ISSN Print 2070–7320
ISSN Online 2070–7339

ВЕСТНИК РГМУ

06 / 2017 НОЯБРЬ-ДЕКАБРЬ
VESTNIKRGMU.RU

РЕАБИЛИТАЦИЯ В МЕДИЦИНЕ ОБЗОР

СТАТЬЯ **Рак молочной железы** 52

Проанализирован спектр соматических драйверных мутаций методом высокопроизводительного секвенерования

СТАТЬЯ **Рассеянный склероз** 75

Изучен цитокиновый профиль при моделировании у крыс экспериментального аутоиммунного энцефаломиелита

ВЕСТНИК РОССИЙСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО МЕДИЦИНСКОГО УНИВЕРСИТЕТА

НАУЧНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ЖУРНАЛ РНИМУ ИМ. Н. И. ПИРОГОВА

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР Денис Ребриков, д. б. н.

ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА Александр Эттингер, д. м. н.

РЕДАКТОРЫ Елена Куликова, Лилия Егорова

КОРРЕКТОР Ольга Комар

ПЕРЕВОДЧИКИ Екатерина Третьякова

РУКОВОДИТЕЛЬ РЕДАКЦИИ Елена Куликова

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

М. Р. Богомильский, член-корр. РАН, д. м. н, профессор. (Москва, Россия)
В. В. Белоусов, д. б. н., профессор (Москва, Росия)
В. К. Боженко, д. м. н., к. б. н., профессор (Москва, Россия)
Н. А. Былова, к. м. н., доцент (Москва, Россия)
Р. Р. Гайнетдинов, к. м. н. (Санкт-Петербург, Россия)
Е. К. Гинтер, академик РАН, д. б. н. (Москва, Россия)
А. В. Гудков, PhD, DSc (Буффало, США)
Н. В. Гуляева, д. б. н., профессор (Москва, Россия)
Е. И. Гусев, академик РАН, д. м. н., профессор (Москва, Россия)
В. Н. Даниленко, д. б. н., профессор (Москва, Россия)
И. И. Затевахин, академик РАН, д. м. н., профессор (Москва, Россия)
А. А. Иванов, к. м. н. (Москва, Россия)
Ю. Г. Кжышковска, д. б. н., профессор (Гейдельберг, Германия)
Ю. В. Котелевцев, к. х. н. (Москва, Россия)
М. А. Лебедев, PhD (Дарем, США)
С. А. Мошковский, д. б. н., профессор (Москва, Россия)
Д. Б. Мунблит, MSc, PhD (Лондон, Великобритания)
В. В. Негребецкий, д. х. н, профессор (Москва, Россия)
А. А. Новиков, д. б. н. (Москва, Россия)
Н. В. Полунина, член-корр. РАН, д. м. н., профессор (Москва, Россия)
Г. В. Порядин, член-корр. РАН, д. м. н., профессор (Москва, Россия)
Г. М. Савельева, академик РАН, д. м. н., профессор (Москва, Россия)
В. Ф. Семиглазов, член-корр. РАН, д. м. н., профессор (Санкт-Петербург, Россия)
Т. А. Славянская, д. м. н., профессор (Москва, Россия)
В. И. Стародубов, академик РАН, д. м. н., профессор (Москва, Россия)
В. А. Степанов, член-корр. РАН, д. б. н., профессор (Томск, Россия)
С. В. Сучков, д. м. н., профессор (Москва, Россия)
Х. П. Тахчиди, член-корр. РАН, д. м. н., профессор (Москва, Россия)
Г. Е. Труфанов, д. м. н., профессор (Санкт-Петербург, Россия)
О. О. Фаворова, д. б. н., профессор (Москва, Россия)
М. Л. Филипенко, к. б. н., в. н. с. (Новосибирск, Россия)
Р. Н. Хазипов, д. м. н. (Марсель, Франция)
Н. Л. Шимановский, член-корр. РАН, д. м. н., профессор (Москва, Россия)
Л. Н. Шишкина, д. б. н., с. н. с. (Новосибирск, Россия)
Р. И. Якубовская, д. б. н., профессор (Москва, Россия)

ДЛЯ ПОДАЧИ РУКОПИСЕЙ editor@vestnikrgmu.ru
ДЛЯ СОТРУДНИЧЕСТВА manager@vestnikrgmu.ru
АДРЕС РЕДАКЦИИ ул. Островитянова, д. 1, г. Москва, 117997

Журнал включён в РИНЦ. IF 2014: 0,139

Журнал включён в Перечень 27.01.2016 (№ 1760)

Индекс Хирша (h^5) журнала по оценке Google Scholar: 3

Здесь находится открытый архив журнала

Свидетельство о регистрации средства массовой информации № 012769 от 29 июля 1994 г.
Учредитель и издатель — Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова (Москва, Россия)

Журнал распространяется по лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International www.creativecommons.org

Подписано в печать 25.12.2017
Тираж 100 экз. Отпечатано в типографии Print.Formula
www.print-formula.ru

BULLETIN OF RUSSIAN STATE MEDICAL UNIVERSITY

BIOMEDICAL JOURNAL OF PIROGOV RUSSIAN NATIONAL RESEARCH MEDICAL UNIVERSITY

EDITOR-IN-CHIEF Denis Rebrikov, DSc

DEPUTY EDITOR-IN-CHIEF Alexander Oettinger, DSc

EDITORS Elena Kulikova, Liliya Egorova

PROOF-READER Olga Komar

TRANSLATORS Ekaterina Tretiyakova

EDITORIAL MANAGER Elena Kulikova

EDITORIAL BOARD

Bogomilskiy MR, corr. member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)
Belousov VV, DSc, professor (Moscow, Russia)
Bozhenko VK, DSc, CSc, professor (Moscow, Russia)
Bylova NA, CSc, docent (Moscow, Russia)
Gainetdinov RR, CSc (Saint-Petersburg, Russia)
Ginter EK, member of RAS, DSc (Moscow, Russia)
Gudkov AV, PhD, DSc (Buffalo, USA)
Gulyaeva NV, DSc, professor (Moscow, Russia)
Gusev EI, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)
Danilenko VN, DSc, professor (Moscow, Russia)
Zatevakhin II, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)
Ivanov AA, CSc (Moscow, Russia)
Kzyshkowska YuG, DSc, professor (Heidelberg, Germany)
Kotelevtsev YuV, CSc (Moscow, Russia)
Lebedev MA, PhD (Darem, USA)
Moshkovskii SA, DSc, professor (Moscow, Russia)
Munblit DB, MSc, PhD (London, Great Britain)
Negrebetsky VV, DSc, professor (Moscow, Russia)
Novikov AA, DSc (Moscow, Russia)
Polunina NV, corr. member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)
Poryadin GV, corr. member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)
Savelieva GM, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)
Semiglazov VF, corr. member of RAS, DSc, professor (Saint-Petersburg, Russia)
Slavyanskaya TA, DSc, professor (Moscow, Russia)
Starodubov VI, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)
Stepanov VA, corr. member of RAS, DSc, professor (Tomsk, Russia)
Takhchidi KhP, corr.member of RAS, DSc (medicine), professor (Moscow, Russia)
Suchkov SV, DSc, professor (Moscow, Russia)
Trufanov GE, DSc, professor (Saint-Petersburg, Russia)
Favorova OO, DSc, professor (Moscow, Russia)
Filipenko ML, CSc, leading researcher (Novosibirsk, Russia)
Khazipov RN, DSc (Marsel, France)
Shimanovskii NL, corr. member of RAS, Dsc, professor (Moscow, Russia)
Shishkina LN, DSc, senior researcher (Novosibirsk, Russia)
Yakubovskaya RI, DSc, professor (Moscow, Russia)

FOR PAPERS SUBMISSION editor@vestnikrgmu.ru
FOR COLLABORATION manager@vestnikrgmu.ru
ADDRESS ul. Ostrovityanova, d. 1, Moscow, Russia, 117997

The journal is included in RSCI. IF 2014: 0,139

The journal is included in the list of HAC 27.01.2016 (no. 1760)

Five-year h-index is 3

Free access archive of the journal is here

The mass media registration certificate no. 012769 issued on July 29, 1994
Founder and publisher is Pirogov Russian National Research Medical University (Moscow, Russia)

The journal is distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License www.creativecommons.org

Approved for print 25.12.2017
Circulation: 100 copies. Printed by Print.Formula
www.print-formula.ru

ВЕСТНИК РГМУ 6, 2017
BULLETIN OF RSMU

Содержание
Contents

ОБЗОР 5

Интегральная характеристика эффективности постурального контроля как концептуальная платформа для оптимизации реабилитационных и восстановительных программ в спорте
Д. А. Андреев, В. В. Кармазин, С. А. Парастаев

Comprehensive assessment of postural control as a conceptual basis for optimizing rehabilitation and recovery programs in sports
Andreev DA, Karmazin VV, Parastaev SA

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ 13

К вопросу об актуализации проблемы обезвоживания в спорте
С. А. Парастаев, Ю. В. Мирошникова, Т. А. Пушкина, В. А. Курашвили, Т. А. Яшин, И. Т. Выходец, М. В. Купеев, М. Д. Дидур

An update on dehydration in athletes
Parastaev SA, Miroshnikova YuV, Pushkina TA, Kurashvili VA, Yashin TA, Vykhodets IT, Kupeev MV, Didur MD

МНЕНИЕ 19

Безопасный спорт? Реалии, понятийные и нормативные аспекты
М. Д. Дидур, И. Т. Выходец, Н. К. Хохлина, А. И. Журавлева, Б. А. Поляев

Can sports be safe? Reality, concepts and regulations
Didur MD, Vykhodets IT, Khokhlina NK, Zhuravleva AI, Polyaev BA

