моче, снижением содержания 17-ОКС, а также устойчивым снижением содержания АКТГ, что свидетельствует о сохранении принципа обратной связи между центральными и периферическими эндокринными железами. Уровень ЛГ и ФСГ практически соответствовал таковому в норме, несмотря на значительное снижение содержания прогесте-

рона и тестостерона. Уровень эстрадиола был несколько ниже, чем в норме. Анализ данных о содержании в сыворотке крови пролактина и ТТГ показал, что у всех больных происходило снижение уровня данных гормонов по сравнению с таковым в норме. Однако снижение уровня ТТГ не вызывало повышения содержания Т<sub>3</sub>, напротив, его уровень был несколько снижен, что свидетельствует о нарушении отношений между гипофизом и периферическими железами [2, 3, 6, 23].

Немаловажное значение в изучении склерозирующего лишая вульвы имеет аутоиммунная теория. Так, по данным С.I.Harrington, I.R.Dunsmore (1981), у больных со склерозирующим лишаем выявили повышенный уровень органоспецифических антител. I.Chan и соавт. (2004) у 54 из 90 больных обнаружили сывороточные аутоантитела к протеину 1 экстрацеллюлярного матрикса (ECM1). У 55% пациенток выявили антитела к аминокислоте, у 60% — к цистеин-обогащенному домену, у 8% — к С-концу гликопротеина. Впоследствии были приведены и другие доказательства, подтверждающие действие аутоиммунных механизмов в патогенезе склеротического лишая [7, 15–20, 24]. Однако остается нерешенным вопрос о том, являются ли эти аутоиммунные изменения первопричинами или они возникли позднее, на фоне уже имеющегося заболевания.

Гистологическая картина ХДЗВ зависит от длительности течения и частоты обострений заболевания. Отмечается истончение эпителия с очагами гиперкератоза, в дерме выражен отек. Вакуолярная дистрофия базального слоя эпидермиса особенно характерна для ранних стадий склерозирующего лишая. При прогрессировании может выявляться спонгиоз. Наиболее выраженные изменения претерпевают сосочки дермы, которые становятся уплотненными и отечными на ранних стадиях и позже подвергаются гиалинозу и склерозу. В них выявлен повышенный уровень межклеточного вещества, особенно за счет нейтральных и кислых мукополисахаридов. В поверхностных слоях обнаружена гиалинизация коллагеновых волокон и исчезновение эластических волокон, в глубоких слоях — воспалительный инфильтрат, состоящий преимущественно из лимфоцитов с небольшим количеством плазматических и гистиоцитов. Кровеносные и лимфатические сосуды расширены, повышается их проницаемость для эритроцитов, которые образуют вокруг сосудов микрогематомы. Гиперкератоз эпителия и гомогенизация коллагеновых волокон придают блестящую, белесоватую окраску коже, выявляемую при осмотре. Снижается количество эластических волокон в результате повышения активности эластазы, которую продуцируют фибробласты и нейтрофилы вульвы [3, 12, 25]. M.A.Fung и P.E.Leboit (1998) дополнили гистологические диагностические критерии определения склеротического лишая. Они предложили термин «базальный эпидермотропизм», который включает потерю кожных сосочков, эластических волокон, эпидермальную атрофию, утолщение базальной мембраны.

Отсутствие четких представлений об этиологии и патогенезе склеротического лишая вульвы, а также неоднозначность клинических проявлений привели к существенным различиям в тактике ведения пациенток, страдающих этим заболеванием. До настоящего времени остается ак-

туальным вопросом выбора наиболее адекватного метода лечения ХДЗВ. Общеизвестно, что лечение хронических дистрофических заболеваний наружных половых органов должно быть комплексным, длительным и индивидуальным и учитывать особенности их клинического течения. Целесообразность лечения при бессимптомных проявлениях, по мнению I.Val и G.Almeida (2005), является спорной.

Применяемые методы лечения дистрофий вульвы можно разделить на две основные группы: хирургическую и консервативную. Хирургическое лечение в настоящее время практически не используется ввиду высокой вероятности рецидивов, возможных осложнений и нежелательных косметических дефектов. Данный метод применяется в основном для восстановления нарушенных анатомических структур [26–28]. Однако стеноз входа во влагалище, синехии половых губ и их уздечек и смегматические псевдоцисты часто требуют хирургического вмешательства. При стенозе входа во влагалище применяется вульвоперинеопластика [29, 30].

На сегодняшний день методы выбора хирургического воздействия при ХДЗВ — лазерная абляция либо криодеструкция тканей вульвы [27, 28]. Все меньше в литературе обсуждаются такие методы лечения, как спиртоновокаиновая блокада, паравульварная медикаментозная денервация, регионарное введение кислорода в ткани наружных половых органов, паравульварная диатермоденервация (циркулярная или с отсепаровкой кожного лоскута и слизистой наружных половых органов от подлежащих фасций), диатермотомия периферических нервных окончаний. Данные методы не находят поддержки в связи с осложнениями (некроз, нагноение, уплотнение, склероз подкожной жировой клетчатки, дегенеративные изменения в нервах), которые причиняют страдания больным не меньше, чем само заболевание. Однако ведущей в лечении склерозирующего лишая является консервативная терапия, направленная на снятие психоэмоционального напряжения и чувства зуда, ликвидацию воспалительных изменений и улучшение трофики наружных половых органов.

В настоящее время преобладает тенденция к комплексной консервативной терапии ХДЗВ, включающей методы местного и общего воздействия на организм больных. В связи с тем, что склерозирующий лишай развивается в гормонально-зависимых тканях, значительное место в лечении отводится гормональной терапии. Многие исследователи рекомендуют гормональную терапию половыми стероидами, разовые и курсовые дозы которой отличаются большой вариабельностью и лишены системы. Эффективность ее достигает 21–35% [12, 31].

Локальное назначение препаратов женских половых гормонов в комплексной терапии пациенток с хроническими дистрофическими заболеваниями обоснованно при таких проявлениях гипоэстрогении, как атрофия слизистой влагалища, диспареуния. В последнее время с этой целью успешно применяется крем «Овестин», в состав которого входит эстриол, обладающий тропностью к эпителию нижнего отдела мочевого тракта и не оказывающий стимулирующего влияния на эндометрий [1].

В 1945 г. B.L.Cinberg [10] впервые отметил эффективность местного применения тестостерона для лечения дистрофических заболеваний вульвы. Позже E.G.Friederich [6] теоретически обосновал возможность его применения, показав, что у больных ХДЗВ снижен уровень дигидротестостерона в крови, который повышается после местного использования 2% тестостерона пропионата. Тем не менее данные об эффективности андрогенов в лечении склеротического лишая противоречивы. В одних исследованиях сообщается о снижении симптоматики, улучшении клинической и гистологической картины [6], по другим данным, использование тестостерона не дает положительных эффектов по сравнению с плацебо [32].

R.Rouzier и соавт. (2002) выполнили контрольную биопсию и гистологическое исследование тканей вульвы через 6 нед после завершения курса лечения 2% тестостерона пропионатом. Согласно полученным результатам исследования, положительной динамики гистологических изменений ни у одной из пациенток выявлено не было, хотя у 63% из них на фоне лечения было отмечено значительное снижение чувства зуда [33]. Данные исследований рецепторного аппарата вульвы (Hadgins M.B. и соавт., 1998; Kohlberger P.D. и соавт., 1998) свидетельствуют о наличии рецепторов к андрогенам, эстрогенам и кортикостероидам в эпителии и строме вульвы. Однако рецепторы к эстрогенам и прогестерону представлены скудно, поэтому эффект использования препаратов, в состав которых входят вышеуказанные гормоны, авторы оценивают как сомнительный.

Введение в дерматологическую практику топических кортикостероидов относится к началу 50-х гг. XX века. С тех пор они остаются основными препаратами наружной терапии в данной области медицины. Механизм действия кортикостероидов многосторонен: гипосенсибилизация рецепторов пораженной кожи к гистамину и серотонину, блокада гистаминазы  $A_2$ , повышение активности гиалуронидазы. В результате происходит уменьшение проницаемости сосудистой стенки, экссудативных явлений и зуда, нормализация тонуса сосудов, стабилизация клеточных мембран и соединительной ткани. Противовоспалительный эффект кортикостероидов также связан с ингибирующим влиянием на синтез таких медиаторов воспаления, как простагландины, лейкотриены, интерлейкины, компоненты комплемента и др. Стероиды оказывают иммуносупрессивное воздействие на кожу путем торможения миграции лимфоцитов и макрофагов, пролиферации фибробластов, синтеза коллагена, эпидермального митоза, снижения уровня эластина и глюкозамина. В результате применения кортикостероидов снижается выброс лизосомальных ферментов, в эпидермисе уменьшается количество тучных клеток и клеток Лангерганса, отмечается длительный ангиоспазм [34, 35].

В зависимости от выраженности клинического эффекта современные топические кортикостероиды разделяют на 4 группы [34]:

- препараты слабой активности (гидрокортизон 1%, преднизолон 0,5%, фторцинолона ацетонид 0,0025%);
- препараты умеренного действия (алклометазона дипропионат 0,05%, бетаметазона валерат 0,025%, клобе-

тазола бутират 0,05%, дезоксиметазон 0,05%, флуметазона пивалат 0,02% и 2%);

– препараты сильного действия (бетаметазона валерат 0,1%, бетаметазона дипропионат 0,025% и 0,5%, бутезонид 0,25%, фторлоролон ацетонид 0,025%, фторциноид 0,05%, фторцинолона ацетонид 0,025%, триамцинолона ацетонид 0,02% и 2%, метилпреднизолон ацепонат 0,1%, триамцинолона ацетонид 0,1%, фторцинолона ацетонид 0,025%, гидрокортизона 17-бутират 0,1%, мометазона флуорат 0,1%);

– препараты с очень сильной активностью (клобетазола пропионат 0,05%, дифторкортолона валерат 0,05%, галцинонид 0,1%).

Среди кортикостероидов выделяют галогенизированные (фторированные) и негалогенизированные [35]. Фторированные кортикостероиды (дексаметазон, бетаметазон, флуметазон, триамцинолон, клобетазол, флутиказон, флуоцинолон, флуметазон), как правило, обладают большей противовоспалительной активностью, но чаще приводят к возникновению побочных эффектов. К негалогенизированным кортикостероидам относят производные преднизолон (мометазона флуорат, метилпреднизолон ацепонат, гидрокортизона ацетат и гидрокортизона 17-бутират).

В связи с особенностями патогенетических механизмов в развитии склеротического лишая вульвы все больше исследователей склоняются к необходимости введения в лечебную практику топических кортикостероидов [1, 3–5, 21, 22, 31].

Использование глюкокортикоидов основано на их способности оказывать противовоспалительное, антиэкссудативное, фибростатическое действие. Однако длительные курсы системного применения кортикостероидов сопровождаются большим числом побочных эффектов в виде замедления репаративных процессов, присоединения вторичной инфекции. При пероральном применении глюкокортикоидов в связи с их влиянием на гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую систему происходит изменение уровня кортизола в крови [23]. В связи с возможными осложнениями при системном приеме кортикостероидов предпочтение отдается их местному применению [34, 35].

В клинической практике для лечения склерозирующего лишая наиболее часто применяют клобетазола пропионат. Этот препарат относится к группе фторсодержащих кортикостероидов очень сильного действия. О возможных побочных эффектах препаратов этой группы было сказано выше.

Приведенные данные свидетельствуют о том, что лечение склерозирующего лишая — одна из актуальных проблем современной гинекологии. Выраженность клинических проявлений является причиной неврозов и депрессивных состояний, которые могут приводить к утрате трудоспособности. Совершенствование лечебных мероприятий при хронических дистрофических заболеваниях по-прежнему остается важной задачей и требует проведения дополнительных исследований. Современные данные литературы и собственные наблюдения дают основание считать назначение топических кортикостероидов патогенетически обоснованным и, кроме того, позволяют решить ряд социальных проблем благодаря быстрому купированию зуда вульвы и восстановлению работоспособности.

## Литература

1. Балан В.Е., Муравьева В.В., Сметник В.П. Урогенитальные расстройства в климактерии (клиника, диагностика, лечение) // Пробл. репродукции. 1996. №6. С.50–54.
2. Гилязутдинова З.Ш. Функциональные патологические изменения у женщин в мено- и постменопаузе. М.: Медицина, 1995. С.26.
3. Тишенина Р.С., Донская О.В., Лобанова О.А., Стоцкая Т.В. Изменение уровня кортизола в крови и фракций кортизола в моче у больных при назначении синтетических глюкокортикоидов // 5-й Российский национальный конгресс «Человек и лекарство»: Тезисы докладов. М., 1998. С.217.
4. Cinberg B.L. Postmenopausal pruritus vulvae // Am J Obstet Gynecol. 1945. V.49. P.647–657.
5. Edwards Q.T., Saunders-Goldson S. Lichen sclerosus of the vulva in women: assessment, diagnosis and management for the nurse practitioner // J Am Acad Nurse Pract. 2003. V.15 (3). P.115–119.
6. Fisher G.O. Vulvar disease in pre-pubertal girls // Australas J Dermatol. 2001. V.42 (4). P.225–234, 235–236.
7. Kügler K., Brinkmeier T., Frosch P.J., Uter W. Anogenital dermatoses — allergic and irritative causative factors. Analysis of IVDK data and review of the literature // J Dtsch Dermatol Ges. 2005. V.3 (12). P.979–986.
8. Neill S.M., Tatnall F.M., Cox N.H. Guidelines for the management of lichen sclerosus // Br J Dermatol. 2002. V.147 (4). P.640–649.
9. Oyama N., Chan I., Neill S.M. et al. Development of antigen-specific ELISA for circulating autoantibodies to extracellular matrix protein 1 in lichen sclerosus // J Clin Invest. 2004. V.113 (11). P.1550–1559.
10. Chan I., Oyama N., Neill S.M. et al. Characterization of IgG autoantibodies to extracellular matrix protein 1 in lichen sclerosus // Clin Exp Dermatol. 2004. V.29 (5). P.499–504.
11. Штемберг М.И. Крауроз и лейкоплакия вульвы. Кишинев: Штиинца, 1980. 198 с.
12. Friedrich E.G. Jr., Kalra P.S. Serum levels of sex hormones in vulvar lichen sclerosus, and the effect of topical testosterone // N Engl J Med. 1984. V.310 (8). P.488–491.
13. Hodgins M.B., Spike R.C., Mackie R.M., MacLean A.B. An immunohistochemical study of androgen, oestrogen and progesterone receptors in the vulva and vagina // Br J Obstet Gynaecol. 1998. V.105 (2). P.216–222.
14. Kohlberger P.D., Joura E.A., Bancher D. et al. Evidence of androgen receptor expression in lichen sclerosus: an immunohistochemical study // J Soc Gynecol Investig. 1998. V.5 (6). P.331–333.
15. Bouaziz J.D., Barete S., Ayoub N. et al. Lichen sclerosus and atrophicus of palms and wrists // Ann Dermatol Venereol. 2003. V.130 (12 Pt. 1). P.1180–1181.
16. Fung M.A., LeBoit P.E. Light microscopic criteria for the diagnosis of early vulvar lichen sclerosus: a comparison with lichen planus // Am J Surg Pathol. 1998. V.22 (4). P.473–478.
17. Harrington C.I., Dunsmore I.R. An investigation into the incidence of autoimmune disorders in patients with lichen sclerosus and atrophicus // Br J Dermatol. 1981. V.104 (5). P.563–566.
18. New nomenclature for vulvar disease. Report of the Committee on Terminology of the International Society for the Study of Vulvar Disease // J Reprod Med. 1990. V.35 (5). P.483–484.
19. Report of the Committee on Terminology, ISSVD: New nomenclature for vulvar disease // Int J Gynecol Pathol. 1989. V.8 (3). P.83–84.
20. Stücker M., Grape J., Bechara F.G. et al. The outcome after cryosurgery and intralesional steroid injection in vulvar lichen sclerosus corresponds to preoperative histopathological findings // Dermatology. 2005. V.210 (3). P.218–222.