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ 23

Немедикаментозные способы лечения головных болей напряжения у детей школьного возраста
В. В. Полунина, Е. Ю. Сергеенко, О. В. Ярустовская, В. С. Полунин

Drug-free treatments of tension headaches in school-age children
Polunina VV, Sergeenko EYu, Yarustovskaya OV, Polunin VS

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ 29

Зависимость мышечной силы от темпов биологического созревания и основных показателей физического развития у мальчиков-подростков
О. Ю. Милушкина, Н. А. Скоблина, П. К. Прусов, Н. А. Бокарева, А. А. Татаринчик, Ф. У. Козырева, А. Б. Моисеев

Dependence of muscle strength on biological maturation rates and key variables of physical development in teenage boys
Milushkina OYu, Skoblina NA, Prusov PK, Bokareva NA, Tatarinchik AA, Kozyreva FU, Moiseev AB

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ 36

Гигиеническая оценка условий труда в учреждениях исправительной системы: проблемы и пути решения
Н. В. Полунина, М. И. Тимерзянов, О. Ю. Милушкина, Ю. П. Пивоваров, В. С. Полунин, А. А. Аль Сабунчи, Ф. У. Козырева, В. В. Королик

Workplace hygiene in correctional facilities: problems and solutions
Polunina NV, Timerzyanov MI, Milushkina OYu, Pivovarov YuP, Polunin VS, Al Sabunchi AA, Kozyreva FU, Korolik VV

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ 42

Разработка системы прогнозирования диагнозов заболеваний на основе искусственного интеллекта
М. В. Сахибгареева, А. Ю. Заозерский

Developing an artificial intelligence-based system for medical prediction
Sakhibgareeva MV, Zaozersky AYu

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ 47

Характеристики деятельности пластических хирургов
Н. Е. Мантурова, В. В. Кочубей, А. В. Кочубей

A few aspects of plastic surgeons' performance
Manturova NE, Kochubey VV, Kochubey AV

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ 52

Рак молочной железы: анализ спектра соматических драйверных мутаций с применением высокопроизводительного секвенирования
К. Ю. Цуканов, А. Ю. Красненко, Д. О. Коростин, А. В. Чуров, И. Ф. Стеценко, Н. А. Плотников, С. А. Зарубина, В. А. Белова, А. В. Ковыршина, И. К. Воротников, А. А. Мещеряков, В. В. Ильинский

Breast cancer: analysis of driver somatic mutations detected by next-generation sequencing
Tsukanov KYu, Krasnenko AYu, Korostin DO, Churov AV, Stetsenko IF, Plotnikov NA, Zarubina SA, Belova VA, Kovyrshina AV, Vorotnikov IK, Mescheryakov AA, Ilyinsky VV

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ 59

Анализ индукции апоптоза лимфоцитов периферической крови человека сверхинтенсивным гамма-излучением *in vitro*
Е. В. Грабовский, Г. М. Олейник, Е. Г. Крастелев, В. П. Смирнов, Е. В. Хмелевский, В. К. Боженко, А. М. Шишкин, А. В. Иванов, Т. М. Кулинич

Analysis of the apoptotic effect of ultrahigh gamma dose rates on human peripheral blood lymphocytes *in vitro*
Grabovsky EV, Oleynik GM, Krastelev EG, Smirnov VP, Khmelevsky EV, Bozhenko VK, Shishkin AM, Ivanov AV, Kulinich TM

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ 67

Влияние типа анестезии и условий прокрашивания тканей мозга красителем 2,3,5-трифенилтетразолием хлористым (ТТХ) на оценку ишемического повреждения мозга крыс на ранних стадиях патогенеза
Д. С. Билан, И. В. Кельмансон, В. В. Белоусов

The choice of anesthetic type and conditions for 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride staining of brain slices is important in the assessment of ischemic injury in rats in the early stages of pathology
Bilan DS, Kelmanson IV, Belousov VV

ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ 75

Временная динамика цитокинов в крови при экспериментальном аутоиммунном энцефаломиелите у крыс
Н. В. Позднякова, В. И. Туробов, Е. Е. Гаранина, О. А. Рябая, Ю. К. Бирюкова, Н. И. Минкевич, Е. В. Трубникова, А. Б. Шевелев, Т. В. Кузнецова, А. В. Белякова, И. П. Удовиченко

Temporal dynamics of cytokines in the blood of rats with experimentally induced autoimmune encephalomyelitis
Posdnyakova NV, Turobov VI, Garanina EE, Ryabaya OA, Biryukova YuK, Minkevich NI, Trubnikova EV, Shevelev AB, Kuznetsova TV, Belyakova AV, Udovichenko IP

ИНТЕГРАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПОСТУРАЛЬНОГО КОНТРОЛЯ КАК КОНЦЕПТУАЛЬНАЯ ПЛАТФОРМА ДЛЯ ОПТИМИЗАЦИИ РЕАБИЛИТАЦИОННЫХ И ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫХ ПРОГРАММ В СПОРТЕ

Д. А. Андреев[1]✉, В. В. Кармазин[2], С. А. Парастаев[1]

[1] Кафедра реабилитации, спортивной медицины и физической культуры, педиатрический факультет, Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва

[2] Федеральный научно-клинический центр спортивной медицины и реабилитации, Федеральное медико-биологическое агентство, Москва

В обзоре проанализированы данные литературных источников по основным физиологическим аспектам системы проприоцепции. Проведена сравнительная характеристика используемого биомеханического оборудования для диагностики эффективности постурального контроля у спортсменов высокого класса. Определены первоочередные задачи биомеханического обследования при нарушении постурального баланса, среди которых приоритет отдается оценке функциональной состоятельности всех типов проприорецепторов и проприоцептивного контроля. Приведены клинико-биомеханические критерии проприоцептивных нарушений у спортсменов, а также разработанный авторами на их основе алгоритм диагностики статодинамических нарушений у спортсменов высокого класса.

Ключевые слова: биомеханика, проприоцепция, постуральный баланс, функциональная асимметрия, стабилометрия, нестабильные платформы, балансометрия, алгоритм обследования, спортсмены высокого класса

✉ **Для корреспонденции:** Андреев Дмитрий Александрович
ул. Островитянова, д. 1, г. Москва, 117997; drada_rus@mail.ru

Статья получена: 16.11.2017 **Статья принята к печати:** 05.12.2017

COMPREHENSIVE ASSESSMENT OF POSTURAL CONTROL AS A CONCEPTUAL BASIS FOR OPTIMIZING REHABILITATION AND RECOVERY PROGRAMS IN SPORTS

Andreev DA[1]✉, Karmazin VV[2], Parastaev SA[1]

[1] Department of Rehabilitation, Sports Medicine and Physical Education, Faculty of Pediatrics, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

[2] Federal Research and Clinical Center of Sports Medicine and Rehabilitation, Federal Medical-Biological Agency, Moscow, Russia

This literature-based review focuses on the basic physiological aspects of proprioception. Below, we describe and compare a number of biomechanical platforms used to measure postural control in high-class athletes. We define the primary goals of biomechanical assessment of postural problems, paying special attention to the functional performance of proprioceptors and proprioceptive control. We also provide a list of clinical and biomechanical indicators of proprioceptive damage and propose a diagnostic algorithm for assessing static and dynamic impairments in high-class athletes.

Keywords: biomechanics, proprioception, postural balance, functional asymmetry, stabilometry, unstable platforms, balance assessment, diagnostic algorithm, high-class athletes

✉ **Correspondence should be addressed:** Dmitry Andreev
ul. Ostrovityanova 1, Moscow, Russia, 117997; drada_rus@mail.ru

Received: 16.11.2017 **Accepted:** 05.12.2017

В данном обзоре приведен критический анализ данных литературных источников о методологии диагностики и мониторинга нарушений постурального контроля у спортсменов высокого класса, а также рассмотрены принципы построения реабилитационных программ на основании оценки состояния проприоцептивной сферы.

Медицинское оборудование, позволяющее диагностировать и корригировать изменения скорости и силы движений, весьма эффективно используется на различных этапах реабилитации в неврологии, травматологии и ортопедии. Однако эти показатели недостаточно отражают специфику адаптационных и компенсаторных процессов в различных видах спорта. Оценка и коррекция системы проприоцепции менее разработаны, пути их реализации довольно сильно различаются, особенно в определении диагностических подходов и установлении информативных оценочных критериев [1].

Физиологические аспекты системы проприоцепции

Проприоцепцией (глубокой или кинестетической чувствительностью) называют восприятие позы и движений тела в целом и его сегментов в частности. Понимание закономерностей функционирования проприоцептивной сферы, прежде всего, рецепторного звена и механизмов регуляции, позволяет подобрать эффективный диагностический инструментарий как для клинической, так и для спортивной биомеханики.

Выделяют три вида структурно и функционально различающихся проприорецепторов — мышечные веретена, сухожильные и суставные рецепторы [2].

Расположенные параллельно скелетной мышце мышечные веретена, состоящие из нескольких поперечнополосатых интрафузальных мышечных волокон, крепятся к соединительнотканной оболочке (перимизию) пучка экстрафузальных мышечных волокон, поэтому при расслаблении мышцы рецепторы растягиваются, что ведет к их возбуждению [2, 3].

Заключенные в соединительнотканную капсулу сухожильные рецепторы (тельца Гольджи) последовательно располагаются в сухожилиях скелетных мышц, в связи с чем раздражение рецепторов возникает при натяжении сухожилия.

Импульсы от мышечных веретен поступают к α-мотонейронам спинного мозга и возбуждают их, что ведет к сокращению растянутой мышцы. Как только мышца начинает сокращаться, возбуждение мышечных веретен прекращается или сильно ослабевает; одновременно импульсация сухожильных рецепторов поступает в спинной мозг к тормозным клеткам Реншоу. Возбуждение последних вызывает торможение α-мотонейронов скелетной мышцы, вследствие чего она расслабляется. То есть мышца поочередно сокращается и расслабляется в результате поступления к ее мотонейронам импульсов от собственных рецепторов [2–4].