21. Tchórzewski H., Rotsztein H., Banasik M. et al. The involvement of immunoregulatory T cell in the pathogenesis of lichen sclerosus // *Med Sci Monit.* 2005. V.11 (1). P.CR39–43.
22. Val I., Almeida G. An overview of lichen sclerosus // *Clin Obstet Gynecol.* 2005. V.48 (4). P.808–817.
23. Малышев Л.К. Диагностика и лечение крауроза вульвы: Учебное пособие / Ленинградский государственный институт усовершенствования врачей им. С.М.Кирова. Л., 1989. С.5–16.
24. Marini A., Blecken S., Ruzicka T., Hengge U.R. Lichen sclerosus. New aspects of pathogenesis and treatment // *Hautarzt.* 2005. V.56 (6). P.550–555.
25. Regauer S. Immune dysregulation in lichen sclerosus // *Eur J Cell Biol.* 2005. V.84 (2–3). P.273–277.
26. Jiménez Y., Bagán J.V., Milián M.A. et al. Lichen sclerosus et atrophicus manifesting with localised loss of periodontal attachment // *Oral Dis.* 2002. V.8 (6). P.310–313.
27. Kastner U., Altmeyer P. Cryosurgery — the lost resort or a surgical alternative in the treatment of lichen sclerosus et atrophicus of the vulva // *J Dtsch Dermatol Ges.* 2003. V.1 (3). P.206–211.
28. Cattaneo A., De Magnis A., Botti E. et al. Topical mometasone furoate for vulvar lichen sclerosus // *J Reprod Med.* 2003. V.48 (6). P.444–448.
29. Regauer S., Liegl B., Reich O. et al. Vulvar lichen sclerosus. The importance of early clinical and histological diagnosis // *Hautarzt.* 2004. V.55 (2). P.158–164.
30. Rettenmaier M.A., Braly P.S., Roberts W.S. et al. Treatment of cutaneous vulvar lesions with skinning vulvectomy // *J Reprod Med.* 1985. V.30 (6). P.478–480.
31. Sideri M., Origoni M., Spinaci L., Ferrari A. Topical testosterone in the treatment of vulvar lichen sclerosus // *Int J Gynaecol Obstet.* 1994. V.46 (1). P.53–56.
32. Kaufman R.H., Friedrich E.G. Jr. The carbon dioxide laser in the treatment of vulvar disease // *Clin Obstet Gynecol.* 1985. V.28 (1). P.220–229.
33. Rouzier R., Haddad B., Deyrolle C. et al. Perineoplasty for the treatment of introital stenosis related to vulvar lichen sclerosus // *Am J Obstet Gynecol.* 2002. V.186 (1). P.49–52.
34. Гребенюк В.Н. Наружные кортикостероиды в лечении atopического дерматита // *Consilium Medicum.* 2003. Т.5. №3. С.120–123.
35. Лапшин Н.Н., Латышева Т.В. Рациональная наружная терапия аллергодерматозов // *Рос. аллерголог. журн.* 2004. №1. С.2–9.

---

**Информация об авторах:**

Крапошина Татьяна Павловна, кандидат медицинских наук, доцент кафедры акушерства и гинекологии лечебного факультета Московского медико-стоматологического университета им. А.И.Евдокимова  
Адрес: 127473, Москва, ул. Делегатская, 20, стр. 1  
Телефон: (495) 609-6700  
E-mail: filal1983@mail.ru

Антонян Маргарита Георгиевна, аспирант кафедры акушерства и гинекологии лечебного факультета Московского медико-стоматологического университета им. А.И.Евдокимова  
Адрес: 127473, Москва, ул. Делегатская, 20, стр. 1  
Телефон: (495) 609-6700  
E-mail: bokamar@yandex.ru

# Микроциркуляторное русло миокарда при некоронарогенных заболеваниях сердца

В.Г.Цыпленкова<sup>1</sup>, В.Б.Суслов<sup>2</sup>, А.П.Эттингер<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, кафедра морфологии медико-биологического факультета, Москва (и.о. зав. кафедрой — д.б.н. П.В.Сутягин);

<sup>2</sup>Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, НИИ фундаментальных и прикладных биомедицинских исследований, Москва (директор — проф. А.П.Эттингер)

На материале эндомикардиальных и инцизионных биопсий при некоронарогенных заболеваниях (дилатационной и диабетической кардиомиопатиях, пароксизмальных нарушениях ритма, аритмогенной дисплазии правого желудочка) на полутонких и ультратонких срезах исследовано микроциркуляторное русло миокарда. Морфометрически обнаружены снижение плотности капиллярного русла миокарда, дегенеративные изменения в эндотелиоцитах капилляров, микротромбозы. Высказано предположение, что данные изменения служат факторами прогрессирования сердечной недостаточности.

Ключевые слова: кардиомиопатия, миокард, ультраструктура, микроциркуляция

## Microcirculatory Bed of Myocardium in Non-Coronarogenic Heart Diseases

V.G.Tsyplenkova<sup>1</sup>, V.B.Suslov<sup>2</sup>, A.P.Oettinger<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Pirogov Russian National Research Medical University, Department of Morphology of Medical-Biological Faculty, Moscow (Acting Head of the Department — DBiolSci P.V.Sutyagin);

<sup>2</sup>Pirogov Russian National Research Medical University, Institute for Fundamental and Applied Biomedical Research, Moscow (Director — Prof. A.P.Oettinger)

On the material of endomyocardial and intraoperation biopsies from patients with noncoronarogenic heart diseases (dilated and diabetic cardiomyopathies, paroxysmal arrhythmia, arrhythmogenic right ventricular dysplasia) on semithin and ultrathin sections there was studied myocardial microcirculation bed. By morphometry there was found the decrease of capillaries density of myocardial bed, degenerative changes in endothelial cells and microthrombosis. It was supposed that these changes are the factors of progression of heart failure.

Key words: cardiomyopathy, myocardium, ultrastructure, microcirculation

Ранее нами было показано, что основной причиной формирования сердечной недостаточности при некоронарогенных заболеваниях сердца является снижение количества рабочих кардиомиоцитов (КМЦ) в миокарде за счет их старения, дедифференцировки и гибели [1, 2]. При высоких энергетических потребностях сердца, а также специализации КМЦ роль коронарного кровотока в патогенезе заболеваний миокарда неопределима. Было также продемонстрировано, что при сохранных и проходимых

эпикардиальных коронарных артериях при кардиомиопатиях в миокарде обнаруживаются изменения ишемического характера [3], что наводит на мысль о существовании недостаточности капиллярного кровотока.

Целью настоящего исследования было проведение гистологического и ультраструктурного анализа состояния микроциркуляторного русла миокарда при некоторых некоронарогенных заболеваниях сердца: дилатационной, диабетической кардиомиопатиях, аритмогенной дисплазии правого желудочка, пароксизмальных тахикардиях, в эту же группу включили больных с синдромом Вольфа–Паркинсона–Уайта.

### Для корреспонденции:

Цыпленкова Валерия Герасимовна, доктор медицинских наук, профессор кафедры морфологии медико-биологического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова

Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1  
Телефон: (495) 434-6429  
E-mail: valchicken@mail.ru

Статья поступила 27.05.2014, принята к печати 17.09.2014

### Материалы и методы

Исследование проводили на материале диагностических эндомикардиальных биопсий, полученных из миокарда правого или левого желудочка больных с кли-

ническими диагнозами «дилатационная кардиомиопатия» и «диабетическая кардиомиопатия». Инцизионные биоптаты были получены у больных с пароксизмальной тахикардией, синдромом Вольфа–Паркинсона–Уайта, аритмогенной дисплазией правого желудочка из аритмогенных и неаритмогенных зон миокарда правого желудочка, межжелудочковой перегородки и правого предсердия. Возраст больных варьировал от 34 до 50 лет. Всего изучали биоптаты 18 больных (15 мужчин и 3 женщины). В качестве группы сравнения исследовали миокард 4 пациентов (мужчины) того же возраста с ишемической кардиомиопатией при наличии значимого (50–70%) стеноза двух коронарных артерий. У всех больных отмечены клинические признаки сердечной недостаточности (IIA–Б).

Ткань миокарда фиксировали в забуференном растворе параформальдегида, постфиксировали в осмиевой кислоте, полутонкие срезы толщиной 1 мкм после удаления смолы окрашивали гематоксилином и эозином, ультратонкие толщиной 50–70 нм контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца, просматривали и фотографировали в электронном микроскопе при ускоряющем напряжении 80 кВ. Измерения и их статистическую обработку проводили с помощью компьютерной программы Image-Pro.

### Результаты исследования и их обсуждение

При изучении полутонких срезов обнаружено, что при наличии выраженной гипертрофии КМЦ капилляр становился редко встречаемой структурой в ткани миокарда. Измерение плотности капиллярного русла показало, что при диабетической кардиомиопатии происходит наиболее резкое снижение плотности капиллярного русла миокарда (таблица). Эти данные достоверно различаются с полученными нами ранее при черепно-мозговой травме [3].

Плотности капилляров при диабетической и ишемической кардиомиопатиях между собой достоверно не различались, хотя при ишемической кардиомиопатии имели место выраженные стенозы крупных коллекторов — эпикардиальных коронарных артерий на 50–70% их просвета.

При дилатационной кардиомиопатии обнаружено практически двукратное снижение плотности капиллярного русла по сравнению с травмой. При пароксизмальной тахикардией и синдроме Вольфа–Паркинсона–Уайта не вы-

явлено достоверного снижения плотности капиллярного русла по сравнению с миокардом при черепно-мозговой травме, однако существовала выраженная тенденция ее снижения. При аритмогенной дисплазии правого желудочка плотность капиллярного русла была достоверно снижена по сравнению с черепно-мозговой травмой, но была выше таковой при дилатационной, диабетической и ишемической кардиомиопатиях (см. таблицу).

Ультраструктурное изучение биоптатов показало, что при пароксизмальной тахикардией и синдроме Вольфа–Паркинсона–Уайта как в аритмогенных, так и в неаритмогенных зонах миокарда происходило неравномерное кровенаполнение микроциркуляторного русла, имелось значительное количество капилляров, не содержащих форменных элементов, а также капилляров с признаками деструкции эндотелиоцитов, снижением микропиноцитозной активности (рис. 1, а). Отмечены капилляры с резко осмиофильными эндотелиоцитами и апоптотически измененными ядрами, просвет капилляров часто был резко сужен (рис. 1, б).

При аритмогенной дисплазии правого желудочка встречались мелкие интрамуральные артерии и артериолы с утолщенными стенками, отсутствием просвета, фибро-жировой дегенерацией интерстиция вокруг микрососудов (рис. 2, а). В эндотелии капилляров отмечено накопление гранул Паладе, десквамация участков эндотелия, просвет капилляров практически не определялся, базальная мембрана была расширена и мультиплицирована (рис. 2, б).

При дилатационной кардиомиопатии в эндотелиоцитах капилляров можно было видеть признаки деструкции органелл и гибели эндотелиальных клеток. Эндотелиоциты различались по электронной плотности, участки погибших клеток обнаруживались в просвете капилляров, представляя собой препятствия току крови (рис. 3, а).

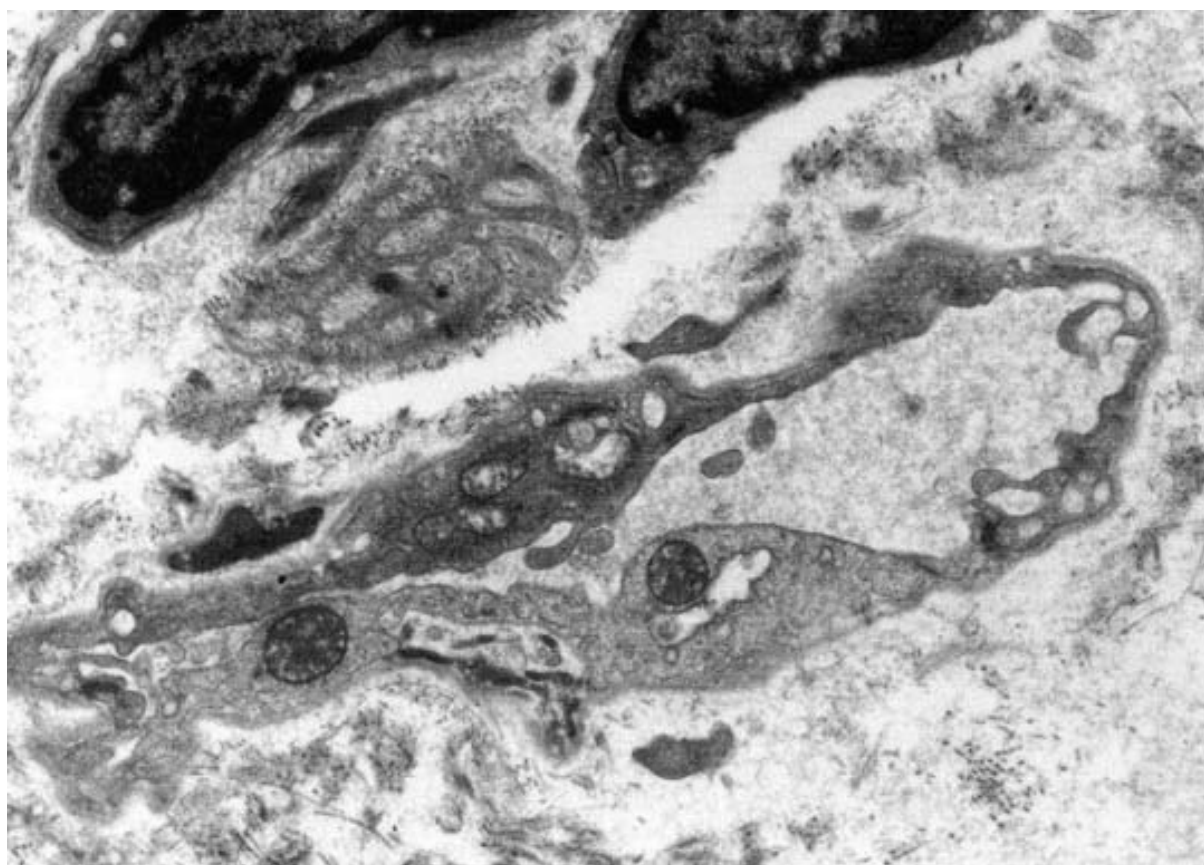
При диабетической кардиомиопатии характерными были явления адгезии форменных элементов крови к эндотелиоцитам, отмечены микротромбозы (рис. 3, б). Цитоплазма эндотелиоцитов в большинстве капилляров выглядела резко осмиофильной, между клетками эндотелия преобладали простые контакты, базальная мембрана была значительно расширена и мультиплицирована.

Выявленные микроциркуляторные изменения при различных некоронарогенных заболеваниях сердца свидетельствуют о том, что одним из ведущих звеньев в прогрессировании этих заболеваний можно считать недостаточность микроциркуляторного русла миокарда. Известно, что в связи с высокой специализацией КМЦ практически лишены аппаратов синтеза, и все необходимое для функционирования клетки миокарда получают из крови. Ранее нами было показано, что для некоронарогенных заболеваний, сопровождающихся сердечной недостаточностью, в частности для дилатационной кардиомиопатии, характерна выраженная гипертрофия КМЦ [2, 4]. Резко увеличивающиеся в размерах КМЦ как бы раздвигают капиллярные сосуды, и их плотность на единицу площади уменьшается. Существуют литературные данные о ремоделировании микроциркуляторного русла при гипертрофии миокарда [5].