При сложных двигательных актах, например ходьбе, синхронизированные сокращения мышц-сгибателей одной ноги и разгибателей другой также обеспечиваются поступлением афферентных импульсов от мышечных и сухожильных рецепторов и, соответственно, поочередным возбуждением и торможением центров сгибателей и разгибателей [2]. Особенности данного локомоторного акта можно охарактеризовать биомеханическими методами.

Суставные рецепторы (механорецепторы) расположены в капсуле, хрящах, связочном аппарате суставов и в перикапсулярной соединительной ткани. Они типируются в зависимости от их реакции на амплитуду, скорость и направление движения в суставе.

Так, окончания и тельца Руффини, локализующиеся как в капсуле сустава, так и в окружающих соединительнотканных образованиях (в том числе расположенных в глубоких слоях дермы и подкожной жировой клетчатки), генерируют информацию о значениях межзвенных суставных углов, то есть о взаимоположении элементов сустава. Импульсация продолжается в течение всего периода сохранения такого угла и определяется его величиной; считается, что данный тип механорецепторов особенно чувствителен при экстремальных диапазонах углов. Тельца Пачини находятся исключительно в капсуле сустава и воспринимают направление и скорость изменения его угла, причем с увеличением скорости возрастает и частота генерируемых импульсов. В данном случае также наиболее полную информацию можно получить средствами клинической биомеханики.

Ощущение движения, как и кожная чувствительность (прикосновение, давление), обусловлено проведением в мозг сигналов от рецепторов по двум основным путям (трактам): лемнисковому и спиноталамическому, — значительно различающимся по своим морфологическим и функциональным свойствам. Существует и третий путь — латеральный тракт Морина, близкий по ряду характеристик к лемнисковому.

Многогранность и важность контроля движений для сохранения устойчивости в вертикальной позе отмечена W. R. Miles еще в 1922 г. [цит. по 5]. В 1924 г. была опубликована фундаментальная работа Рудольфа Магнуса «Установка тела», где голландский ученый развил идеи И. М. Сеченова о собственной чувствительности мышц («темное мышечное чувство») и Чарльза С. Шерингтона (учение о рецептивных полях), а также всесторонне изучил особую группу позных, или установочных, рефлексов (тонические рефлексы Магнуса–Клейна), обеспечивающих функции поддержания позы и равновесия; описал автор и другие рефлексы, необходимые для нормального стояния и ходьбы животных [цит. по 5].

В опубликованной в 1965 г. работе Гурфинкеля и соавт. «Регуляция позы человека» [6] заложены основы инструментальной оценки системы проприоцепции, для чего был предложен такой метод биомеханической диагностики, как стабилометрия. С тех пор в клинической практике активно применяют методы стабилометрической оценки функций двигательной и нервной систем, так как оценка проприоцепции в закрытой кинетической цепи может быть осуществлена исследованием постурального баланса [5]. Именно стратегия удержания баланса тела в вертикальном положении, а также соматосенсорная информация от стопы, находящейся в контакте с поверхностью опоры, являются ведущими проприоцептивными показателями контроля баланса [5, 6].

Биомеханические методы диагностики проприоцептивной сферы

Стабилометрия обеспечивает объективный функциональный мониторинг в процессе реабилитационных мероприятий при нарушениях постурального контроля [1, 5]. Дефицит последнего после травм и при ортопедической патологии обычно связывают с нарушением афферентной информации от связочных и капсульных механорецепторов. Современные стабилометрические комплексы представляют собой комбинированные аппаратно-программируемые системы с возможностью регуляции степени мобильности опорной платформы и наличием акселерометрического датчика. Пример подобного аппаратно-программного комплекса представлен на рис. 1.

Важными диагностическими критериями вертикальной устойчивости являются площадь статокинезиограммы и скорость общего центра давления (ОЦД), а также коэффициент Ромберга (отношение площадей статокинезиограммы при закрытых и открытых глазах). Данный

Рис. 1. Стабилометрический комплекс [7]

коэффициент характеризует функциональную готовность периферического и вестибулярного звеньев системы проприоцепции к сохранению вертикальной устойчивости при выключении третьего уровня постурального контроля — зрительного анализатора.

По нашему мнению, в настоящее время общепринятые методики и принципы стабилометрической диагностики в спортивной медицине не используют весь потенциал оценки постурального стереотипа, однако именно стабилометрия является основным диагностическим инструментом функциональных постуральных асимметрий у спортсменов. Многие авторы считают, что большинство видов спорта предъявляют специфические требования к симметричности или, наоборот, асимметричности опорно-двигательного аппарата, органов чувств и способствуют их развитию [8, 9]. Оптимальность выполнения специальных двигательных навыков спортсменом определяется морфогенетическими особенностями организма и зависит от наличия необходимого уровня асимметрии при выполнении движения, т. е. успешность в конкретном виде спорта сопутствует определенному типу сенсомоторного профиля.

Особую значимость имеет связь асимметрии мозга с организацией вертикальной позы. Ее длительная поддержка возможна при уравновешивании статических моментов сил всех звеньев тела, что, в свою очередь, обеспечивается адекватным состоянием всех уровней проприоцептивного контроля.

Необходимо упомянуть, что такие стабилометрические показатели функциональной постуральной асимметрии, как среднее положение и среднеквадратическое отклонение ОЦД во фронтальной плоскости, являются маркерами специальных двигательных навыков, характерных для того или иного вида спорта, и актуальны для оценки техники выполнения специфических локомоций [9].

В то же время положение и показатели площади и скорости ОЦД рассматриваются как функциональные маркеры статического положения, что позволяет оценивать различные влияния специальной физической нагрузки на все звенья опорно-двигательного аппарата. При этом стабилограмма — это интегральный и комплексный метод оценки функционального состояния системы регуляции движений. Неотъемлемой частью оценки постурального контроля в спорте является также клиническая оценка состояния мышц, участвующих в удержании специфичной для конкретного вида спорта («рабочей») вертикальной позы.

Таким образом, способность стабилизировать равновесие в статике (стоя, сидя) и в динамике (ходьба) — это важнейший аспект двигательной сферы в спортивной медицине, и ее оптимальная оценка позволяет выявить различные нарушения проприоцепции. Кроме того, рациональная интерпретация стабилометрических показателей и их сопоставление с данными клинического тестирования мышц, участвующих в удержании вертикальной позы, помогают повысить эффективность восстановительных мероприятий у спортсменов с травмами и заболеваниями опорно-двигательного аппарата [10, 11]. Пример стабилограммы с выраженной асимметричной стойкой у спортсмена представлен на рис. 2.

Однако классическая стабилометрия имеет свои ограничения в оценке проприоцептивной системы, которая работает по принципу биологической обратной связи, реагируя на внешние раздражители изменением стратегии регуляции позы. Наиболее быстро отвечающее на внешнее раздражение звено — периферический анализатор; в регуляции вертикальной устойчивости им является прежде всего голеностопный сустав, а также стопы. Если опорная поверхность неподвижна, то невозможно в полной мере оценить функцию периферического анализатора при сложных постуральных реакциях, характерных для спорта высоких достижений. Эта проблема освещена американским травматологом Фрименом в 60-е гг. прошлого столетия: после травм нижних конечностей реабилитация на нестабильных платформах восстанавливала оптимальное состояние периферического анализатора системы проприоцепции за счет активации рецепторов стопы и голеностопного сустава [цит. по 10].

В настоящее время принцип нестабильности опоры широко используется при проведении реабилитационных мероприятий у пациентов с последствиями травматической болезни спинного мозга, осложнениями остеохондроза позвоночника, после оперативного лечения

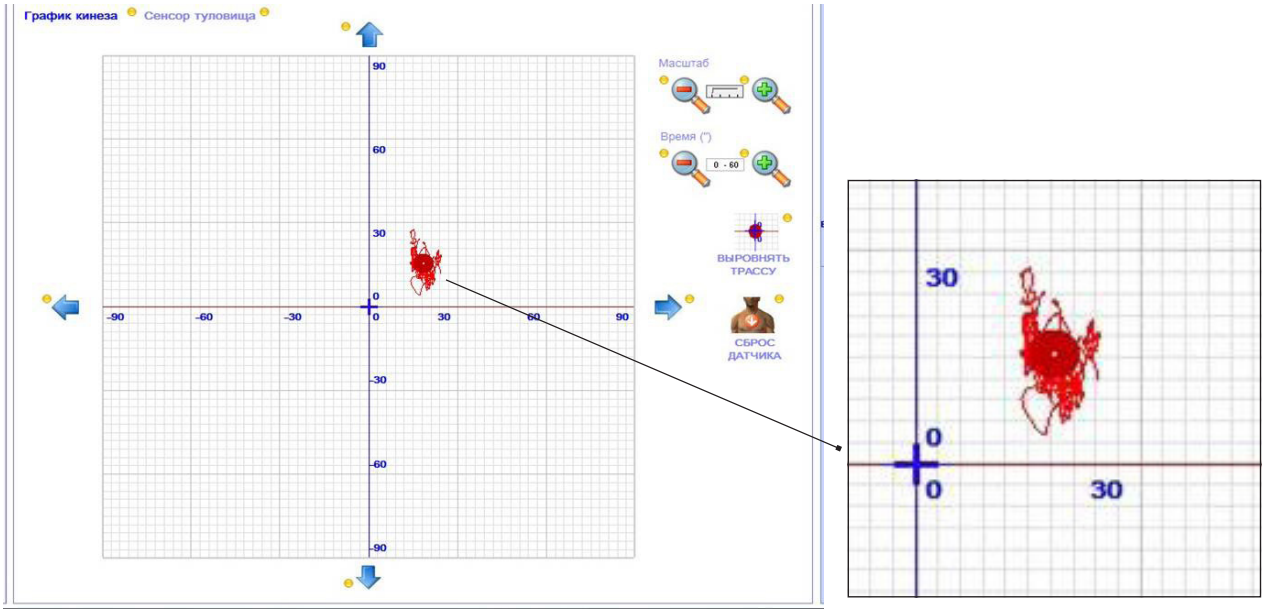


Рис. 2. Стабилограмма спортсмена с выраженным смещением ОЦД в сторону ведущей руки и ноги. Отмечено значительное увеличение площади и скорости ОЦД на фоне клинических признаков мышечного перенапряжения правой нижней конечности

ортопедической патологии тазобедренных, коленных и голеностопных суставов [10–12]. Внедряются методики, стимулирующие активность аутохтонных мышц, обеспечивающих постуральный баланс. Данные методики реализуются тренажерами — сферическими жесткими и полужесткими платформами с различными степенями свободы угловых смещений [12, 13].