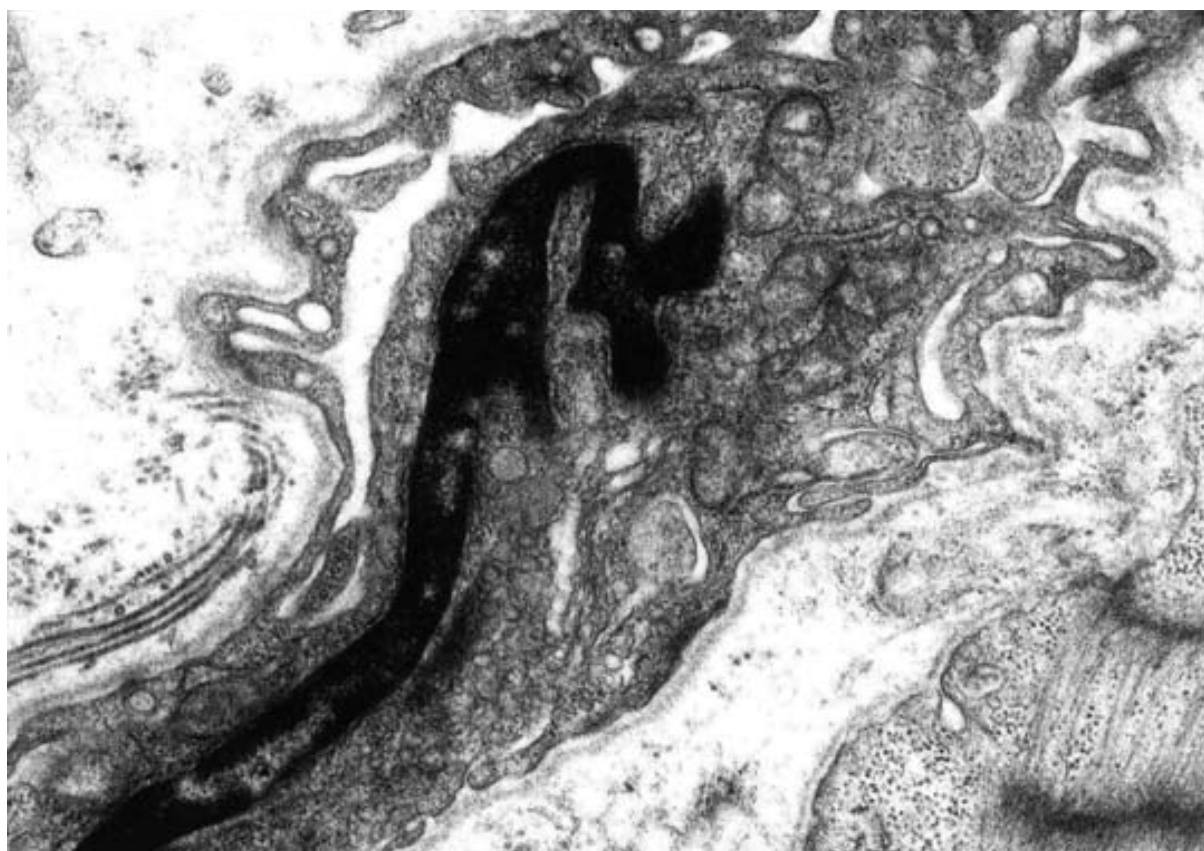
Таблица. Плотность капиллярного русла на 1 мм<sup>2</sup> площади среза миокарда

Заболевание	Значение
Дилатационная кардиомиопатия	1432 ± 185*
Диабетическая кардиомиопатия	1251 ± 243*
Аритмогенная дисплазия правого желудочка	1778 ± 396*
Пароксизмальная тахикардия	1989 ± 497
Ишемическая кардиомиопатия	1174 ± 381*
Черепно-мозговая травма	2736 ± 217

\* —  $p < 0,05$  при сравнении с черепно-мозговой травмой



**а**



**б**

**Рис. 1. Ультраструктура микроциркуляторного русла миокарда при пароксизмальных тахиаритмиях. а — капилляр из миокарда правого желудочка, деструкция эндотелиоцитов, снижение микропиноцитозной активности (ув. 10 000); б — капилляр из миокарда межжелудочковой перегородки с резко суженным просветом, осмиофильными эндотелиоцитами, апоптотическим ядром (ув. 18 000).**



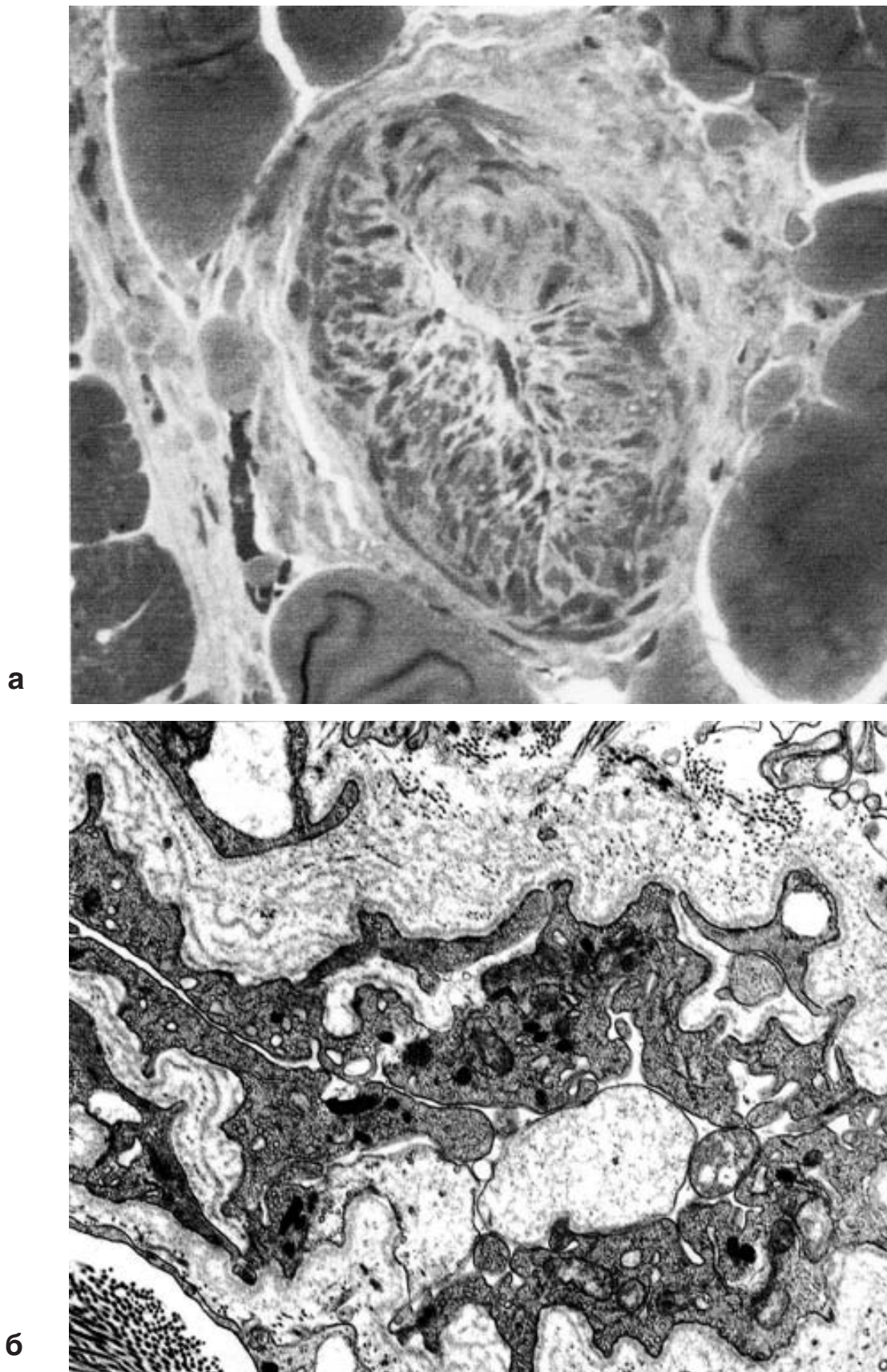
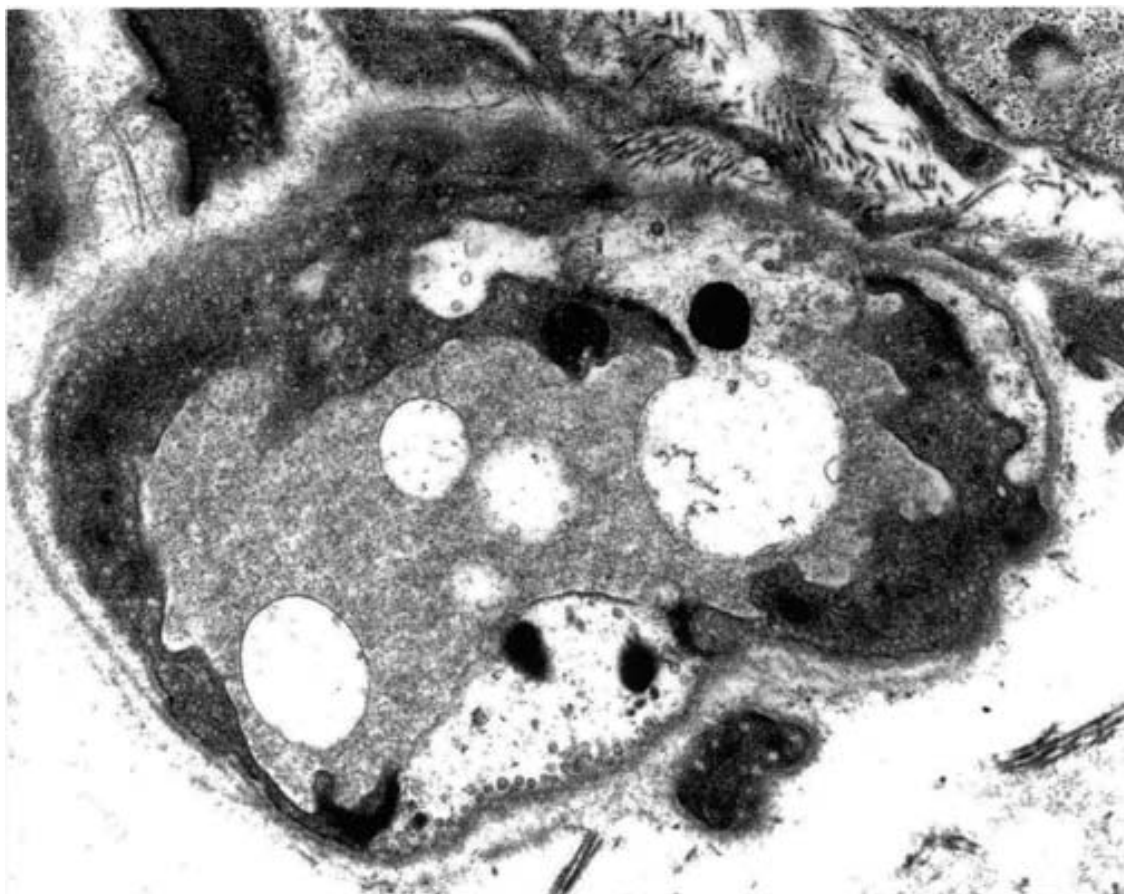
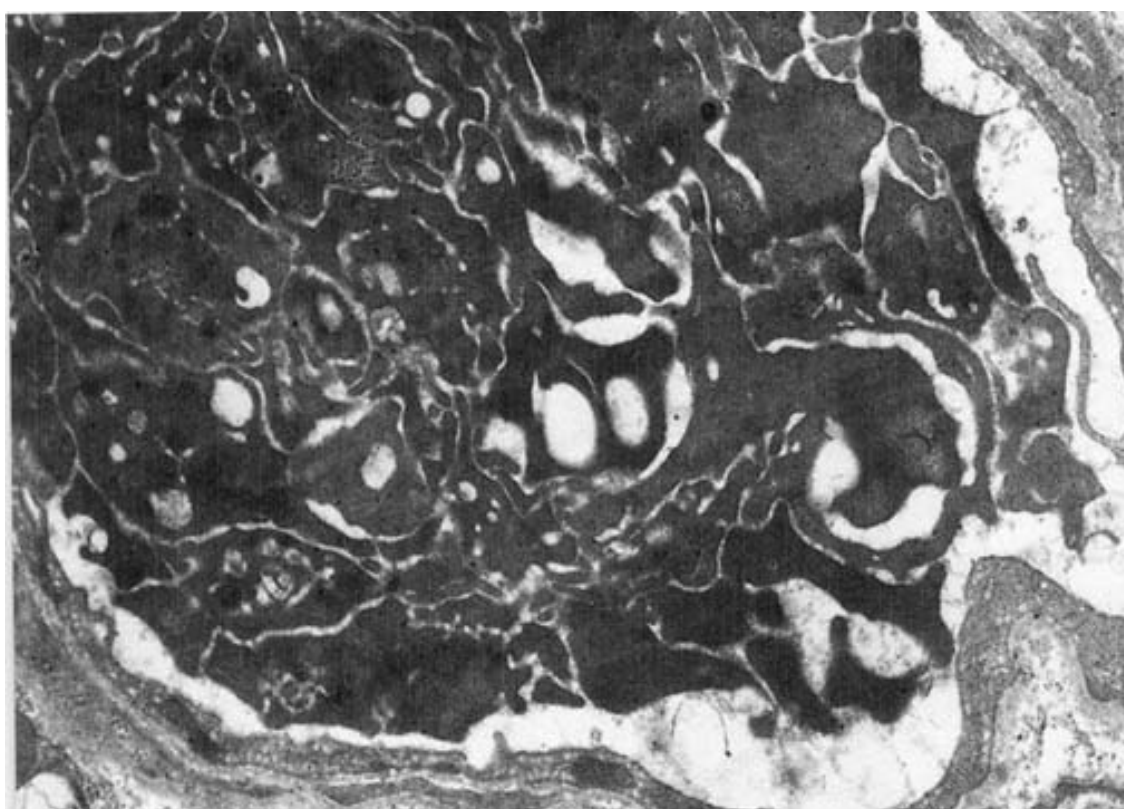


Рис. 2. Гистологическая и ультраструктурная организация микроциркуляторного русла миокарда при аритмогенной дисплазии правого желудочка. а — мелкая интрамуральная артерия из миокарда правого желудочка с утолщенными стенками и отсутствием просвета, периваскулярно отмечается фибро-жировая дисплазия интерстиция (полутонкий срез, окраска гематоксилином и эозином, об. 40, ок. 10); б — накопление гранул Паладе в эндотелии капилляра, десквамация участков измененного эндотелия в просвет сосуда, мультипликация базальной мембраны (ув. 15 000).



**а**



**б**

Рис. 3. Состояние микроциркуляторного русла миокарда при кардиомиопатиях. а — миокард левого желудочка при дилатационной кардиомиопатии, эндотелиоциты капилляра различны по электронной плотности, в просвете сосуда присутствуют фрагменты погибших эндотелиоцитов (ув. 15 000); б — тромбоз капилляра из миокарда левого желудочка при диабетической кардиомиопатии (ув. 10 000).

По нашему мнению, резкое снижение количества капилляров на единицу площади среза нельзя объяснить только гипертрофией КМЦ. Мы обнаружили деструкцию и гибель эндотелиальных клеток, в связи с чем возможно исчезновение части капилляров. Данные литературы также говорят о высокой степени дегенеративных изменений эндотелиальных клеток капилляров при дилатационной кардиомиопатии: нарушении целостности мембран клеток, деструкции ядер и митохондрий [6].

Показано, что при диабетической кардиомиопатии плотность капиллярного русла миокарда падает пропорционально продолжительности заболевания сахарным диабетом 2 типа [7].

Обнаруженные нами сужение или полное перекрытие просвета мелких артерий или артериол приводит к запустеванию капилляров и выключению их из системы микроциркуляции.

Данные последних лет связывают изменения в КМЦ и эндотелиальных клетках капилляров при кардиомиопатиях с мутациями в белках интерстиция миокарда, таких как ламинин, интегрин [8]. Исследование этих молекулярно-клеточных механизмов несомненно может приблизить нас к разгадке патогенеза многих некоронарогенных заболеваний.