Однако использование механических тренажеров не подразумевает первичной оценки постурального контроля на нестабильной поверхности. Для проведения диагностических манипуляций на нестабильных опорах необходимо наличие встроенных в платформы датчиков, отображающих опорные реакции спортсмена во время тестирования. Подобные аппаратные комплексы оснащены на сегодняшний день как классическими стабилометрическими платформами, так и баланс-комплексами с использованием комбинированного акселерометро-гироскопического сенсорного датчика, позволяющего оценить линейные скорости, а также скоростно-угловые характеристики в системе координат. Именно с помощью балансометрии можно максимально точно оценить функциональную активность суставных механорецепторов при перемещении сустава в пространстве (тельца Руффини) и скоростные параметры изменения суставного угла (тельца Пачини). Особенностью и преимуществом балансометрического комплекса с использованием акселерометра и гироскопа является способность регистрировать минимальные угловые смещения ОЦД, что увеличивает эффективность как диагностики системы проприоцепции, так и ее стимуляции во время занятий с использованием биологической обратной связи [14, 15].

Балансометрические комплексы обладают высокой диагностической значимостью в оценке постурального контроля спортсменов, а также предоставляют возможность целенаправленной коррекции постуральных нарушений в биоуправлении проприоцептивными, слуховыми и зрительными стимулами. В отличие от классических стабилометрических комплексов [16] нестабильные акселерометрические баланс-платформы при коррекции проприоцептивных нарушений имеют активационную функцию: они не предполагают фиксации пациента в пространстве, он должен самостоятельно поддерживать положение тела, что обеспечивается, прежде всего, мышцами, стабилизирующими постуральный баланс, — аутохтонными, ягодичными и Hamstring-группы (мышцами задней поверхности бедра) [11, 16]. Программное обеспечение фиксирует параметры смещения тела во время диагностических и лечебных процедур, что позволяет проводить как первичную верификацию постурального контроля, так и мониторинг показателей во время проведения курса восстановительного лечения [11, 17]. Кроме того, сами автоматизированные платформы снабжены механическими и программными возможностями варьирования векторных направлений тренировок, что позволяет врачу-реабилитологу дифференцировать занятия в зависимости от степени тяжести основного заболевания, выраженности компенсаторных проявлений со стороны центральной и периферической нервной системы, опорно-двигательного аппарата, а также возможного наличия сопутствующей патологии этих функциональных систем. На рис. 3 представлен один из образцов мобильной беспроводной балансометрической платформы.

Описанный принцип интегральной оценки системы проприоцепции на нестабильных опорных платформах реализован в различных аппаратно-программных комплексах биомеханической диагностики и коррекции. Фундаментальные исследования, проведенные G. Fellicetti, A. Srivastava, A. B. Taly, A. Gupta, доказали высокую эффективность этого оборудования при проприоцептивных нарушениях [цит. по 19].

Одним из самых перспективных методов в оценке постурального контроля у спортсменов является бароподометрия, которая, в отличие от стабилометрии, предполагает использование большого количества тензодатчиков (до нескольких десятков тысяч). Это позволяет оценить весь спектр смещений давления под стопами, включая как основные показатели постуральной диагностики (площадь и скорость ОЦД), так и динамические изменения степени давления во время стояния, ходьбы, бега и специальных динамических тестов [20].

В бароподометрических комплексах используются датчики двух типов: емкостные и резистивные. Принцип их работы основан на изменении электрического сигнала или сопротивления среды между двумя пластинами. Датчики емкостного типа, являясь более точными, тем не менее требуют более сложной калибровки, поэтому используются лишь в специальных исследовательских лабораториях. Для клинической практики более применимы платформы с датчиками резистивного типа [21].

Технология бароподометрии на данный момент стремительно развивается. Успешно преодолеваются различные недостатки ранних версий датчиков: повышенная чувствительность, термочувствительность, нестабильность в работе, недостаточная прочность. В настоящее время бароподометрические платформы представлены множеством вариаций — компактные платформы для оценки в положении стоя, дорожки для анализа походки, тредмилы, сенсорные стельки в обувь и др. Бароподометрия используется также для оценки статодинамической функции стоп, анализа походки. Неоценима роль данного исследования в диагностике функциональных проявлений плоскостопия, мониторинге в процессе реабилитационных мероприятий

Рис. 3. Балансометрическая платформа [18]

при различных неврологических и ортопедических заболеваниях стоп. Подобные платформы входят в состав сложных аппаратных комплексов анализа движений и систем для изготовления стелечных ортезов [20, 21].

Кроме этого, активно внедряются методики оценки состояния позвоночника и аутохтонных мышц спины — оптическая топография и аппаратно-программный комплекс для обследования антигравитационных мышц туловища с регулируемым изменением угла наклона пациента [22].

Необходимо отметить, что диагностика динамических проприоцептивных нарушений у спортсменов более оптимальна при использовании биомеханических комплексов, обеспечивающих синхронизацию различных способов регистрации показателей локомоций (видеоанализа, миографии), применение инерциальных систем на основе гироскопов и акселерометров. Самыми перспективными, с позиций комплексного биомеханического обследования спортсменов в целом и системы проприоцепции в частности, на наш взгляд, являются беспроводные инерциальные системы.

При первичной и динамической оценке качества постурального контроля нельзя забывать также о необходимости локальной диагностики функционального состояния мышц связок и суставов. Для этого целесообразно применение электромиографии и термографии [23].

Принципы методологии биомеханического обследования системы проприоцепции у спортсменов

Приведенный выше спектр диагностического оборудования позволяет оптимально и комплексно оценить постуральный стереотип спортсмена, выявить симптомы нарушений проприоцепции, инструментально подтвердить данные клинического осмотра, а также проводить мониторинг динамики показателей проприоцептивной сферы в процессе реабилитационных мероприятий [24].

Однако, на основании нашего опыта и по данным мировых источников, наиболее важна роль указанного биомеханического оборудования в построении реабилитационных программ [25].

Знание статодинамических особенностей в различных видах спорта, преференции наиболее используемой руки или ноги в конкретном виде спорта, физиологические аспекты опорной и доминирующей в движении нижней конечности позволяют правильно интерпретировать данные клинического и биомеханического обследований спортсмена [26].

Основными принципами диагностики постурального контроля у спортсменов являются:

• характеристика степени выраженности асимметричных влияний спортивной деятельности;

• анализ показателей стабильности баланса вертикальной устойчивости в целом, стоя на одной ноге, при двигательном координационном тесте;

• выявление первичного звена в патогенезе проприоцептивных нарушений.

Постуральная асимметрия является необходимым компонентом комплексной оценки постурального стереотипа спортсмена. Признаки морфологических и функциональных асимметрий свойственны основным афферентным элементам, центральному и эфферентному отделам контроля позы. Выявление степени асимметрии у спортсменов тесно связано с онтогенетическими особенностями и доминированием «рабочей» руки/ноги в конкретном виде спорта [27–33].

Кроме этого, необходимо оценить стабильность показателей постурального стереотипа (контроля) как в основной стойке, так и в пробе, стоя на одной ноге [28–30]. Так, группа ученых [28] провела сравнительное клинико-биомеханическое исследование выполнения координационного теста «Звезда» у представителей игровых видов спорта и людей, не занимающихся спортом. Сутью данного теста является клиническая оценка баланса испытуемого в вертикальном положении во время стояния на одной ноге и дотягивания другой ногой до зон, расположенных по периметру окружности. Данные постуральной биомеханической диагностики, включающей в себя стабилометрию и бароподометрию, показали статистически значимое смещение ОЦД в основной стойке в сторону доминирующей нижней конечности, а также лучшие показатели стабильности баланса, стоя на доминирующей ноге (правой у правшей и левой у левшей), у профессиональных спортсменов [28]. Полученные результаты свидетельствуют о наличии «рабочей» асимметрии, а также о тенденции смещения ОЦД в сторону доминирующей нижней конечности под влиянием функциональной преференции руки и/или ноги, характерных для конкретного вида спорта [34–36].

Данные изменения можно считать проявлением адаптивных реорганизаций постурального контроля. При значительных физических перегрузках, после травм, смене условий реализации спортивной деятельности (обуви, покрытия, позиции на игровом поле) возможен срыв адаптационных процессов регуляции позы, который может привести к дезадаптации межмышечных взаимодействий, а затем, при отсутствии корригирующих мероприятий, к

Алгоритм биомеханического обследования

Этап обследования	Метод диагностики
Первичное постуральное обследование	• Классическая стабилометрия • Компьютерная оптическая топография • Стандартная бароподометрия
Выявление общих проприоцептивных нарушений баланса в вертикальном положении	• Стабилометрия (тест Ромберга) • Бароподометрия (тест на одной ноге)
Выявление статодинамических нарушений проприоцепции	• Балансометрия (моноосевой и многоосевой тесты) • Бароподометрия (динамические тесты во фронтальном и сагиттальном направлениях) • Анализ движений и походки с использованием видеорегистратора, инерциальных беспроводных датчиков, тредмила с встроенной бароплатформой • Обследование функционального состояния антигравитационных мышц туловища с изменением регуляции угла наклона пациента
Выявление функциональных локальных изменений мышц, связок и суставов	• Электромиография • Термография

формированию компенсаторных изменений, которые являются дополнительным фактором риска развития хронических заболеваний опорно-двигательного аппарата у спортсменов [37–39].

Клинико-биомеханическими критериями дезадаптации являются:

1. болевой синдром в перегружаемой области;
2. смещение ОЦД в сторону перегружаемой области;
3. функциональная недостаточность мышц, отвечающих за стабильность суставов перегружаемой области;
4. формирование вторичных изменений в компенсаторно измененных областях.

На основании многолетнего опыта проведения клинико-биомеханических исследований у спортсменов нами был разработан следующий алгоритм биомеханического обследования (таблица).

На основании полученных результатов определяются основные задачи, структура, очередность реабилитационных мероприятий у спортсменов с различными нарушениями системы проприоцепции.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Описанный выше подход, на наш взгляд, является наиболее актуальным, так как в нем объективно учитывается взаимосвязь физиологических возможностей функциональных систем с адаптационными и компенсаторными процессами, сопровождающими тренировочную деятельность, специфичную для отдельно взятой патологии нервной системы и опорно-двигательного аппарата. Необходимо также подчеркнуть, что только комплексная биомеханическая диагностика позволяет получать значимые данные, которые, в свою очередь, могут помочь правильно оценить степень функциональной подготовленности спортсмена и выбрать наиболее оптимальный путь ее стабилизации и повышения.

Литература

1. Скворцов Д. В. Диагностика двигательной патологии инструментальными методами: анализ походки, стабилометрия. М.: Науч.-мед. фирма МБН; 2007. 617 с.
2. Солодков А. С., Сологуб Е. Б. Физиология человека. Общая. Спортивная. Возрастная. М.: Терра-Спорт, Олимпия Пресс; 2001. с. 75–95.
3. Смирнов В. М., редактор. Физиология человека. М.: Медицина; 2002. с. 94–113.
4. Покровский В. М., Коротько Г. Ф., редакторы. Физиология человека. Т. 1. М.: Медицина; 1997. с. 193–205.
5. Скворцов Д. В. Клинический анализ движений. Стабилометрия. М.: МБН; 2000. 189 с.
6. Гурфинкель В. С., Коц Я. М., Шик М. Л. Регуляция позы человека. М.: Наука; 1965. 256 с.
7. TecnoBody srl [Интернет]. Bergamo, Italy; c2016 [дата обращения: 3 ноября 2017 г.]. ProKin 252 N; [примерно 9 стр.]. Доступно по: http://www.tecnobody.it/ENG/default.aspx?PAG=2&MOD=PRD&f=6&p=55
8. Бердичевская Е. М. Роль функциональной асимметрии мозга в возрастной динамике двигательной деятельности человека [автореф. диссертации]. Краснодар: Кубанский государственный университет физической культуры, спорта и туризма; 1999. 46 с.
9. Shumway-Cook A, Horak FB. Assessing the influence of sensory interaction of balance. Suggestion from the field. Phys Ther. 1986 Oct; 66 (10): 1548–50.
10. Lephart SM, Fu FH, editors. Proprioception and neuromuscular control in joint stability. Champaign, IL: Human Kinetics; 2000. 464 p.
11. Grigg P. Peripheral neural mechanisms in proprioception. J Sport Rehab. 1994 Feb; 3 (1): 2–17.
12. Bouisset S, Duchêne JL. Is body balance more perturbed by respiration in seating than in standing posture? Neuroreport. 1994 Apr 14; 5 (8): 957–60.
13. Коновалова Н. Г., Леонтьев М. А., Деева И. В. Формирование двигательных функций у инвалидов с тетрапарезом с использованием физкультуры на фитболе. Адаптивн. физ. культ. 2009; 2 (38): 20–2.
14. Cornwall MW, Murrell P. Postural sway following inversion sprain of the ankle. J Am Podiatr Med Assoc. 1991 May; 81 (5): 243–7.
15. Barrack RL, Skinner HB, Buckley SL. Proprioception in the anterior cruciate deficient knee. Am J Sports Med. 1989 Jan–Feb; 17 (1): 1–6.
16. Barrack RL, Skinner HB, Brunet ME, Cook SD. Joint laxity and proprioception in the knee. Phys Sportsmed. 1983 Jun; 11 (6): 130–5.
17. Tyldesling B, Greve JI. Muscles, Nerves and Movement: Kinesiology in Daily Living. Boston: Blackwell Scientific Publications; 1989. p. 268–84.
18. MARKMED Motor Rehabilitation Marek Wiecheć [Интернет]. c2016 [дата обращения: 3 ноября 2017 г.]. SIGMA Balance Diagnostics. Diagnostics and therapy of balance and proprioception; [1 веб-стр.]. Доступно по: http://www.markmed.pl/en/sigma_balance_diagnostics/.
19. Giacomozzi C. Appropriateness of plantar pressure measurement devices: a comparative technical assessment. Gait posture. 2010 May; 32 (1): 141–4.
20. Lorkowski J, Zarzycki D. [Clinical use of pedobarographic examination — own experience and review of literature]. Przegl Lek. 2006; 63 (Suppl 5): 28–32. Polish.
21. Rubira APFA, Martins MSE, Denti CBS, Gerlin NG, Tomaz C, Rubira MC. Efficiency of stabilometry and static baropodometry in the assessment of balance in patients with vestibular disorders. Neurobiologia. 2010; 3 (2): 57–64.
22. BenEliyahu DJ. Infrared thermography and the sports injury practice. Dyn Chiropract. 1992 Mar 27; 10 (7): 27–8.
23. Mbongo F, Patko T, Vidal PP, Vibert N, Tran Ba Huy P, de Waele C. Postural control in patients with unilateral vestibular lesions is more impaired in the roll than in the pitch plane: a static and dynamic posturography study. Audiol Neurootol. 2005 Sep–Oct; 10 (5): 291–302.
24. Yasuda T, Nakagawa T, Inoue H, Iwamoto M, Inokuchi A. The role of the labyrinth, proprioception and plantar mechanosensors in the maintenance of an upright posture. Eur Arch Otorhinolaryngol. 1999; 256 (Suppl 1): S27–32.
25. Peterka RJ. Sensorimotor integration in human postural control. J Neurophysiol. 2002 Sep; 88 (3): 1097–118.
26. Srivastava A, Taly AB, Gupta A, Kumar S, Murali T. Post-stroke balance training: role of force platform with visual feedback technique. J Neurol Sci. 2009 Dec 15; 287 (1–2): 89–93.
27. Zelaschi F, Felicetti G, Di Patrizi S. Motor rehabilitation: evolution of functional markers in trained hemiparetic patients and effectiveness of synchronous techniques. Funct Neurol. 1995 Jul–Oct; 10 (4–5): 203–7.
28. Gribble PA, Hertel J, Plisky P. Using the Star Excursion Balance Test to assess dynamic postural-control deficits and outcomes in lower extremity injury: a literature and systematic review. J Athl Train. 2012 May–Jun; 47 (3): 339–57.
29. Kiers H, van Dieën J, Dekkers H, Wittink H, Vanhees L. A systematic review of the relationship between physical activities in sports or daily life and postural sway in upright stance. Sports Med. 2013 Nov; 43 (11): 1171–89.
30. Hrysomallis C. Balance ability and athletic performance. Sports Med. 2011 Mar 1; 41 (3): 221–32.

31. Chow GCC, Fong SSM, Chung JWY, Chung LMY, Ma AWW, Macfarlane DJ. Determinants of sport-specific postural control strategy and balance performance of amateur rugby players. J Sci Med Sport. 2016 Nov; 19 (11): 946–50.
32. Fong SSM, Tsang WWN, Ng GYF. Lower limb joint sense, muscle strength and postural stability in adolescent Taekwondo practitioners. Int Sport Med J. 2013; 14 (2): 44–52.
33. Ricotti L. Static and dynamic balance in young athletes. J Hum Sport Exerc. 2011; 6 (4): 616–28.
34. Gosselin G, Fagan MJ. The effects of cervical muscle fatigue on balance — a study with elite amateur rugby league players. J Sports Sci Med. 2014 May 1; 13 (2): 329–37.
35. Brault S, Bideau B, Craig C, Kulpa R. Balancing deceit and disguise: how to successfully fool the defender in a 1 vs. 1 situation in rugby. Hum Mov Sci. 2010 Jun; 29 (3): 412–25.
36. Wallmann HW. Comparison of elderly nonfallers and fallers on performance measures of functional reach, sensory organization, and limits of stability. J Gerontol a Biol Sci Med Sci. 2001 Sep; 56 (9): M580–3.
37. Hammami R, Behm DG, Chtara M, Ben Othman A, Chaouachi A. Comparison of static balance and the role of vision in elite athletes. J Hum Kinet. 2014 Jul 8; 41: 33–41.
38. Balter SGT, Stokroos RJ, Akkermans E, Kingma H. Habituation to galvanic vestibular stimulation for analysis of postural control abilities in gymnasts. Neurosci Lett. 2004 Aug 5; 366 (1): 71–5.
39. Peterson CL, Ferrara MS, Mrazik M, Piland S, Elliott R. Evaluation of neuropsychological domain scores and postural stability following cerebral concussion in sports. Clin J Sport Med. 2003 Jul; 13 (4): 230–7.