### Заключение

Проведенное светооптическое и электронно-микроскопическое изучение микроциркуляторного русла миокарда при некоронарогенных заболеваниях показало, что, несмотря на отсутствие стенозов в эпикардальных артериях сердца, в миокарде существуют признаки капиллярной недостаточности. Падает плотность капиллярного русла, выявлены дегенеративные изменения в эндотелии капилляров, факты слушивания поврежденного эндотелия в просвет капилляра, адгезии форменных элементов к эндотелиоцитам, а также выключения капилляров из микроциркуляции за счет микротромбозов. Изменения в системе микроциркуляции несомненно являются важным звеном в патогенезе некоронарогенных заболеваний миокарда и фактором прогрессирования сердечной недостаточности.

### Литература

1. Цыпленкова В.Г. Механизмы старения и гибели кардиомиоцитов при некоронарогенных заболеваниях сердца // *Арх. патол.* 2012. №1. С.22–26.
2. Цыпленкова В.Г. Гистологические и ультраструктурные характеристики миокарда при сердечной недостаточности // *Кардиология.* 2013. №9. С.58–62.
3. Цыпленкова В.Г. Дедифференцировка, «гибернация» и апоптоз кардиомиоцитов — возможные факторы прогрессирования диабетической кардиомиопатии // *Арх. патол.* 2009. №4. С.30–33.
4. Цыпленкова В.Г., Бескровнова Н.Н. Сравнительная морфологическая и морфометрическая характеристика миокарда больных с клиническим диагнозом гипертрофической кардиомиопатии // *Арх. патол.* 1993. №3. С.26–29.
5. Krams R., Kofflard M.J., Duncker D.J. et al. Decreased coronary flow reserve in hypertrophic cardiomyopathy is related to remodeling of the coronary microcirculation // *Circulation.* 1998. V.97 (3). P.230–233.
6. Schäfer R., Abraham D., Paulus P. et al. Impaired VE-cadherin/ $\beta$ -catenin expression mediates endothelial cell degeneration in dilated cardiomyopathy // *Circulation.* 2003. V.108 (13). P.1585–1591.
7. Yoon Y.S., Uchida S., Masuo O. et al. Progressive attenuation of myocardial vascular endothelial growth factor expression is a seminal event in diabetic cardiomyopathy: restoration of microvascular homeostasis and recovery of cardiac function in diabetic cardiomyopathy after replenishment of local vascular endothelial growth factor // *Circulation.* 2005. V.111 (16). P.2073–2085.
8. Knöll R., Postel R., Wang J. et al. Laminin- $\alpha$ 4 and integrin-linked kinase mutation cause human cardiomyopathy via simultaneous defects in cardiomyocytes and endothelial cells // *Circulation.* 2007. V.116 (5). P.515–525.

### Информация об авторах:

Суслов Владимир Борисович, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отдела электронной микроскопии НИИ фундаментальных и прикладных биомедицинских исследований Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова  
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1  
Телефон: (495) 434-6429  
E-mail: suslov\_vb@mail.ru

Эттингер Александр Павлович, доктор медицинских наук, профессор, директор НИИ фундаментальных и прикладных биомедицинских исследований Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова  
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1  
Телефон: (495) 434-1401  
E-mail: oett@rsmu.ru

# Цитологические особенности респираторных отделов легких при хроническом воспалении

Г.Г.Кругликов, Л.М.Лихачева, В.Б.Суслов, Н.Б.Странжа, А.П.Эттингер

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

При хроническом воспалении в легких (хроническая обструктивная болезнь легких, туберкулез, пневмоконйозы) методом электронной микроскопии выявлены структурно-функциональные особенности в клетках гранулем (лейкоцитах, макрофагах, плазматических и тучных), выполняющих защитные функции, а также в стационарных, долгоживущих гладких миоцитах, в эндотелии оболочек бронхиол, кровеносных сосудов и в нервных окончаниях. Воспалительный процесс охватывает все ткани респираторных отделов.

*Ключевые слова: воспаление, ацинус, электронная микроскопия*

## Cytologic Features of Respiratory Portions of the Lungs in Chronic Inflammation

G.G.Kruglikov, L.M.Likhatcheva, V.B.Suslov, N.B.Stranzha, A.P.Oettinger

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

In chronic inflammation in the lungs (chronic obstructive pulmonary disease, tuberculosis, pneumoconiosis) there were revealed by the method of electron microscopy structural and functional features in granuloma cells (leukocytes, macrophages, plasmatic and corpulent cells) performing the protective function, as well as in stationary, long-lived smooth myocytes, in endothelial membranes of the bronchial tubes, blood vessels and nerve endings. The inflammatory process covers all the departments of respiratory portions.

*Key words: inflammation, acinus, electron microscopy*

**Б**лезни органов дыхания (ХОБЛ, астма, туберкулез, пневмоконйозы и др.) в настоящее время вышли на первое место по количеству заболеваний в мире, в том числе и в России. В последующие годы прогнозируется их дальнейшее распространение. Рост числа заболеваний органов дыхания связан с непрерывным развитием научно-технического процесса и выбросом в атмосферу вредных веществ, повышением устойчивости микробов к лекарственным препаратам, а также с увеличением случаев природных аномалий. В качестве примеров можно отметить постоянные выбросы вулканов, лесные пожары, пыльные бури, радиоактивные выбросы АЭС, выхлопные газы транспорта, добычу сланцевого газа, курение табака и наркотических средств [1].

В отдельных регионах загрязнение воздушной среды аэрозолями достигло такого уровня, что потребовало выделения в пульмонологии нового научного направления — экологической пульмонологии [2]. В состав аэрозолей входят микрочастицы, измеряемые в микрометрах, и наночастицы, составляющие тысячные доли микрометра. Число подобных частиц велико и постоянно растет, многие из них обладают сильным цитотоксическим действием.

Широкое распространение и рост числа заболеваний легких от воздействия промышленных пылевых частиц (аэрозолей) также связаны с появлением новых раздражающих агентов с неясным механизмом патогенеза, особенно при массивном действии наночастиц, и с отсутствием профилактики и лечения подобных болезней. Следует отметить чрезвычайно высокую чувствительность органов дыхания к действию повреждающих факторов, например, токсическое воздействие вдыхаемого фтора в 10 раз сильнее, чем введение такой же дозы фтора в растворенном виде в пищеварительный тракт. Связано это, по-видимому, с отсутствием специального органа детоксикации, такого как печень в пищеварительной системе [2].

Космические исследования выявили наличие пылевых частиц и вне Земли, на поверхности Луны и Марса. Лунная

### Для корреспонденции:

Кругликов Герман Григорьевич, доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник отдела электронной микроскопии НИИ фундаментальных и прикладных биомедицинских исследований Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова

Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1

Телефон: (495) 434-6429

E-mail: oett@rsmu.ru

Статья поступила 21.04.2014, принята к печати 17.09.2014

пыль, оседая на механизмах космических аппаратов, нарушала их работу, а та, что попадала внутрь лунного модуля космического корабля «Аполлон», раздражала органы дыхания и глаза астронавтов. Раздражающий эффект лунной пыли также ощутили ученые, изучавшие ее в земных условиях. Разносторонние исследования эффектов лунного грунта на тканевом и органном уровне продолжают, в том числе и на моделях пневмокониозов, развивающихся как хроническое воспаление [3].

Изучение воспалительных реакций при ХОБЛ и туберкулезе, наряду с экспериментальными данными развития пневмокониозов, способствует лучшему пониманию патологических процессов, особенно в динамике развития и взаимосвязи фаз воспаления, и участия в них всех тканей организма [4].

Задачей данного исследования было изучение особенностей фагоцитоза, иммунных механизмов защиты, секреции цитокинов клетками очагов воспалительных процессов на экспериментальном и клиническом материале, что необходимо для уточнения патогенеза, проведения профилактики и лечения воспалительных процессов различной этиологии в легких.

### Материалы и методы

Материал для исследования хронической обструктивной болезни легких получен с помощью чрезбронхиальной биопсии у 7 больных среднего возраста, не курящих и не имеющих профессионального контакта с производственными минеральными пылями и токсическими веществами. Хроническое воспаление изучали также в туберкулезных гранулемах на операционном материале от 8 больных фиброзно-кавернозной формой туберкулеза.

Экспериментальным воспалением служили развивающиеся пневмокониозы, которые моделировали у белых крыс. Животным интратрахеальным способом вводили в легкие пылевые частицы в дозе 50 мг/мл физраствора. Использовали пылевые образцы кварца, каменного угля, цеолитов, лунного грунта, доставленного на Землю советскими автоматическими станциями «Луна-16» и «Луна-20». Воспалительную реакцию в легких изучали через 1–2, 5, 7, 14 сут; 1, 3, 5 мес от начала эксперимента в группах от 16 до 40 животных.

У животных также исследовали региональные лимфатические узлы (трахеобронхиальные), в которые макрофаги и лимфа по лимфатическим сосудам транспортируют фагоцитированный материал и его депонируют.

Материал изучали методом световой микроскопии после окраски срезов гематоксилином и эозином для обзорного анализа и пикрофуксином для выявления коллагеновых волокон, при увеличении 300. Использовали полутонкие срезы и отпечатки легких и лимфатических узлов для цитологического исследования и оценки фагоцитарной активности макрофагов.

Внутриклеточные процессы в легких и лимфатических узлах изучали методом электронной микроскопии на микроскопе HU-12 (Hitachi, Япония). Микрокусочки легочной ткани фиксировали 2,5% раствором глутаральдегида и дофиксировали 1% раствором четырехоксида осмия. Ма-

териал заливали в эпоксидную смолу «Аралдит». Ультратонкие срезы готовили на ультрамикротоме LKB-3 (Швеция). Исследовали при увеличении 4000–12 000.

### Результаты исследования и их обсуждение

При развитии ХОБЛ защитные реакции в дистальных отделах мелких бронхов и респираторных отделах проявляются в виде повышенной функциональной активности клеток. В реснитчатом эпителии бронхов и бокаловидных клетках усиливается секреция слизи в резко гипертрофированном аппарате комплекса Гольджи (рис. 1, а). Дифференцировка базальных клеток меняется в сторону увеличения числа бокаловидных клеток, которые заменяют реснитчатые и доминируют в эпителиальной выстилке, вырабатывая огромную массу слизи.

При активации заболевания часть однослойного эпителия дифференцируется в многослойный плоский (явление метаплазии). Небольшие участки поверхностных клеток десквамируют в просвет бронхов. Многослойный эпителий повышает защиту от проникновения микробов, но снижает функционирование мукоцилиарного аппарата по эвакуации слизи, клеточного детрита, пылевых частиц из воздухоносных отделов, что приводит к застойным процессам и развитию микрофлоры.

В слизистой оболочке бронхов и альвеолах развивается воспалительная реакция с интенсивной экссудацией плазмы, лейкоцитов из капилляров в интерстициальную ткань и в просветы бронхов и альвеол (рис. 1, б). В отечной ткани возникают колонии пневмококков, размножающиеся пневмоцисты, что свидетельствует о снижении иммунной защиты. В очаге воспаления в большом количестве выявляются лимфоциты, эозинофилы, макрофаги, плазматические клетки и нейтрофилы с лизированными пневмококками в цитоплазме. Многочисленные эозинофилы секретируют цитокины по мерокриновому типу, выделяя их из матрикса и кристаллоида гранул в межклеточную среду. При хроническом воспалении в гранулах эозинофилов преобладает постоянная мерокриновая секреция литических ферментов сквозь плазмолемму, в отличие от острого воспаления, когда наблюдается выброс гранул из клеток с последующим лизисом в очаге воспаления.

Реактивность лимфоцитов направлена в сторону бласттрансформации в клетки плазматического ряда, синтезирующие и секретирующие антитела. При этом у них возрастает масса цитоплазмы, количество митохондрий, полирибосом, выявляются небольшие канальцы с гранулярной эндоплазматической сетью и клеточный центр в виде двух центриолей. Дифференцированные зрелые плазматические клетки имеют хорошо развитый аппарат синтеза антител. Плазмциты расположены небольшими группами по периферии очага воспаления вблизи микрососудов. Макрофаги фагоцитируют старые и патологически измененные эритроциты, клеточный детрит, микробы, разрушаются и выделяют факторы роста для фибробластов.

Тучные клетки постоянно секретируют в межклеточную среду медиаторы воспаления (гистамин и гепарин), вместе с цитокинами лейкоцитов, макрофагов и плазмцитов под-

держивают длительно текущее хроническое воспаление. Особенности секреции биогенных аминов из гранул тучных клеток видны при электронной микроскопии, при светооптическом исследовании они не регистрируются. В гранулах снижается электронная плотность, они уменьшаются в размерах, вокруг них скапливается отечная жидкость, они как бы тают, и число гранул падает. В завершении процесса происходит деструкция цитоплазмы и ядра.

Гистамин из гранул тучных клеток стимулирует высокую постоянную проницаемость капиллярной стенки усилением пиноцитоза и расширением эндотелиальных контактов, что вызывает отек азрогематического барьера и альвеолярных полостей.

В слизистой оболочке бронхов выявляются фиброзирование и утолщение базальной мембраны эпителиальной выстилки. Среди альвеол встречаются участки эмфиземы, в ряде альвеол полости заполнены трансудатом с фибриновыми волокнами со специфической поперечной исчерченностью, что служит объективным критерием замещения сурфактантного комплекса плазмой с высоким содержанием белков и ухудшением газообменной функции. Отечная жидкость поступает и в гладкие миоциты, пропитывает миофиламенты, вызывает вакуолизацию митохондрий. В нервных окончаниях, иннервирующих респираторные отделы, также выявляется отечная жидкость в миелиновых волокнах (рис. 1, в, г).

При ХОБЛ в просветах дистальных отделов бронхов содержится большое количество слизи, эритроцитов, фибриновых волокон, пласты десквамированного многослойного эпителия, лейкоцитов (особенно эозинофилов), макрофагов, клеточного детрита, микрофлоры, гранул эозинофилов. Все структуры, заполняющие полости бронхов, служат основой развития обструктивных процессов в легких, затрудняют поступление воздуха в ацинусы, нарушают газообмен, способствуют развитию гипоксии [5].

Для туберкулеза в период обострения заболевания характерно формирование в легочной ткани гранулемы с казеозным распадом в центре. В гранулеме сконцентрированы лимфоциты, эозинофилы, макрофаги, эпителиоидные и многоядерные клетки. На периферии гранулемы отмечают скопления крупных плазматических клеток с обилием канальцев гранулярной эндоплазматической сети, митохондрий в цитоплазме, признаками синтеза и секреции антител. Источником для плазматических клеток являются скопления лимфоцитов в стадии бластотрансформации и дифференцировки в плазмциты. В эозинофильных лейкоцитах происходит внутриклеточный лизис гранул (матрикса и кристаллоида) и выход цитокинов в межклеточную среду.

Процесс секреции антител и цитокинов, обладающих мощным литическим свойством, наряду с фагоцитозом макрофагами микобактерий и наличием частично переваренных палочек Коха в межклеточной среде, свидетельствует об интенсивной местной антигенной защите. Макрофаги фагоцитируют микобактерии, однако процесс лизиса остается незавершенным из-за химических особенностей поверхностной оболочки микробов. Фагоциты становятся антигеноносителями и тем самым поддерживают нестерильный иммунитет. Несмотря на фагоцитоз

микобактерий, ликвидировать возбудителя не удается [6, 7]. Происходит разрушение макрофагов, и продукты распада (факторы роста) стимулируют активацию фибробластов и синтез коллагеновых волокон, постепенно гранулема инкапсулируется для локализации патологического процесса.

При обострении туберкулезного процесса тучные клетки, лежащие вблизи гранулем, секретирова гистамин, поддерживают экссудативную фазу воспаления и отечность структур респираторных отделов.