References

1. Skvortsov DV. Diagnostika dvigatel'noy patologii instrumental'nymi metodami: analiz pokhodki, stabilometriya. Moscow: Nauchnaya meditsinskaya firma MBN; 2007. 617 p. Russian.
2. Solodkov AS, Sologub EB. Fiziologiya cheloveka. Obshchaya. Sportivnaya. Vozrastnaya. Moscow: Terra-Sport, Olimpiya Press; 2001. p. 75–95. Russian.
3. Smirnov VM, editor. Fiziologiya cheloveka. Moscow: Meditsina; 2002. p. 94–113. Russian.
4. Pokrovskiy VM, Korot'ko GF, editors. Fiziologiya cheloveka. Vol. 1. Moscow: Meditsina; 1997. p. 193–205. Russian.
5. Skvortsov DV. Klinicheskiy analiz dvizheniy. Stabilometriya. Moscow: MBN; 2000. 189 p. Russian.
6. Gurfinkel' VS, Kots YaM, Shik ML. Regulyatsiya pozy cheloveka. Moscow: Nauka; 1965. 256 p. Russian.
7. TecnoBody srl [Internet]. Bergamo, Italy; c2016 [cited 2017 Nov 3]. ProKin 252 N; [about 9 p.]. Available from: http://www.tecnobody.it/ENG/default.aspx?PAG=2&MOD=PRD&f=6&p=55
8. Berdichevskaya EM. Rol' funktsional'noy asimmetrii mozga v vozrastnoy dinamike dvigatel'noy deyatel'nosti cheloveka [abstract of the dissertation]. Krasnodar: Kuban State University of Education, Sport and Tourism; 1999. 46 p. Russian.
9. Shumway-Cook A, Horak FB. Assessing the influence of sensory interaction of balance. Suggestion from the field. Phys Ther. 1986 Oct; 66 (10): 1548–50.
10. Lephart SM, Fu FH, editors. Proprioception and neuromuscular control in joint stability. Champaign, IL: Human Kinetics; 2000. 464 p.
11. Grigg P. Peripheral neural mechanisms in proprioception. J Sport Rehab. 1994 Feb; 3 (1): 2–17.
12. Bouisset S, Duchêne JL. Is body balance more perturbed by respiration in seating than in standing posture? Neuroreport. 1994 Apr 14; 5 (8): 957–60.
13. Konovalova NG, Leontyev MA, Deyeva IV. [Development of motor functions in physically challenged persons with tetraparesis by means of fitball training sessions]. Adaptivnaya fizicheskaya kul'tura. 2009; 2 (38): 20–2. Russian.
14. Cornwall MW, Murrell P. Postural sway following inversion sprain of the ankle. J Am Podiatr Med Assoc. 1991 May; 81 (5): 243–7.
15. Barrack RL, Skinner HB, Buckley SL. Proprioception in the anterior cruciate deficient knee. Am J Sports Med. 1989 Jan–Feb; 17 (1): 1–6.
16. Barrack RL, Skinner HB, Brunet ME, Cook SD. Joint laxity and proprioception in the knee. Phys Sportsmed. 1983 Jun; 11 (6): 130–5.
17. Tyldesling B, Greve JI. Muscles, Nerves and Movement: Kinesiology in Daily Living. Boston: Blackwell Scientific Publications; 1989. p. 268–84.
18. MARKMED Motor Rehabilitation Marek Wiecheć [Internet]. c2016 [cited 2017 Nov 3]. SIGMA Balance Diagnostics. Diagnostics and therapy of balance and proprioception; [1 screen]. Available from: http://www.markmed.pl/en/sigma_balance_diagnostics/.
19. Giacomozzi C. Appropriateness of plantar pressure measurement devices: a comparative technical assessment. Gait posture. 2010 May; 32 (1): 141–4.
20. Lorkowski J, Zarzycki D. [Clinical use of pedobarographic examination — own experience and review of literature]. Przegl Lek. 2006; 63 (Suppl 5): 28–32. Polish.
21. Rubira APFA, Martins MSE, Denti CBS, Gerlin NG, Tomaz C, Rubira MC. Efficiency of stabilometry and static baropodometry in the assessment of balance in patients with vestibular disorders. Neurobiologia. 2010; 3 (2): 57–64.
22. BenEliyahu DJ. Infrared thermography and the sports injury practice. Dyn Chiropract. 1992 Mar 27; 10 (7): 27–8.
23. Mbongo F, Patko T, Vidal PP, Vibert N, Tran Ba Huy P, de Waele C. Postural control in patients with unilateral vestibular lesions is more impaired in the roll than in the pitch plane: a static and dynamic posturography study. Audiol Neurootol. 2005 Sep–Oct; 10 (5): 291–302.
24. Yasuda T, Nakagawa T, Inoue H, Iwamoto M, Inokuchi A. The role of the labyrinth, proprioception and plantar mechanosensors in the maintenance of an upright posture. Eur Arch Otorhinolaryngol. 1999; 256 (Suppl 1): S27–32.
25. Peterka RJ. Sensorimotor integration in human postural control. J Neurophysiol. 2002 Sep; 88 (3): 1097–118.
26. Srivastava A, Taly AB, Gupta A, Kumar S, Murali T. Post-stroke balance training: role of force platform with visual feedback technique. J Neurol Sci. 2009 Dec 15; 287 (1–2): 89–93.
27. Zelaschi F, Felicetti G, Di Patrizi S. Motor rehabilitation: evolution of functional markers in trained hemiparetic patients and effectiveness of synchronous techniques. Funct Neurol. 1995 Jul–Oct; 10 (4–5): 203–7.
28. Gribble PA, Hertel J, Plisky P. Using the Star Excursion Balance Test to assess dynamic postural-control deficits and outcomes in lower extremity injury: a literature and systematic review. J Athl Train. 2012 May–Jun; 47 (3): 339–57.
29. Kiers H, van Dieën J, Dekkers H, Wittink H, Vanhees L. A systematic review of the relationship between physical activities in sports or daily life and postural sway in upright stance. Sports Med. 2013 Nov; 43 (11): 1171–89.
30. Hrysomallis C. Balance ability and athletic performance. Sports Med. 2011 Mar 1; 41 (3): 221–32.
31. Chow GCC, Fong SSM, Chung JWY, Chung LMY, Ma AWW, Macfarlane DJ. Determinants of sport-specific postural control strategy and balance performance of amateur rugby players. J Sci Med Sport. 2016 Nov; 19 (11): 946–50.
32. Fong SSM, Tsang WWN, Ng GYF. Lower limb joint sense, muscle strength and postural stability in adolescent Taekwondo practitioners. Int Sport Med J. 2013; 14 (2): 44–52.
33. Ricotti L. Static and dynamic balance in young athletes. J Hum Sport Exerc. 2011; 6 (4): 616–28.
34. Gosselin G, Fagan MJ. The effects of cervical muscle fatigue on balance — a study with elite amateur rugby league players. J Sports Sci Med. 2014 May 1; 13 (2): 329–37.
35. Brault S, Bideau B, Craig C, Kulpa R. Balancing deceit and disguise: how to successfully fool the defender in a 1 vs. 1 situation in rugby. Hum Mov Sci. 2010 Jun; 29 (3): 412–25.

36. Wallmann HW. Comparison of elderly nonfallers and fallers on performance measures of functional reach, sensory organization, and limits of stability. J Gerontol a Biol Sci Med Sci. 2001 Sep; 56 (9): M580–3.
37. Hammami R, Behm DG, Chtara M, Ben Othman A, Chaouachi A. Comparison of static balance and the role of vision in elite athletes. J Hum Kinet. 2014 Jul 8; 41: 33–41.
38. Balter SGT, Stokroos RJ, Akkermans E, Kingma H. Habituation to galvanic vestibular stimulation for analysis of postural control abilities in gymnasts. Neurosci Lett. 2004 Aug 5; 366 (1): 71–5.
39. Peterson CL, Ferrara MS, Mrazik M, Piland S, Elliott R. Evaluation of neuropsychological domain scores and postural stability following cerebral concussion in sports. Clin J Sport Med. 2003 Jul; 13 (4): 230–7.

К ВОПРОСУ ОБ АКТУАЛИЗАЦИИ ПРОБЛЕМЫ ОБЕЗВОЖИВАНИЯ В СПОРТЕ

С. А. Парастаев[1,2] ✉, Ю. В. Мирошникова[3], Т. А. Пушкина[3], В. А. Курашвили[4], Т. А. Яшин[5], И. Т. Выходец[1], М. В. Купеев[1], М. Д. Дидур[6]

[1] Кафедра реабилитации, спортивной медицины и физической культуры, педиатрический факультет, Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва

[2] Медицинская клиника Национального агентства клинической фармакологии и фармации, Москва

[3] Федеральное медико-биологическое агентство, Москва

[4] Федеральный научный центр физической культуры и спорта, Москва

[5] Федеральный научно-клинический центр спортивной медицины и реабилитации, Федеральное медико-биологическое агентство, Москва

[6] Институт мозга человека имени Н. П. Бехтеревой РАН, Санкт-Петербург

Нарушение водно-солевого баланса — это фактор, лимитирущий физическую работоспособность профессиональных спортсменов. Нами было проведено исследование с целью определения степени информированности атлетов по проблеме дегидратации в спорте. На первом этапе было проведено с помощью разработанного авторами опросника анкетирование 51 спортсмена (средний возраст — 20,4 года) со специализацией в различных видах спорта: хоккее на льду, водном поло, большом теннисе, фигурном катании. На втором этапе были проанализированы деперсонифицированные данные лабораторных исследований 30 спортсменов со специализацией в мини-футболе: оценивали косвенные признаки гидратационного статуса — гематокрит, содержание натрия в крови, удельную плотность мочи. По результатам анкетирования была констатирована низкая информированность 86 % спортсменов по вопросам рационального восполнения потерь жидкости и минералов вследствие физических нагрузок, что служит одной из важнейших причин неконтролируемого потребления жидкости и развития обезвоживания различной степени. Отмечена зависимость уровня информированности от спортивной квалификации атлета. При ретроспективном анализе данных лабораторного тестирования была ориентировочно установлена распространенность гипогидратации среди спортсменов высокой квалификации: вероятные признаки дегидратации имели место по меньшей мере в 73 % случаев. В России следует разработать и внедрить национальные клинические рекомендации по регидратации в спорте, которые были бы одобрены медицинским и тренерским сообществом.