Пневмокониозы (пылевые болезни легких) развиваются как банальные воспалительные реакции (асептическое воспаление). Используемые в эксперименте образцы минеральных частиц (угля, кварца, цеолитов, асбеста, лунного грунта) обладают различной цитотоксичностью, и это определяет эффективность фагоцитоза, элиминации и выраженность завершающего этапа воспаления — степени фиброзирования. Введение пылевых частиц в легочную ткань вызывает интенсивную экссудацию плазмы и лейкоцитов из кровеносных сосудов в интерстициальную соединительную ткань. Происходит транспортировка плазмы крови многочисленными пиноцитозными микропузырьками, а также через расширенные межэндотелиальные контакты. Вначале из сосудов выходит плазма, обедненная белками, и вызывает отек азрогематического барьера, альвеолярных полостей, а внутри просветов микрососудов концентрируется плазма с высоким содержанием белков, характеризующихся большой электронной плотностью. Макрофаги интенсивно фагоцитируют частицы, введенные в легкие. Процесс элиминации пылевых частиц осложнен тем, что при моделировании пневмокониозов учитывают весовое количество частиц (50 мг) и размеры (5 мкм и менее). Однако исследования в сканирующем электронном микроскопе выявили на их поверхности множество сателлитов различной дисперсности, в том числе нанометрового диапазона (рис. 2, а).

Наличие наночастиц бесспорно, они постоянно присутствуют в аэрозолях и поступают в легкие с вдыхаемым воздухом. Известно, что чем больше суммарная поверхность частиц, тем сильнее выражено токсическое воздействие, но учитывать количество наночастиц, поступающих в ткань вместе с исследуемыми, в настоящее время не представляется возможным [8]. Несмотря на интенсивный фагоцитоз и элиминацию микрочастиц макрофагами, значительная часть их депонируется в легких и региональных лимфатических узлах. В лимфатических узлах происходит депонирование самых мелких и наноразмерных частиц (рис. 2, б, в).

Макрофаги, имеющие короткий жизненный цикл, быстро погибают от цитотоксического действия фагоцитированных частиц, так как безвредных минералов не бывает. При захвате микробов и инородных частиц фагоциты, защищаясь от них, генерируют активные формы кислорода, которые не действуют на минералы, но токсичны для клеток (рис. 2, г). В макрофагах поврежденные митохондрии не способны обеспечивать энергией фагоцитарный процесс, а деструкция фаголизосом из-за отсутствия гидролитических ферментов для переваривания неорганических частиц вызывает аутолиз клеток.

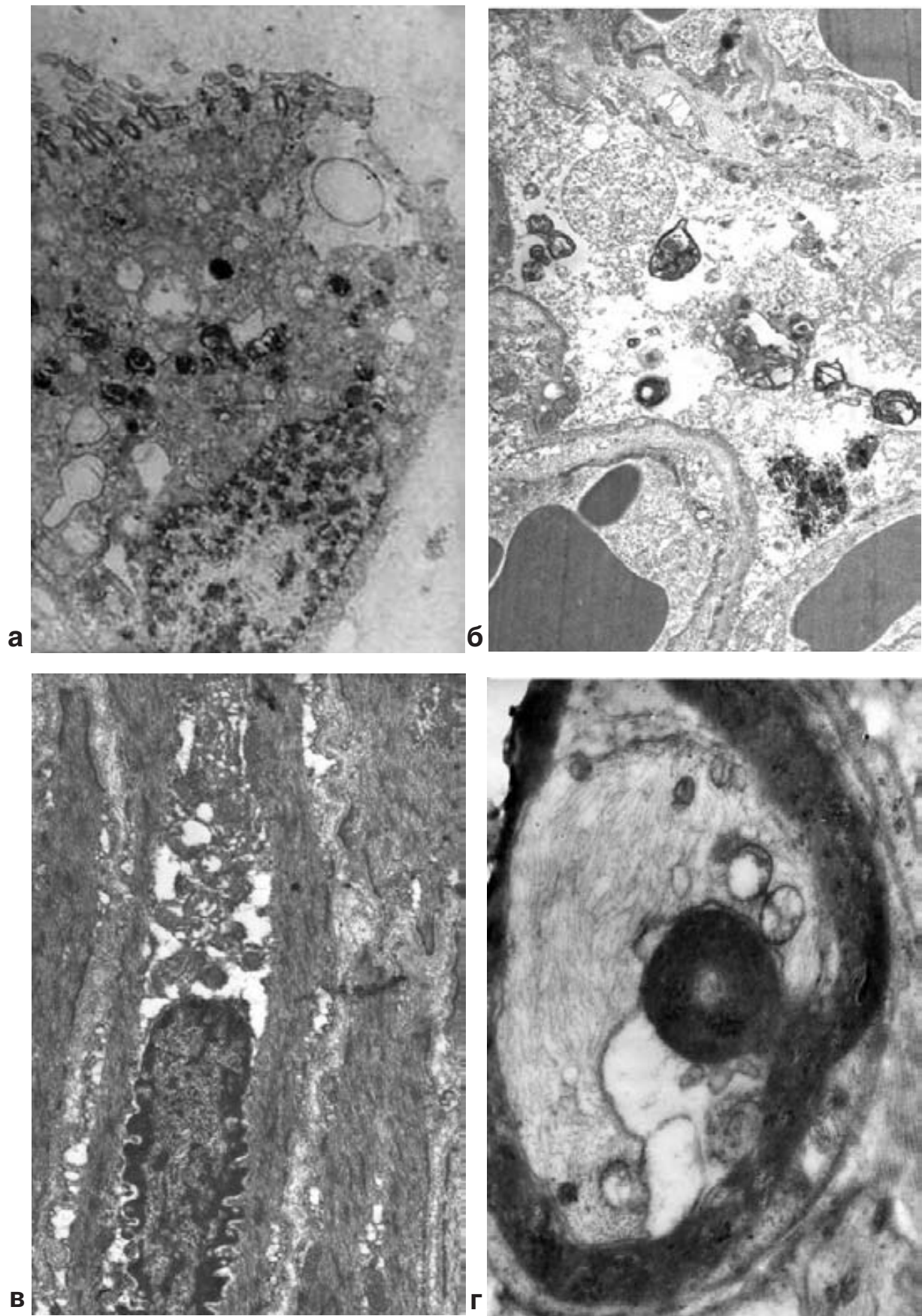


Рис. 1. Клетки респираторного отдела при воспалении. а — реснитчатая клетка, десквамация ресничек, интенсивный синтез компонентов слизи; б — отек аэрогематического барьера, частичная деструкция цитоплазмы эндотелиальной клетки, отек альвеолы и клеточный детрит; в — гладкомышечная клетка, перинуклеарный отек, отек митохондрий, деструкция крист; г — нервные окончания, вакуолизация аксоплазмы.

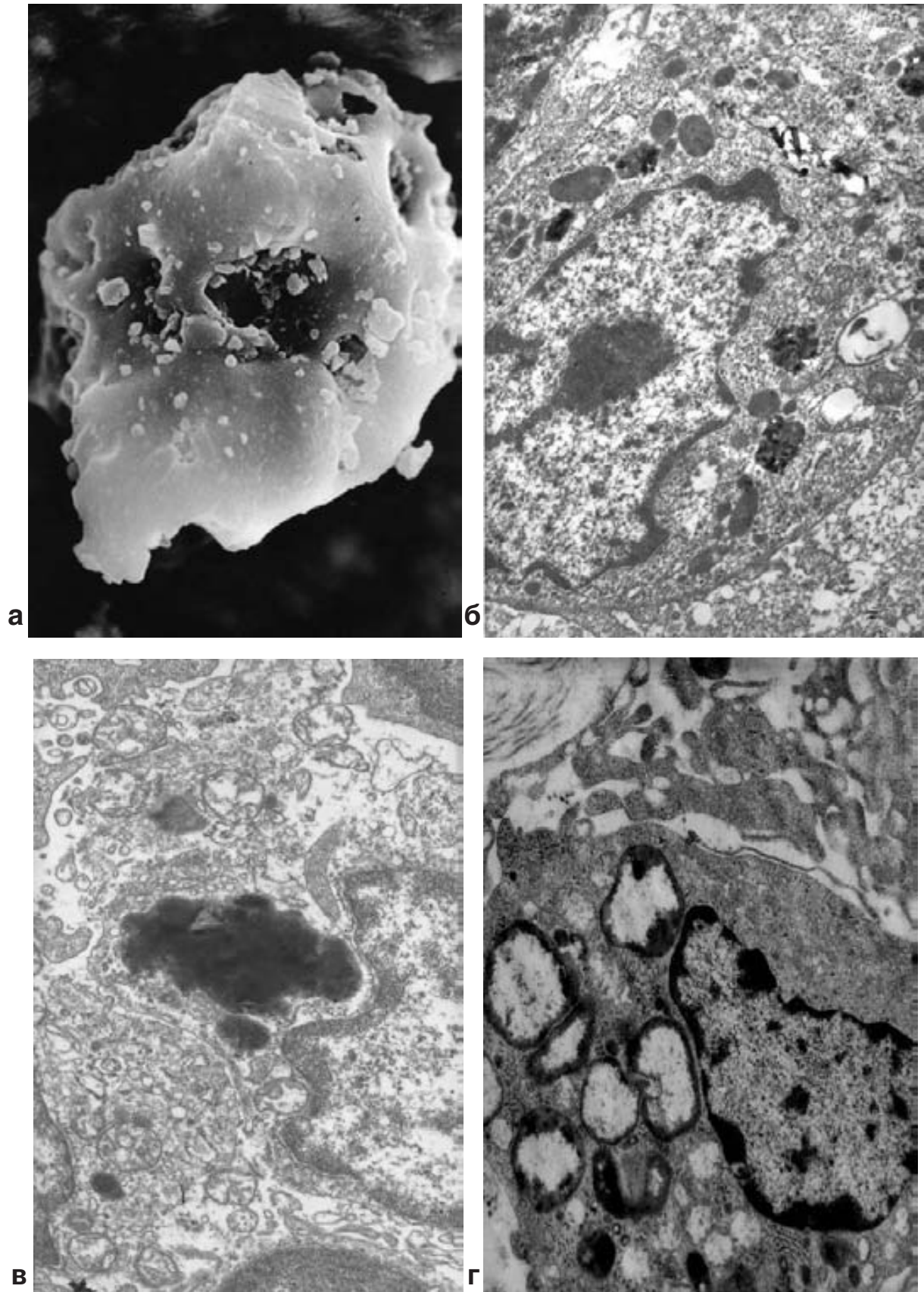


Рис. 2. **Макрофаги, особенности фагоцитоза.** а — частица лунного грунта, поверхность которой покрыта микросателлитами, в том числе нанометрового диапазона (сканирующая электронная микроскопия, ув. 5000); б — фагоцитоз частиц асбеста, локализация в фаголизосомах, отек и деструкция крист в митохондриях, гипертрофия комплекса Гольджи; в — макрофаг лимфатического узла, фаголизосома, содержащая наночастицу лунного грунта (треугольной формы), отек митохондрий, деструкция крист; г — макрофаг, фагоцитоз микобактерий, невыраженная лизосомальная реакция, деструкция и вакуолизация митохондрий.



Фагоцитирующие макрофаги разрушаются, новые клоны макрофагов вновь продолжают фагоцитарный процесс, который остается незавершенным. При деструкции большого числа макрофагов и лейкоцитов изменяются свойства высокомолекулярных белков и нуклеиновых кислот, вызывающих местную аутоиммунную реакцию [9]. В результате бласттрансформации лимфоцитов образуются небольшие скопления мелких плазматических клеток со слабым развитием аппарата синтеза и секреции белков (антител). Аутоиммунная реакция заканчивается к началу фиброза. Воспаление принимает хроническую форму, когда повреждающий агент еще не устранен и продолжается экссудация плазмы и лейкоцитов в межклеточную среду, а венозный и лимфатический отток снижен, гидростатическое давление в ткани возрастает, развивается гипоксия, трансудат пропитывает структуры газообменного отдела и вызывает внутриклеточный отек.

Разрушающиеся макрофаги выделяют цитокины и факторы роста, активирующие фибробласты и синтез коллагеновых волокон. Интенсивность фиброза зависит от цитотоксичности частиц, фагоцитарной активности макрофагов и способности выведения инородных тел из легких [10].

### Заключение

Проведенные исследования воспалительных реакций дали возможность оценить участие клеток всех четырех тканей организма.

При ХОБЛ клетки эпителия (бокаловидные и реснитчатые) усиливают секрецию слизи. В целях повышения продукции слизи потомки базальных клеток (камбиальных) дифференцируются в бокаловидные, гипертрофированные формы которых секретируют большие массы слизи.

Другой формой повышения защитной функции служит дифференцировка однослойного эпителия бронхов в многослойный (процесс метаплазии), который эффективнее препятствует инвазии микробов в слизистую оболочку, но нарушает процесс эвакуации содержимого полости бронхов мукоцилиарным аппаратом.

При активации туберкулезного процесса происходит формирование воспалительных гранулем, в которых макрофаги фагоцитируют микобактерии. Однако химические особенности поверхностной оболочки бактерий препятствуют лизису, процесс переваривания остается незавершенным, формируется симбиоз с клеткой, и фагоциты становятся переносчиками заболевания. В гранулемах плазматические клетки синтезируют антитела, происходит развитие интенсивной иммунной реакции и формирование нестерильного иммунитета.

В развитии пневмокониозов ведущая роль принадлежит макрофагам. Фагоцитирующие макрофаги разрушаются, так как отсутствуют ферменты для переваривания минеральных частиц. В результате незавершенного фагоцитоза и деструкции погибающие макрофаги выделяют факторы роста фибробластов и синтеза коллагеновых волокон.

Воспалительный процесс захватывает бронхи и сосуды, в гладкомышечных клетках которых возникает оте-

чность цитоплазмы, миофиламентов, части митохондрий. В нервных окончаниях, иннервирующих легкие, в миелиновых волокнах (аксонах) выявляется отек осевого цилиндра и митохондрий.

Наличие патологии в стационарных длительно живущих клетках (гладкие миоциты, нервные волокна) указывает на генерализацию воспаления и участие в нем клеток всех тканей легких.

### Литература

1. Васильева О.С., Гусаков А.А. Влияние задымления атмосферного воздуха в период аномальной жары на показатели заболеваемости и смертности по причине острых и хронических болезней дыхательной системы // Пульмонология. 2011. №4. С.38–43.
2. Величковский Б.Т. Экологическая пульмонология. Екатеринбург, 2003. 139 с.
3. Кустов В.В., Белкин В.И., Кругликов Г.Г. Биологические эффекты лунного грунта (Проблемы космической биологии). Л.: Наука, 1989. Т.61. 103 с.
4. Коган Е.А., Кругликов Г.Г., Пауков В.С. и др. Патология органов дыхания. Атлас. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. 272 с.
5. Кругликов Г.Г., Величковский Б.Т., Чучалин А.Г. Морфологическая характеристика хронического обструктивного бронхита // Пульмонология. 2003. №3. С.16–19.
6. Ernst J.D. Macrophage receptors for *Mycobacterium tuberculosis* // Infect Immun. 1998. V.66. P.1277–1281.
7. Tan B.H., Meinken C., Bastian M. et al. Macrophages acquire neutrophil granules for antimicrobial activity against intracellular pathogens // J Immunol. 2006. V.177 (3). P.1864–1871.
8. Величковский Б.Т., Кругликов Г.Г. Дискуссионные вопросы о влиянии частиц нанометрового диапазона на органы дыхания // Пульмонология. 2011. №3. С.5–8.
9. Кругликов Г.Г., Суслов В.Б., Эттингер А.П. Субклеточные механизмы развития воспалительных реакций // Вестн. РГМУ. 2011. №2. С.58–61.
10. Кругликов Г.Г., Пекарский М.И. Атлас функциональной морфологии клеток крови и соединительной ткани. М.: Медицина, 2005. 176 с.

### Информация об авторах:

Сулов Владимир Борисович, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отдела электронной микроскопии НИИ фундаментальных и прикладных биомедицинских исследований Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова  
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1  
Телефон: (495) 434-6429  
E-mail: suslov\_vb@mail.ru

Лихачева Лидия Михайловна, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отдела электронной микроскопии НИИ фундаментальных и прикладных биомедицинских исследований Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова  
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1  
Телефон: (495) 434-6429  
E-mail: likhahyova37@mail.ru

Странжа Наталья Борисовна, младший научный сотрудник отдела электронной микроскопии НИИ фундаментальных и прикладных биомедицинских исследований Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова  
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1  
Телефон: (495) 434-6429  
E-mail: stranza@mail.ru

Эттингер Александр Павлович, доктор медицинских наук, профессор, директор НИИ фундаментальных и прикладных биомедицинских исследований Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова  
Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1  
Телефон: (495) 434-1401  
E-mail: oett@rsmu.ru

# Фотосенсибилизированное псораленом повреждение мембран эритроцитов. Влияние двухвалентных катионов и интенсивности УФА-излучения (обзор литературы)

Е.П.Лысенко, А.Я.Потапенко

Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова, кафедра физики и математики педиатрического факультета, Москва (и.о. зав. кафедрой — проф. А.Г.Максина)

Совместное воздействие псораленов и УФА-облучения (320–400 нм) используется для лечения кожных и аутоиммунных заболеваний (ПУВА-терапия). Один из возможных механизмов терапевтического, а также побочных фототоксических эффектов ПУВА-терапии может осуществляться через стадию образования продуктов фотоокисления псоралена (ФОП-продуктов). В статье обсуждаются механизмы образования двух типов ФОП-продуктов. ФОП<sub>1</sub>-продукты образуются в растворах псоралена с низкой концентрацией молекул и/или при облучении растворов УФА-светом низкой интенсивности. Они обладают иммуносупрессорной активностью и обнаруживаются методом ЭПР с использованием спиновых ловушек. ФОП<sub>2</sub>-продукты образуются при высокой концентрации молекул псоралена и/или при высокой интенсивности УФА-облучения растворов псоралена. Эти фотопродукты обладают гемолитической активностью и обнаруживаются методом Fe(II)-индуцированной хемилюминесценции. Обсуждается влияние ионов Fe(II) на мембранотоксические эффекты, индуцированные ФОП-продуктами.

*Ключевые слова:* псорален, интенсивность УФА-излучения, фотоокисление, гемолиз, Fe(II)-ионы, спиновые ловушки, хемилюминесценция

## Psoralen Photosensitized Damage of Erythrocyte Membranes. Effects of Bivalent Cations and Fluence Rate of UVA-Irradiation: A Literature Review

E.P.Lysenko, A.Ya.Potapenko

Pirogov Russian National Research Medical University, Department of Physics and Mathematics of Pediatric Faculty, Moscow (Acting Head of the Department — Prof. A.G.Maksina)

Psoralens combined with UVA-irradiation (320–400 nm) are used for the treatment of skin and autoimmune diseases (PUVA-therapy). One possible mechanism of therapeutic and side phototoxic effects of PUVA-therapy can be realized through the stage of formation of psoralen photooxidation products (POP-products). In the present paper, the mechanisms of formation of two types of POP-products are discussed. POP<sub>1</sub>-products are predominantly formed in solutions at low psoralen concentration and/or under low fluence rate of UVA-irradiation. These POP<sub>1</sub>-products possess immunosuppressive activity and are detected by spin trap EPR method. POP<sub>2</sub>-products are formed under high fluence rate of UVA-irradiation and/or at high psoralen concentration. They possess hemolytic activity and are detected by Fe(II)-induced chemiluminescence. The influence of Fe(II)-ions on POP-induced membranotoxic effects is discussed.

*Key words:* psoralen, fluence rate of UVA-irradiation, photooxidation, hemolysis, Fe(II)-ions, spin traps, chemiluminescence

Совместное воздействие псораленов (фурокумаринов) и УФА-облучения (320–400 нм) на кожу (ПУВА-терапия) или кровь (фотоферез) используется для лечения псориаза, Т-клеточной лимфомы, атопической экземы, ви-

тиги и других кожных и аутоиммунных заболеваний [1, 2]. Терапевтический эффект ПУВА-терапии и фотофереза, предполагается, связан с их иммуносупрессорным воздействием [1]. ПУВА-воздействие сопровождается побочными токсическими эффектами (эритемой, эдемой и др.). Как терапевтические, так и побочные эффекты являются следствием фотохимических реакций псораленов. Эти реакции можно разделить на четыре типа [3, 4]. Тип I включает перенос электрона между возбужденной молекулой псоралена и молекулой субстрата с образованием свободных радикалов. Тип II осуществляется по механизму переноса энергии на молекулу O<sub>2</sub> с образованием синглетного кислорода. Реакции типа III типичны для псораленов и осуществляются

### Для корреспонденции:

Лысенко Евгений Петрович, кандидат биологических наук, доцент кафедры физики и математики педиатрического факультета Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова

Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, 1  
Телефон: (495) 434-6676  
E-mail: elysenko1@mail.ru

Статья поступила 06.06.2014, принята к печати 17.09.2014

через не нуждающееся в кислороде фотоприсоединение к биосубстратам (ДНК, ненасыщенным жирным кислотам). В реакциях типа IV псоралены сначала фотоокисляются в отсутствие субстрата с образованием относительно стабильных продуктов фотоокисления псоралена (ФОП-продуктов), которые затем вступают в реакции с молекулами субстратов. Реакции типов I–III могут осуществляться только при облучении субстрата в присутствии сенсибилизатора. Реакции типа IV могут быть реализованы в экспериментах, когда предоблученный фотосенсибилизатор добавляется к субстрату в темноте [3]. Фотохимические реакции типа IV представляют особый интерес, так как было установлено, что ФОП-продукты обладают значительной биологической активностью. УФА-облучение псораленов на воздухе приводит к образованию большого количества фотопродуктов [5–8], но только немногие из них идентифицированы, и установлена их биологическая активность. Недавно обнаружена фотоиндуцированная агрегация ФОП-продуктов [9]. С помощью метода резонансного светорассеяния было доказано возникновение агрегатов фотопродуктов после УФА-облучения псоралена и высказано предположение, что фотоиндуцированные агрегаты могут обладать гемолитической активностью [9]. Некоторые биологически активные фотопродукты псоралена были химически синтезированы [10, 11]. Выделение и идентификация отдельных ФОП-продуктов является сложной задачей из-за их лабильности в некоторых растворителях, термолабильности или чрезвычайно низких квантовых выходов фотохимических реакций, в которых они образуются. Некоторые фотопродукты теряются при попытке их выделить и поэтому не попадают в поле зрения исследователей. Таким образом, часто остается возможным лишь исследовать биологические эффекты сложной смеси фотопродуктов псораленов.

Было обнаружено, что ФОП-продукты вызывают окисление ненасыщенных липидов [12, 13], ковалентно связываются с белками [14], вызывают превращение гемопroteинов [15], инактивируют ферменты [16], повреждают плазматические мембраны эритроцитов [17–19] и лейкоцитов [20], влияют на продукцию супероксидных радикалов фагоцитами [20], ингибируют хемотактическую активность полиморфно-ядерных нейтрофилов [21], индуцируют мутагенные и летальные эффекты микроорганизмов [10, 11], модулируют Т-клеточную иммунную систему у мышей [22, 23], обладают апоптогенной активностью [24] и вызывают терапевтические эффекты у пациентов с кожными заболеваниями [25]. Эти данные свидетельствуют, что реакции типа IV могут играть важную роль в ПУВА-терапии, но относительный вклад ФОП-продуктов в индукцию фотобиологических эффектов псораленов недостаточно изучен. Некоторые выводы об участии реакций типа IV в индукции биологических эффектов ПУВА-воздействия могут быть сделаны с использованием кинетического анализа образования ФОП-продуктов в растворах и в биологических системах. Полезным приближением является исследование зависимости выхода ФОП-продуктов от интенсивности УФА-излучения, концентрации фотосенсибилизатора и т.д. Дополнительная информация может быть получена при исследовании влияния ингибиторов и активаторов биологических эффектов, индуцированных ФОП-продуктами.

Удобной и простой моделью для оценки способности различных химических соединений и физических факторов повреждать биологические мембраны является индуцированный ими гемолиз эритроцитов. Эритроциты — безъядерные клетки, поэтому исключается воздействие физико-химическими агентами на ядра клеток, исследуются лишь их мембранотропные эффекты. В данной статье систематизированы сведения о регуляторных эффектах двухвалентных катионов Fe(II), Ca<sup>2+</sup> и интенсивности УФА-облучения на фотосенсибилизированный псораленом гемолиз, который может осуществляться через стадию образования ФОП-продуктов.

### Кинетические особенности фотоокисления псоралена в растворах

Добавление ионов Fe(II) к свежеприготовленному раствору фотоокисленного псоралена приводит к потере им биологической активности. Процесс разрушения ФОП-продуктов ионами Fe(II) сопровождается образованием свободных радикалов и молекул в электронно-возбужденном состоянии. Свободные радикалы можно обнаружить методом ЭПР с использованием спиновой ловушки С-фенил-N-трет-бутил-нитрона (ФБН), в то время как молекулы в электронно-возбужденном состоянии могут быть зарегистрированы методом хемилюминесценции (ХЛ) [26, 27]. Из рис. 1 видно, что спиновые аддукты (СА) эффективнее генерируются при низких концентрациях псоралена (кривая 1); назовем участвующие в этом процессе фотопродукты ФОП<sub>1</sub>. Хемилюминесцирующие продукты, наоборот, эффективнее генерируются в концентрированных растворах псоралена (кривая 2); назовем участвующие в этом процессе фотопродукты ФОП<sub>2</sub>.

Спиновые аддукты образовывались в реакциях ФОП с ионами Fe(II) в присутствии ФБН. Участие этанола было

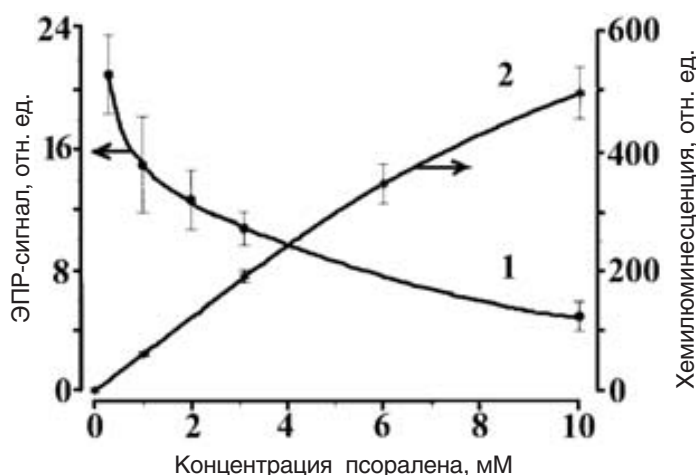
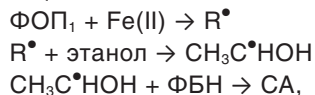


Рис. 1. Зависимость количества ФОП-продуктов, образующихся при УФА-облучении (144 кДж/м<sup>2</sup>, 366 нм) этанольного раствора псоралена, от концентрации псоралена в растворе. 1 — ФОП<sub>1</sub>-продукты, регистрируемые методом ЭПР с использованием спиновой ловушки ФБН; 2 — ФОП<sub>2</sub>-продукты, регистрируемые методом Fe(II)-индуцированной ХЛ. Условия экспериментов приведены в работах [26, 27].

обязательным для образования СА. Анализ ЭПР-спектра показал, что он принадлежит спиновым аддуктам гидроксиэтильных радикалов и ФБН [26, 27], т.е. ФБН не ловит первичные свободные радикалы, образующиеся при взаимодействии  $\text{ФОП}_1$  с ионами  $\text{Fe(II)}$ , но реагирует со вторичными радикалами, образующимися при взаимодействии первичных радикалов ( $\text{R}^\bullet$ ) с этанолом в следующих реакциях:

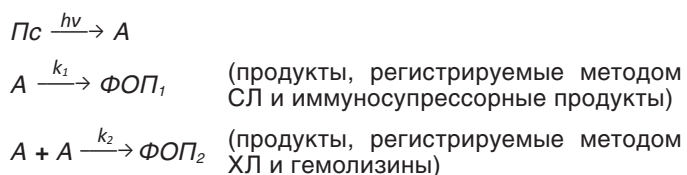


где  $\text{CH}_3\text{C}^\bullet\text{НОН}$  — гидроксиэтильный радикал. Так как ФБН не ловит радикалы  $\text{R}^\bullet$ , то невозможно с помощью этой ловушки получить информацию о природе первичных радикалов, образующихся из  $\text{ФОП}_1$ -продуктов. Тем не менее в присутствии этанола можно оценить концентрацию  $\text{ФОП}_1$ -продуктов, приводящих к появлению первичных радикалов.

Из рис. 1 можно видеть, что концентрационные зависимости выхода  $\text{ФОП}_1$ -продуктов, регистрируемых методом спиновых ловушек (СЛ), и  $\text{ФОП}_2$ -продуктов, регистрируемых методом ХЛ, — противоположные, т.е. эти методы позволяют оценивать различные типы  $\text{ФОП}$ -продуктов.

Ранее было показано, что  $\text{ФОП}$ -продукты, индуцирующие гемолиз эритроцитов [28], так же как и  $\text{ФОП}$ -продукты, обладающие иммуносупрессорной активностью [22], могут быть разрушены ионами  $\text{Fe(II)}$ . Зависимость образования  $\text{ФОП}$ -гемолизина от концентрации псоралена в растворе во время УФА-облучения подобна той, которая представлена кривой 2 на рис. 1, в то время как концентрационная зависимость образования  $\text{ФОП}$ -продуктов — иммуносупрессоров подобна кривой 1 [23]. Известно также, что  $\text{ФОП}$ -иммуносупрессоры более эффективно образуются при малой интенсивности УФА-облучения, в то время как  $\text{ФОП}$ -гемолизины — при высокой интенсивности [23]. Это позволяет заключить, что процессы образования мембранотоксических  $\text{ФОП}$ -продуктов и  $\text{ФОП}$ -иммуносупрессоров являются конкурентными, т.е. экспериментальные условия, благоприятствующие образованию одного типа фотопродуктов, способствуют уменьшению выхода другого типа фотопродуктов. Аналогичный вывод можно сделать о  $\text{ФОП}_1$ -продуктах, регистрируемых методом СЛ, и  $\text{ФОП}_2$ -продуктах, регистрируемых методом ХЛ.

Изложенные выше экспериментальные результаты можно объяснить следующей кинетической схемой:



На этой схеме Пс — молекула псоралена; А — лабильный промежуточный фотопродукт псоралена, который является предшественником относительно стабильных конечных продуктов  $\text{ФОП}_1$  и  $\text{ФОП}_2$ ;  $k_1$  и  $k_2$  — константы скоростей реакций.  $\text{ФОП}_1$  является продуктом дальнейших превращений продукта А, в то время как  $\text{ФОП}_2$  является продуктом

рекомбинации двух лабильных молекул-интермедиатов А. Можно видеть, что в разбавленных растворах псоралена или при низких интенсивностях УФА-излучения концентрация продукта А будет низкой, что способствует образованию  $\text{ФОП}_1$ -продукта, но не  $\text{ФОП}_2$ . Таким образом, предложенная схема хорошо описывает как влияние концентрации псоралена во время облучения, так и интенсивности УФА-излучения на выход  $\text{ФОП}$ -продуктов. Сильная зависимость выхода фотопродуктов от интенсивности УФА-излучения является важной особенностью фотоокислительных реакций псоралена. Аналогичная зависимость от интенсивности УФА-излучения и концентрации псоралена при облучении характерна для гемолиза, фотосенсибилизированного псораленом, что может свидетельствовать об участии  $\text{ФОП}$ -продуктов в фотосенсибилизированном псораленом повреждении биологических мембран.