Ключевые слова: гидратационный статус, дегидратация, регидратация, спортсмены высокой квалификации, углеводно-электролитные растворы

✉ **Для корреспонденции:** Парастаев Сергей Андреевич
ул. Островитянова, д. 1, г. Москва, 117997; sergeyparastaev@gmail.com

Статья получена: 02.11.2017 **Статья принята к печати:** 25.11.2017

AN UPDATE ON DEHYDRATION IN ATHLETES

Parastaev SA[1,2] ✉, Miroshnikova YuV[3], Pushkina TA[3], Kurashvili VA[4], Yashin TA[5], Vykhodets IT[1], Kupeev MV[1], Didur MD[6]

[1] Department of Rehabilitation, Sports Medicine and Physical Education, Faculty of Pediatrics, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

[2] Medical Clinic of the National Agency of Clinical Pharmacology and Pharmaceutical Science, Moscow, Russia

[3] Federal Medical and Biological Agency, Moscow, Russia

[4] Federal Science Center for Physical Culture and Sport, Moscow, Russia

[5] Federal Research and Clinical Center for Sports Medicine and Rehabilitation, Federal Medical-Biological Agency, Moscow, Russia

[6] N. P. Bekhtereva Institute of Human Brain, the Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russia

Fluid and electrolyte imbalances can compromise physical performance of professional athletes. We have conducted a study to understand how aware athletes are of their hydration status and how they deal with dehydration. First, we surveyed 51 athletes (mean age of 20.4 years) specializing in different sports, including ice hockey, water polo, tennis and figure skating, using a questionnaire. Next, we analyzed the anonymized results of the laboratory tests run on the samples of 30 athletes specializing in futsal. We focused on hemotocrit and sodium levels and urine specific gravity as indirect indicators of hydration status. Survey results demonstrated that 86 % of the participants lacked knowledge of wise approaches to replenishing fluid or electrolytes after physical exercise, did not adequately control fluid intake and developed various degrees of dehydration. We noticed that awareness of hydration status negatively correlated with professional qualifications of the participants. Retrospective analysis of laboratory tests showed that hypohydration prevailed among high-class athletes: at least 73 % of them showed signs of dehydration. We emphasize the need for elaborating unified clinical recommendations on rehydration for Russian athletes that should be further approved by doctors and coaches.

Keywords: hydration status, dehydration, rehydration, high-class athletes, carbohydrate-electrolyte solutions

✉ **Correspondence should be addressed:** Sergey Parastaev
ul. Ostrovityanova, d. 1, Moscow, Russia, 117997; sergeyparastaev@gmail.com

Received: 02.11.2017 **Accepted:** 25.11.2017

Среди факторов, влияющих на физическую работоспособность атлетов, наряду с интенсивностью энергетического метаболизма важное значение имеет баланс жидкостей в организме [1, 2]. Качественные и количественные характеристики гидратации организма, т. е. насыщения его жидкостью, и нарушение гидратации вследствие обильного потоотделения — от субклинической гипогидратации до развития обезвоживания (дегидратации) — тесно связаны с различными параметрами состояния организма. Именно поэтому показатели, отражающие степень гидратации, могут быть применены для оценки текущего функционального состояния спортсменов.

Эффективные подходы к регидратации, т. е. сохранению и восстановлению баланса жидкости в организме, а если смотреть на проблему шире — водно-солевого баланса в целом, имеют существенное значение для оптимизации восстановления атлетов после тренировочных и соревновательных нагрузок. Так, в исследованиях, организованных в соответствии с принципами доказательной медицины, было установлено, что в сравнении с водой низкой минерализации углеводно-электролитные растворы (УЭР, или CES — carbohydrate-electrolyte solutions) обладают более выраженной регидратирующей активностью и, соответственно, ускоряют темпы постнагрузочного восстановления, что создает предпосылки для повышения спортивной результативности [3]. Назначение УЭР согласно позиции Международного общества спортивного питания (International Society of Sports Nutrition, ISSN) — содействие регидратации, восполнение убыли электролитов, а также поддержание потенциала выносливости [4]. Определен оптимальный компонентный состав данной категории продуктов специализированного питания (их относят к спортивным напиткам). Обязательными ингредиентами являются углеводы (их должно быть не менее 2), а также натрий — единственный минерал, дефицит которого не нуждается в обязательном восполнении [5]. Включение иных минералов, и прежде всего калия, рассматривается как факультативное. Это детерминировано, во-первых, данными о сохранении приемлемого уровня содержания калия при значительных (до 3–4 л/сут.) потерях пота в ходе продолжительной (в течение 8 дней подряд) физической активности даже при сниженном потреблении минерала (до 30 % от суточной нормы) [6], а во-вторых — отсутствием убедительных данных об отрицательном влиянии сниженных уровней содержания не только калия, но также магния и кальция на переносимость физических нагрузок. Регламентации потребления УЭР (прежде всего, созданию рациональных алгоритмов) посвящены многочисленные Согласительные заявления — Consensus Statements [5, 7–11].

Несмотря на столь пристальное внимание тренерского и медицинского профессионального сообщества к проблеме поддержания водно-солевого баланса в организме, а также на предложение рынком чрезвычайно широкого спектра коммерческих спортивных напитков, на практике гипо- и дегидратация по-прежнему достаточно часто выявляется как у квалифицированных атлетов, так и у лиц, регулярно занимающихся физической культурой. Так, по данным Sponsiello и соавт. [12], оптимальная гидратация была констатирована лишь у 37 % обследованных спортсменов, а по данным В. А. Курашвили [13] до 91 % спортсменов, профессионально занимающихся игровыми видами спорта (баскетбол, гандбол, футбол), начинают тренировки при обезвоженном состоянии организма. При этом часто атлеты не выражают обеспокоенности из-за вероятного обезвоживания организма: так, 65 % участников забегов на длинные и сверхдлинные дистанции не придавали значения возможной проблеме [14]. Следует заметить, что эти данные были получены в ходе опроса 419 мужчин и женщин, участников Чикагского марафона, большинство из которых принимали участие в подобных соревнованиях не менее 10 лет.

Уровень насыщения тканей организма влагой рассматривается как индивидуально детерминированный показатель, т. е. определяемый для каждого спортсмена с учетом его антропометрических данных, а также параметров инструментального и лабораторного тестирования, пищевого поведения, социального и культурологического статуса, конфессиональной принадлежности [8]. При этом авторы работы [8] не учитывали такой аспект, как способность спортсменов ориентироваться в проблеме индуцированного нагрузками дефицита жидкости и способах его восполнения.

Мотивационной установкой для проведения настоящего исследования стало стремление к выявлению связи между информированностью по вопросу рационализации питьевого режима как одной из особенностей пищевого поведения в достаточно специфической социальной группе (спортсмены высокой квалификации) и установленным лабораторными методами гидратационного статуса атлетов.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Исследование было проведено в два этапа.

На первом этапе 51 профессиональный спортсмен ответил на вопросы разработанной нами анкеты. В группе респондентов имелось незначительное преобладание мужчин над женщинами: 53 % против 47 %. Возрастной состав группы опроса был следующим: спортсмены 16–18 лет — 51 %, 19–21 года — 18 %, 22–24 лет — 12 %, 25 лет и старше — 20 %. Средний возраст составил 20,4 года. Атлеты специализировались в различных видах спорта: хоккее на льду, водном поло, большом теннисе, фигурном катании. Среди участников опроса было 9 мастеров спорта международного класса и 5 заслуженных мастеров спорта.

Разработанный опросный лист содержал 19 вопросов, сгруппированных в 6 блоков:

- блок 1 (вопросы 1–5) — общая информация о спортсмене (пол, возраст, антропометрические данные, спортивная специализация и уровень квалификации, направленность и интенсивность тренировочного процесса на данном этапе подготовки);
- блок 2 (вопросы 6–7) — самооценка состояния водно-солевого баланса во время и после тренировочных нагрузок, а также осведомленность о средней потере жидкости за одну тренировку;
- блок 3 (вопросы 8–11) — сведения о характере восполнения потерь жидкости спортсменом во время тренировочных занятий;
- блок 4 (вопросы 12–15) — характеристика подходов к восполнению убыли жидкости после тренировки;
- блок 5 (вопросы 16–18) — информация о восполнении потери влаги во время соревнований;
- блок 6 (вопрос 19) — марки специализированных спортивных напитков для нормализации водно-солевого баланса.

На втором этапе был проведен ретроспективный анализ результатов лабораторных исследований, косвенно характеризующих гидратационный статус спортсменов. Изучали деперсонифицированные результаты тестирования,

проведенного в ходе углубленных медицинских обследований 30 спортсменов высокого класса, специализирующихся в мини-футболе; ни один из игроков не был задействован на первом этапе исследования. В качестве косвенных маркеров сдвигов водно-электролитного баланса рассматривали 3 показателя: гематокрит (объемная доля эритроцитов в крови) из реестра параметров общего клинического анализа крови, содержание Na^+ в крови, а также удельную плотность мочи. Массив результатов лабораторных проб был предоставлен Клиникой спортивной медицины Московского научно-практического центра медицинской реабилитации, восстановительной и спортивной медицины Департамента здравоохранения г. Москвы.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

По итогам опроса нами были получены данные, свидетельствующие о различной информированности респондентов о сущности де-/регидратации организма в процессе спортивной деятельности: от крайне низкой осведомленности в сложнокоординационных видах спорта до приемлемой — в игровых. Ключевая проблема — нехватка информации о методах оценки водно-электролитного баланса и о целесообразных объемах потребления жидкости до, во время и после тренировочных и соревновательных сессий. При этом 86 % спортсменов пьют во время нагрузок значительной продолжительности, что можно рассматривать как позитивный признак.