### Активация высокоинтенсивного ПУВА-гемолиза ионами $\text{Fe(II)}$

Ранее было показано, что ПУВА-гемолиз, индуцированный УФА-излучением с интенсивностью, большей чем  $120 \text{ Вт/м}^2$  (высокоинтенсивный (ВИ) ПУВА-гемолиз), обладает некоторыми специфическими особенностями: при дозах, не намного превышающих пороговое значение, лишь часть клеток в суспензии подвергается лизису, т.е. гемолиз — незавершенный [29]. Зависимость доли лизированных клеток от дозы облучения (амплитуда гемолиза) имеет сигмоидную форму. Возрастание дозы облучения приводит к завершённому (100%) гемолизу. Завершённый гемолиз характеризуется скоростью гемолиза ( $v$ ), которая определяется как величина, обратная времени, за которое лизируются 50% клеток в суспензии ( $v = 1/t_{50}$ ). Зависимость скорости гемолиза от дозы облучения — противоположная таковой для амплитуды гемолиза: скорость завершённого гемолиза уменьшается с ростом дозы облучения.

Обнаружено, что добавление ионов  $\text{Fe(II)}$  к суспензии эритроцитов значительно усиливает ВИ ПУВА-индуцированное повреждение эритроцитов [30]. На рис. 2А представлены кривые незавершённого ВИ ПУВА-гемолиза при добавлении ионов  $\text{Fe(II)}$  в суспензию после УФА-облучения (а) и без добавления ионов  $\text{Fe(II)}$  (б).

Необходимо выделить две особенности: (1) пороговая доза облучения в присутствии ионов  $\text{Fe(II)}$  ( $10^{-4} \text{ М}$ ) существенно ниже ( $1,5 \text{ Дж/м}^2$ ), чем без ионов  $\text{Fe(II)}$  ( $13,9 \text{ кДж/м}^2$ ); (2) лизис эритроцитов в присутствии ионов  $\text{Fe(II)}$  развивался более быстро, чем без добавления ионов  $\text{Fe(II)}$ . В присутствии ионов  $\text{Fe(II)}$  кривые достигали плато приблизительно за 10 мин, в то время как без ионов  $\text{Fe(II)}$  — за 1–2 ч.

На рис. 2Б суммированы данные о влиянии ионов  $\text{Fe(II)}$  на ВИ ПУВА-гемолиз. Добавление ионов  $\text{Fe(II)}$  приводит к сдвигу дозовой зависимости амплитуды гемолиза в область низких доз (кривая 1) в сравнении с контролем без ионов  $\text{Fe(II)}$  (кривая 2). Скорость гемолиза в присутствии ионов  $\text{Fe(II)}$  существенно выше, чем в отсутствие активатора. Дозовая зависимость скорости  $\text{Fe(II)}$ -активированного гемолиза (3) качественно такая

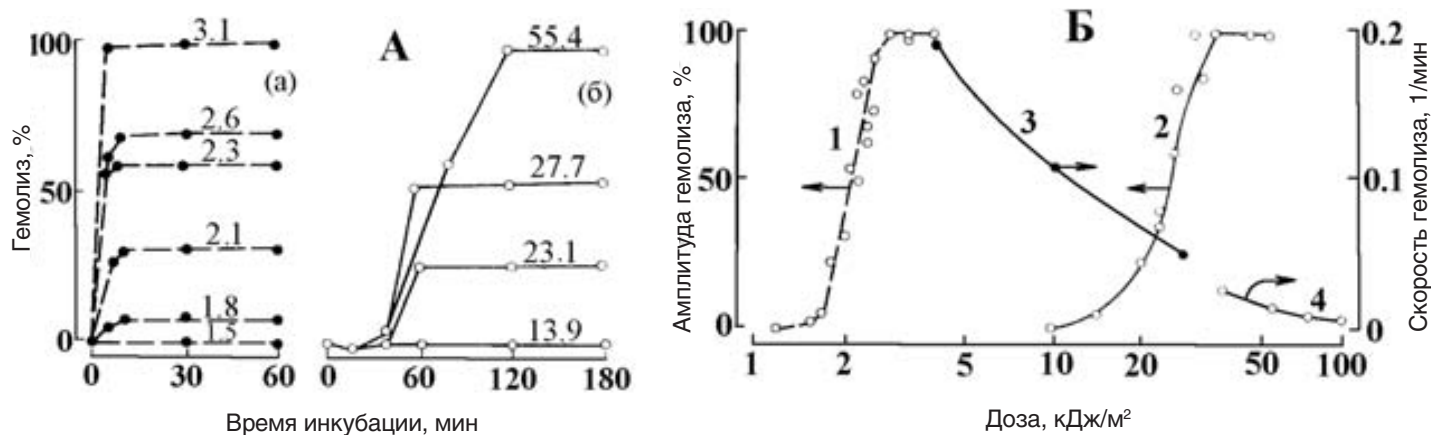


Рис. 2. (А) Влияние ионов Fe(II) на незавершенный ВИ (154 Вт/м<sup>2</sup>) ПУВА-гемолиз. (а) — ионы Fe(II) (10<sup>-4</sup> М) добавлялись сразу после облучения суспензии; (б) — без ионов Fe(II). Цифры над кривыми указывают дозу облучения раствора псоралена в кДж/м<sup>2</sup>. (Б) Дозовая зависимость амплитуды (1, 2) и скорости (3, 4) ВИ (154 Вт/м<sup>2</sup>) ПУВА-гемолиза. Кривые 2, 4 представляют эксперименты без ионов Fe(II), а кривые 1, 3 — с добавлением ионов Fe(II) (10<sup>-4</sup> М) сразу после облучения. Условия экспериментов приведены в работах [29, 30].

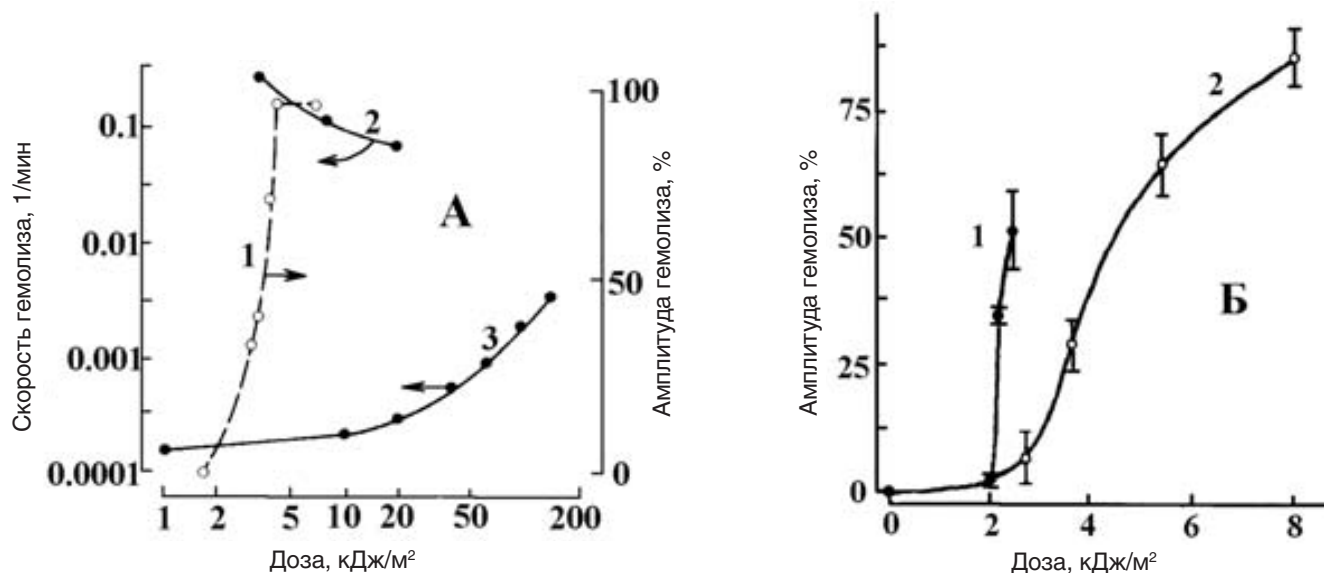


Рис. 3. (А) Активация НИ (24 Вт/м<sup>2</sup>) ПУВА-гемолиза ионами Fe(II). Кривые 1 и 2 представляют дозовые зависимости амплитуды (1) и скорости (2) гемолиза в присутствии ионов Fe(II) (10<sup>-4</sup> М), добавленных в суспензию сразу после облучения. Кривая 3 — дозовая зависимость скорости гемолиза без ионов Fe(II). Условия эксперимента даны в работах [29, 30]. Представлены результаты одного типичного эксперимента. (Б) Влияние ионов Fe(II) на амплитуду ФОП-гемолиза. Раствор ФОП смешивали с суспензией эритроцитов (5×10<sup>7</sup> клеток/мл) без последующего добавления ионов Fe(II) (кривая 2) или с последующим добавлением ионов Fe(II) (кривая 1). Приведены средние значения трех независимых экспериментов. Условия экспериментов приведены в работе [28].

же, как и без добавления активатора (4). С ростом дозы облучения уменьшается скорость гемолиза. Добавление ионов Fe(III) (10<sup>-4</sup> М) к суспензии эритроцитов не приводит к активации гемолиза (данные не представлены), это свидетельствует о том, что ионы Fe(II) играют роль восстанавливающих агентов.

#### Активация низкоинтенсивного ПУВА-гемолиза ионами Fe(II)

Механизм низкоинтенсивного (НИ) ПУВА-гемолиза в отсутствие ионов Fe(II) существенно отличается от механизма ВИ ПУВА-гемолиза. Закономерности, характерные для НИ ПУВА-гемолиза, проявляются при ин-

тенсивностях УФА-излучения, меньших чем 40 Вт/м<sup>2</sup>. При НИ УФА-облучении пороговая доза отсутствует и скорость гемолиза пропорциональна квадрату дозы облучения [29]. Обнаружено, что ионы Fe(II) (10<sup>-4</sup> М) активируют НИ ПУВА-гемолиз, как и ВИ ПУВА-гемолиз [30]. На рис. 3А кривая 3 представляет дозовую зависимость скорости НИ (24 Вт/м<sup>2</sup>) ПУВА-гемолиза [29]. Добавление ионов Fe(II) существенно изменяет механизм гемолиза, он становится подобным ВИ ПУВА-гемолизу. Появляется пороговая доза, равная приблизительно 2 кДж/м<sup>2</sup>. В интервале доз между 2 и 4 кДж/м<sup>2</sup> гемолиз — незавершенный (кривая 1). При дозе 4 кДж/м<sup>2</sup> добавление ионов Fe(II) приводит к значительному (в 800 раз) увеличению скорости НИ ПУВА-гемолиза, но при более высоких дозах

скорость Fe(II)-активированного гемолиза уменьшается с ростом дозы (кривая 2). Качественно эффект активации НИ ПУВА-гемолиза ионами Fe(II) хорошо воспроизводится в разных опытах, но количественно может варьировать для разных проб эритроцитов.

Данные, представленные кривыми 1 и 2 на рис. 3А, были получены с использованием разных суспензий эритроцитов в различных экспериментах. Приведены типичные кривые. Эффект активации гемолиза уменьшается с уменьшением концентрации ионов Fe(II) и исчезает при концентрации  $10^{-6}$  М. Добавление ионов Fe(III) к эритроцитам не приводит к активации гемолиза (данные не приведены).

### Активация ФОП-гемолиза ионами Fe(II)

ПУВА-гемолиз может осуществляться через стадию образования ФОП-продуктов [3, 31], поэтому исследовались эффекты активации ФОП-гемолиза ионами Fe(II) [28]. Обнаружено, что эти эффекты зависят от способа добавления Fe(II). На рис. 3Б приведены результаты экспериментов, в которых ФОП-продукты смешивали с суспензией эритроцитов и затем добавляли Fe(II). Кривая 2 на рис. 3Б иллюстрирует зависимость амплитуды ФОП-гемолиза от дозы облучения псоралена в отсутствие ионов Fe(II). Если после смешивания ФОП-продуктов с суспензией эритроцитов добавлялись ионы Fe(II), амплитудная кривая сдвигалась в область низких доз облучения псоралена (рис. 3Б, кривая 1), при этом ионы Fe(II) активировали ФОП-гемолиз в 2 раза. Эффект активации ФОП-индуцированного гемолиза двухвалентными ионами железа наблюдался также в случае завершеного гемолиза. Скорость Fe(II)-активированного завершеного ФОП-гемолиза увеличивалась в 2–4 раза в сравнении с контролем — без ионов Fe(II). Добавление ионов Fe(III) в концентрации  $10^{-4}$  М не влияло на ФОП-индуцированный гемолиз [28].

В дополнительных экспериментах ФОП-продукты сначала инкубировали с ионами Fe(II) в течение различного времени, затем оставшиеся свободные ионы Fe(II) удаляли из раствора десферриоксиамином (хелатором ионов железа), и только после этого ФОП-продукты добавляли к суспензии эритроцитов. Было обнаружено, что когда ФОП-продукты смешивали с эритроцитами сразу после их взаимодействия с Fe(II) и удаления ионов Fe(II) десферриоксиамином, гемолиз активировался в несколько раз. Это свидетельствует об образовании более сильных гемолизина в реакции ФОП-продуктов с ионами Fe(II). Однако в процессе прединкубации ФОП-продуктов с ионами Fe(II) их активность постепенно уменьшалась и после 20 мин инкубации становилась ниже, чем у ФОП-продуктов, которые не инкубировали с Fe(II). После 1 ч прединкубации ФОП-продуктов с Fe(II) их гемолитическая активность полностью исчезала. Таким образом, с одной стороны, взаимодействуя с ФОП-продуктами, ионы Fe(II) приводят к образованию более сильного гемолизина. С другой стороны, реагируя с новым образовавшимся гемолизином, ионы Fe(II) уменьшают его гемолитическую активность [28].

Возможны два механизма активации гемолиза ионами Fe(II): (1) при деструкции ФОП-продуктов ионами Fe(II) образуются новые более эффективные гемолизины; (2) ионы Fe(II) приводят к образованию скрытых дефектов в эритроцитах, которые не увеличивают скорость спонтанного гемолиза (в отсутствие ФОП), но делают эритроциты более чувствительными к ФОП-гемолизинам [28].

### Влияние хелатора двухвалентных катионов ЭДТА на ПУВА- и ФОП-гемолиз

Другим подходом к исследованию биологической активности ФОП-продуктов и роли двухвалентных катионов в модуляции фотосенсибилизированного псораленом повреждения биологических мембран может быть использование хелаторов катионов [32]. Добавление хелатора двухвалентных катионов этилендиаминтетраацетата (ЭДТА) в суспензию эритроцитов приводило к уменьшению скорости низкоинтенсивного ( $24 \text{ Вт/м}^2$ ) ПУВА-гемолиза как в опыте, так и в контроле, причем эффекты ингибирования были приблизительно одинаковыми [32]. Это свидетельствует о том, что действие ЭДТА проявлялось не на фотохимической стадии, и молекулы ЭДТА, видимо, не взаимодействовали с ФОП-продуктами, образующимися в мембранах эритроцитов при низкой интенсивности УФА-излучения. Возможно, уменьшение скорости гемолиза в опыте и в контроле является результатом связывания эндогенных ионов Fe(II) молекулами ЭДТА. Нельзя исключить механического закрытия каналов проницаемости в мембранах эритроцитов молекулами ЭДТА.

Во всех случаях высокоинтенсивного ПУВА-гемолиза и ФОП-гемолиза проявлялся обратный эффект. Добавление ЭДТА к суспензии эритроцитов приводило к увеличению скорости гемолиза. Введение ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в суспензию, наоборот, приводило к значительному ингибированию ВИ ПУВА-гемолиза [33], что может свидетельствовать, по-видимому, о связывании молекулами ЭДТА ионов  $\text{Ca}^{2+}$  в мембранах.

Механизмы НИ и ВИ ПУВА-гемолиза существенно различаются [29]. ФОП-гемолиз подобен ВИ ПУВА-гемолизу [3, 29], что свидетельствует о возможности индукции ВИ ПУВА-гемолиза через стадию образования ВИ ФОП-продуктов. Предполагается, что в индукции как ВИ ПУВА-гемолиза, так и ФОП-гемолиза важная роль принадлежит латеральной диффузии молекул фосфолипидов в мембранах [33].

Связывание ионов  $\text{Ca}^{2+}$  хелаторами ЭДТА или ЭГТА в клеточных мембранах приводит к значительным изменениям структуры и функций мембран. Например, обнаружено, что хелаторы вызывают необратимую диссоциацию гликопротеинового комплекса GPIIb-IIIb в мембранах тромбоцитов человека [34] и изменяют взаимодействие рецепторов трансферрина с цитоскелетом в ретикулоцитах [35]. Эти изменения физических свойств мембран могут влиять на взаимодействие ВИ ФОП-продуктов с мембранами. Увеличение скорости латеральной диффузии молекул фосфолипидов в мембранах эритроцитов после связывания ионов  $\text{Ca}^{2+}$  может ускорять сборку каналов проницаемости и, следовательно, активировать

ВИ ПУВА- и ФОРП-гемолиз. По-видимому, эти эффекты могут отвечать за активацию ВИ ПУВА- и ФОРП-гемолиза молекулами ЭДТА.

### Заключение

Объектом ПУВА-терапии является кожа человека. Глубина проникновения УФА-излучения в кожу мала, поэтому эритроциты не являются мишенью при ПУВА-воздействии, но они могут использоваться в качестве модели при исследовании фотосенсибилизированного псораленом повреждения клеточных мембран. Эта модель доступна, процесс ПУВА-индуцированного повреждения мембран можно легко регистрировать по гемолизу, осуществляя *in vitro* такие регулирующие воздействия на клетки в суспензии, которые не возможны на коже. Например, для поиска ингибиторов и активаторов фотосенсибилизированного повреждения клеточных мембран можно добавлять в суспензию клеток ионы  $Fe^{2+}$  или  $Ca^{2+}$  или, наоборот, удалять их хелаторами. Исследования можно производить в широком диапазоне интенсивностей и доз УФА-излучения, облучая клетки в присутствии псораленов (осуществляя ПУВА-воздействие) или добавляя в суспензию предварительно полученные продукты фотоокисления псоралена (ФОРП-продукты). Выявленные на эритроцитах закономерности фотосенсибилизированного повреждения клеточных мембран можно затем проверить на более сложном объекте, таком как кожа.

### Литература

1. Oliven A., Shechter Y. Extracorporeal photopheresis: a review // *Blood Rev.* 2001. V.15 (2). P.103–108.
2. Honigsman H. Mechanisms of phototherapy and photochemotherapy for photodermatoses // *Dermatol Ther.* 2003. V.16 (1). P.23–27.
3. Potapenko A.Ya. Mechanisms of photodynamic effects of furocoumarins // *J Photochem Photobiol B.* 1991. V.9 (1). P.1–33.
4. Dall'Acqua F., Vedaldi D., Caffieri S. Principles of psoralen photosensitization // *The Fundamental Basis of Phototherapy* / Ed. by H.Honigsman, G.Jori, A.R.Young. Milano: OEMF spa, 1996. P.1–16.
5. Wasserman H.H., Berdahl D.R. The photooxidation of 8-methoxypsoralen // *Photochem Photobiol.* 1982. V.35. P.565–567.
6. Logani M.K., Austin W.A., Shah B., Davis R.E. Photooxidation of 8-methoxypsoralen with singlet oxygen // *Photochem Photobiol.* 1982. V.35. P.569–573.
7. Marley K.A., Larson R.A., Davenport R. Redox mechanisms of furocoumarin phototoxicity // *The Spectrum.* 1995. V.8. P.9–13.
8. Caffieri S. Furocoumarin photolysis: chemical and biological aspects // *Photochem Photobiol Sci.* 2002. V.1 (3). P.149–157.
9. Пятницкий И.Я., Власова Н.В. Исследование агрегации продуктов фотоокисления псоралена методом резонансного светорассеяния // *Вестн. РГМУ.* 2011. №1. С.69–73.
10. Adam W., Hauer H., Mosandl T. et al. Furocoumarin-, naphtofuran- and furoquinoline-annulated 1, 2-dioxetanes: synthesis, thermolysis and mutagenicity // *Liebigs Ann Chem.* 1990. P.1227–1236.
11. Adam W., Mosandl T., Ramaiah D., Saha-Moller C.D. Furocoumarin dioxetanes and hydroperoxides as novel photobiological DNA-damaging agents // *Quimica Nova.* 1993. V.16. P.316–320.
12. Potapenko A.Ya., Moshnin M.V., Krasnovsky A.A., Sukhorukov V.L. Dark oxidation of unsaturated lipids by the photooxidized 8-methoxypsoralen // *Z Naturforsch.* 1982. V.37. P.70–72.
13. Potapenko A.Ya., Sukhorukov V.L. Photooxidative reactions of psoralens // *Stud Biophys.* 1984. V.101. P.89–98.
14. Yoshikawa K., Mori N., Sakakibara S. et al. Photo-conjugation of 8-methoxypsoralen with proteins // *Photochem Photobiol.* 1979. V.29. P.1127–1133.
15. Lysenko E.P., Melnikova V.O., Andina E.S. et al. Effects of glutathione peroxidase and catalase on hemolysis and methemoglobin modification induced by photooxidized psoralen // *J Photochem Photobiol B.* 2000. V.56. P.187–195.
16. Ali R., Agarwala S.C. In vitro and in vivo effect of normal and irradiated psoralen on glucose oxidation of brain and liver // *Enzyme.* 1974. V.18. P.321–326.
17. Potapenko A.Ya., Bezdtnaya L.N., Lysenko E.P. et al. Mechanisms of furocoumarin-sensitized damage to biological membranes // *Stud Biophys.* 1986. V.114. P.159–170.
18. Бездетная Л.Н., Потапенко А.Я., Перхова О.Ю. и др. Фотосенсибилизированное псораленом повреждение мембран эритроцитов: два механизма // *Биол. мембраны.* 1987. №4. С.270–279.
19. Potapenko A.Ya., Kyagova A.A., Andina E.S. et al. Photohemolysis sensitized by the furocoumarin imperatorin and its oxyfunctionalized derivatives // *Photochem Photobiol.* 1999. V.69. P.410–420.
20. Kyagova A.A., Korkina L.G., Snigireva T.V. et al. Psoralen photosensitized damage of rat peritoneal exudate cells // *Photochem Photobiol.* 1991. V.53. P.633–637.
21. Mizuno N., Esaki K., Sakakibara J. et al. Structural elucidation of the 8-methoxypsoralen oxidized product that inhibits the chemotactic activity of polymorphonuclear neutrophils toward anaphylatoxin C5a // *Photochem Photobiol.* 1991. V.54. P.697–701.
22. Potapenko A.Ya., Kyagova A.A., Bezdtnaya L.N. et al. Products of psoralen photooxidation possess immunomodulative and antileukemic effects // *Photochem Photobiol.* 1994. V.60. P.171–174.
23. Kyagova A.A., Zhuravel N.N., Malakhov M.V. et al. Suppression of delayed type hypersensitivity and hemolysis induced by previously photooxidized psoralen: effect of fluence rate and psoralen concentration // *Photochem Photobiol.* 1997. V.65. P.694–700.
24. Caffieri S., Di Lisa F., Bolesani F. et al. The mitochondrial effects of novel apoptogenic molecules generated by psoralen photolysis as a crucial mechanism in PUVA-therapy // *Blood.* 2007. V.109 (11). P.4918–4994.
25. Потапенко А.Я., Бутов Ю.С., Левинзон Е.С. и др. Фотоокислительные реакции псораленов и их роль в терапии дерматозов // *Вестн. РАМН.* 1999. №2. С.32–38.
26. Лысенко Е.П., Осипов А.Н., Зубарев В.Е., Потапенко А.Я. Исследование продуктов фотоокисления псоралена методом спиновых ловушек // *Журн. физ. хим.* 1988. Т.62. С.3033–3037.
27. Rodenko I.N., Osipov A.N., Lysenko E.P., Potapenko A.Ya. Degradation of psoralen photo-oxidation products induced by ferrous ions // *J Photochem Photobiol B.* 1993. V.19. P.39–48.
28. Zhuravel N.N., Belichenko I.V., Kyagova A.A. et al. Activation of hemolysis induced by photooxidized psoralen (POP) by  $Fe^{2+}$  ions. The role of  $Fe^{2+}$  reactions with POP and erythrocytes // *Membr Cell Biol.* 1996 (10). P.381–387.
29. Potapenko A.Ya., Agamaliev M.A., Nagiev A.I. et al. Photohemolysis sensitized by psoralen: reciprocity law is not fulfilled // *Photochem Photobiol.* 1991. V.54. P.375–379.
30. Potapenko A.Ya., Saparov S.M., Agamaliev M.A. et al.  $Fe^{2+}$  ions and reduced glutathione — chemical activators of psoralen-sensitized photohemolysis // *J Photochem Photobiol B.* 1993. V.17. P.69–75.

31. Potapenko A.Ya., Bezdetnaya L.N., Lysenko E.P. et al. Hypothesis of the induction of psoralens phototoxic effects through the stage of photooxidized psoralens formation. Model studies of erythrocytes // Stud Biophys. 1988. V.124. P.205–223.
32. Mollaev R.E., Saparov S.M., Zhuravel N.N. et al. Effect of EDTA on psoralen-sensitized photohemolysis // Phys Chem Biol & Med. 1995 (2). P.21–25.
33. Saparov S.M., Zhuravel N.N., Mollaev R.E. et al. Effect of calcium ions on psoralen-sensitized photohemolysis // J Photochem Photobiol B. 1991. V.10. P.159–164.
34. Hanau D., Gachet C., Schmitt D.A. et al. Ultrastructural similarities between epidermal Langerhans cell Birbeck granules and the surface-connected canalicular system of EDTA-treated human blood platelets // J Invest Dermatol. 1991. V.97. P.756–762.
35. Morgan E.N. Calcium chelators induce association with detergent-insoluble cytoskeleton and functional inactivation of the transferrin receptors in reticulocytes // Biochim Biophys Acta. 1989. V.981. P.121–129.

**СТРАНИЧКА УЧЕНОГО СОВЕТА РНИМУ им. Н.И.ПИРОГОВА**

**Информация о защитах диссертаций  
на соискание ученой степени доктора наук  
в ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И.Пирогова Минздрава России**

Автор	Тема	Специальность
<b>Быкова Ольга Владимировна</b>	Диагностика и лечение рассеянного склероза у детей и подростков в условиях длительного катамнеза	14.01.11 — нервные болезни (медицинские науки)
<i>Работа выполнена в НИИ педиатрии и на базе консультативно-диагностического центра ФГБУ «Научный центр здоровья детей» Российской академии медицинских наук. Научные консультанты — д.м.н., проф. О.И.Маслова; д.м.н., проф. А.Н.Бойко. Защита состоялась на заседании диссертационного совета Д 208.072.09 (117997, Москва, ул. Островитянова, 1; тел. для справок: (495) 434-8464).</i>		
<b>Федоров Виктор Федорович</b>	Методология анализа динамики количественных параметров функциональной диагностики сердечно-сосудистой системы	03.01.09 — математическая биология, биоинформатика (медицинские науки)
<i>Работа выполнена в ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Научный консультант — д.м.н., проф. Т.В.Зарубина. Защита состоялась на заседании диссертационного совета Д 208.072.09 (117997, Москва, ул. Островитянова, 1; тел. для справок: (495) 434-8464).</i>		
<b>Назарова Сурайё Изатуллоевна</b>	Совершенствование организации медицинской помощи беременным женщинам с сахарным диабетом в регионе высокой рождаемости	14.02.03 — общественное здоровье и здравоохранение; 14.01.01 — акушерство и гинекология (медицинские науки)
<i>Работа выполнена в ГУ «Таджикский научно-исследовательский институт акушерства, гинекологии и перинатологии» Министерства здравоохранения Республики Таджикистан. Научные консультанты — д.м.н., проф. С.М.Мухмадиева; д.м.н., проф. Н.Г.Кошелева. Защита состоялась на заседании диссертационного совета Д 208.072.06 (117997, Москва, ул. Островитянова, 1; тел. для справок: (495) 434-8464).</i>		
<b>Магомедова Шамай Магомедовна</b>	Пролапс митрального клапана у детей и подростков (диагностика, клиническая характеристика, дифференцированная тактика лечения и наблюдения)	14.01.08 — педиатрия (медицинские науки)
<i>Работа выполнена в ГБОУ ВПО «Дагестанская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Научный консультант — д.м.н., проф. И.М.Османов. Защита состоялась на заседании диссертационного совета Д 208.072.02 (117997, Москва, ул. Островитянова, 1; тел. для справок: (495) 434-8464).</i>		
<b>Джобава Элисо Мурмановна</b>	Беременность высокого риска по развитию акушерской патологии — система гемостаза и функция эндотелия. Системный подход к диагностике и терапии	14.01.01 — акушерство и гинекология (медицинские науки)
<i>Работа выполнена в ГБОУ ВПО «Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И.Пирогова» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Научный консультант — д.м.н., проф. Ю.Э.Доброхотова. Защита состоялась на заседании диссертационного совета Д 208.072.02 (117997, Москва, ул. Островитянова, 1; тел. для справок: (495) 434-8464).</i>		



## Памяти Светланы Александровны ЧЕРНЯКЕВИЧ



18 августа 2014 г. на 79-м году жизни скоропостижно скончалась Чернякевич Светлана Александровна, доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник НИЛ хирургической гастроэнтерологии и эндоскопии Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И.Пирогова.

Светлана Александровна 55 лет проработала в стенах 2-го Московского медицинского института и ныне Российского национального исследовательского медицинского университета, прошла путь от клинического ординатора на кафедре госпитальной хирургии до профессора. С 1968 г. по настоящее время работала в созданной при кафедре научно-исследовательской лаборатории хирургической гастроэнтерологии и эндоскопии, с 1993 по 2000 г. была ее заведующей.

С.А.Чернякевич была одним из ведущих гастроэнтерологов России, основоположником нового направления в хирургической гастроэнтерологии, связанного с изучением моторной функции желудочно-кишечного тракта. На протяжении 42 лет работала в стенах Городской клинической больницы № 31 — одной из ведущих клинических баз РНИМУ им. Н.И.Пирогова.

С.А.Чернякевич — врач-гастроэнтеролог высшей категории, ветеран труда. Была награждена медалями «За доблестный труд», «В память 850-летия Москвы». В 2002 г. за лечебную работу Светлане Александровне присвоено звание «Заслуженный врач России», в 2006 г. — «Отличник здравоохранения». В 2010 г. в связи с 40-летием ГKB № 31 награждена Почетной грамотой Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации за многолетний доблестный труд.

Светлана Александровна, будучи известным далеко за пределами нашей страны ученым, на протяжении всей своей многолетней работы поддерживала молодых коллег, оказывала им всестороннюю помощь. Ее работоспособность, отношение к пациентам и сотрудникам и самоабвенная служба светлым идеалам медицины помогали в работе и вдохновляли не одно поколение знавших ее врачей. Работать с таким замечательным человеком всегда было интересно, полезно и легко.

Светлая память о Светлане Александровне, добром и отзывчивом человеке широкой души, навсегда останется в наших сердцах.

*Сотрудники кафедры госпитальной хирургии № 2 и НИЛ хирургической гастроэнтерологии и эндоскопии*

# 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](http://www.rsmu.ru)