Как правило, глубина познаний о величине перспирационных потерь и способах их восполнения тесно связана с уровнем спортивной квалификации: чем выше последняя, тем свободнее ориентируются спортсмены в вопросах управления своим гидратационным статусом. Однако даже спортсмены топ-уровня, как правило, недооценивают значение достаточно простых способов мониторинга насыщенности организма влагой: взвешиванием до и после тренировок, градацией цветности мочи по размещенному на сайте спортивного медицинского центра Университета Западной Алабамы (США) шаблону [15], определением композиционного состава тела и удельной плотности мочи.

Уровень индивидуальных потерь жидкости в ходе тренировочных сессий определяли лишь 7 опрошенных спортсменов из 51, т. е. всего 14 % (рис. 1). Надо отметить, что в этой крайне немногочисленной группе объем потребляемой во время нагрузок жидкости обычно составлял 50–70 % от объема убыли влаги. На рис. 2 представлены данные о фактических потерях жидкости за время тренировки, а данные рис. 3 и 4 показывают, что большинство спортсменов потребляют недостаточно жидкости для возмещения ее потерь, особенно после тренировки.

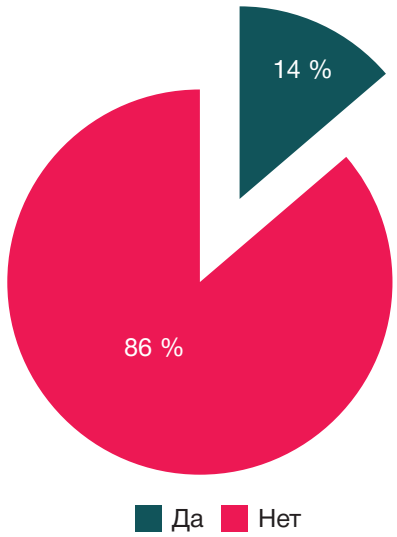


Рис. 1. Осведомленность о фактических потерях жидкости за время тренировки. Результаты анкетирования профессиональных спортсменов (n = 51)

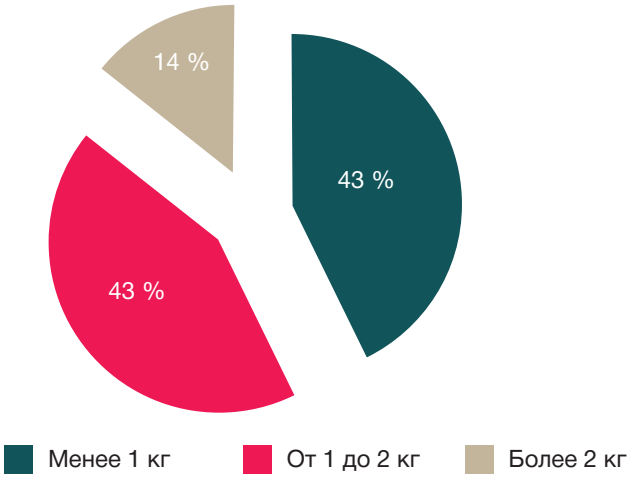


Рис. 2. Средний объем жидкости, фактически потерянной за время тренировки. Результаты анкетирования профессиональных спортсменов (n = 51)

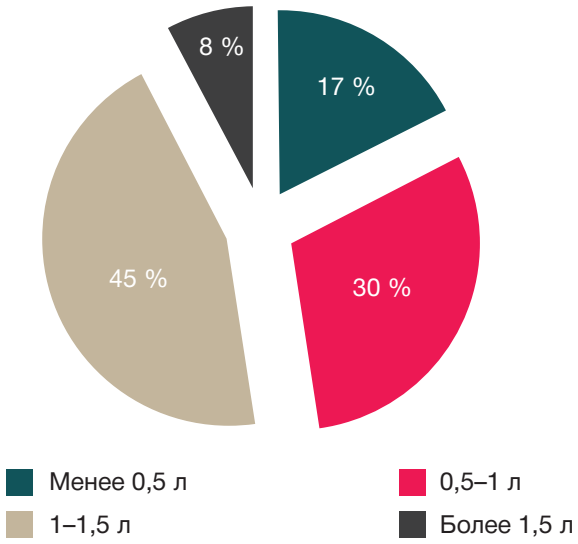


Рис. 3. Объем жидкости, потребляемый за время тренировки. Результаты анкетирования профессиональных спортсменов (n = 51)

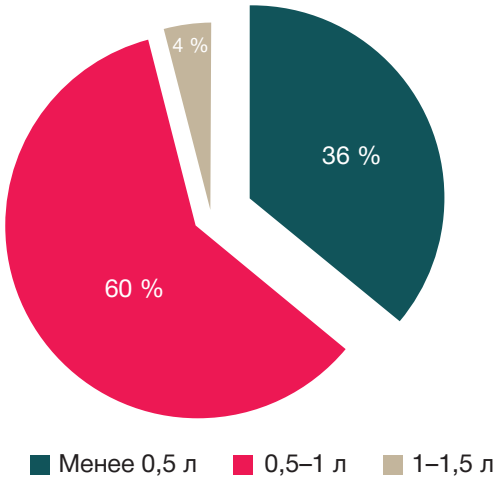


Рис. 4. Объем жидкости, потребляемый после окончания тренировки. Результаты анкетирования профессиональных спортсменов (n = 51)

В качестве ведущего средства восстановления водно-солевого баланса спортсмены, как правило, упоминают питьевую воду. Чаще на ее употрблении настаивают тренеры, которые настороженно относятся к многокомпонентности углеводно-электролитных растворов из-за риска нарушения антидопинговых правил.

Среди специализированных УЭР наибольшей популярностью среди опрошенных спортсменов пользовались те, которые поставляются в команды в соответствии с заявками, т. е. продукты, закупаемые централизованно. Специализированные продукты отечественного производства потребляются крайне редко: на них приходится не более 20 % УЭР.

Достаточно часто спортсмены комбинируют коммерческие спортивные напитки (изо- и гипотонические) с питьевой водой, причем некоторые атлеты делают это осознанно, опираясь на некую информационную поддержку (к сожалению, не всегда обоснованную).

Результаты анализа данных лабораторных исследований, косвенно указывающих на нарушение водно-электролитного баланса, оказались достаточно необычными.

По уровню гематокрита превышение референсного значения (47 %) мы констатировали лишь водном случае, пограничные величины (44–46 %) были зафиксированы у 23 из 30 футболистов. Таким образом, тенденция к сокращению доли жидкой фракции крови, что можно рассматривать как признак гипогидратации, имела место в 80 % случаев.

Гипернатриемия как вероятный критерий гиперосмотической гипогидратации, т. е. преобладания потери жидкости над минеральной составляющей (выше 152 мОсмоль/кг H_2O) была выявлена сразу у 17 спортсменов, пограничные значения (146–152 мОсмоль/кг H_2O) — у 5. В 7 случаях содержание натрия в крови находилось в пределах физиологической нормы (135–145 мОсмоль/кг H_2O), а в 2 случаях — было снижено, т. е. отмечалась гипонатриемия. У этих 2 спортсменов имело место гипоосмотическое состояние, но оснований предполагать гипергидратацию («водную интоксикацию» вследствие потребления больших количеств питьевой воды) было недостаточно, т. к. в обоих случаях удельная плотность мочи была приемлемой — 1020.

Повышение удельной плотности мочи за счет избыточной концентрации разведенных в ней веществ до 1025 и выше, позволяющее заподозрить обезвоживание, было отмечено в 5 случаях; оптимальная гидратация, индикатором которой являются значения показателя менее 1020 — в 11 случаях. Допустимые значения (1020–1025) зафиксировали у 14 спортсменов. Таким образом, тенденция к повышению концентрации растворенных в

моче веществ имела место приблизительно в 2/3 случаев, однако данный феномен не значим без дополнительной информации о содержании мочевины, роль которой в создании осмоляльности мочи выше, нежели натрия.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Низкая информированность спортсменов высокого класса об индуцированном физическими нагрузками дефиците жидкости, а также о подходах к его выявлению и коррекции является фактором риска снижения физической работоспособности и спортивной результативности [1–3]. Результаты нашего анкетирования показывают, что именно в силу низкой осведомленности до 86 % спортсменов не обладают достаточными сведениями для оптимизации своего питьевого режима и, соответственно, лишены возможности управлять своим гидратационным статусом.

Надо отметить, что величина суммарного объема потребления жидкости (во время нагрузок и после их окончания) должна составлять не менее 150 % от ее убыли [3, 5]. Следовательно, наши наблюдения показывают, что не менее 2/3 атлетов, чем бы они ни руководствовались — жаждой или указаниями врачей и тренеров по питьевому режиму, попадают в группу риска по развитию гипо- и дегидратации. При этом непосредственно в ходе тренировочных и соревновательных сессий опрошенные спортсмены обычно восполняют дефицит жидкости на уровне 50–70 % от величины потерь. Похожие данные сообщаются в работе Burke [16]. Это означает, что распространенная проблема — недостаточное питье именно после завершения нагрузок. В целом же результаты нашего анкетирования позволяют констатировать неадекватное потерям восполнение дефицита жидкости по меньшей мере у 73 % спортсменов, занимающихся разными видами спорта.

Что касается результатов ретроспективного анализа деперсонифицированных данных лабораторного тестирования, то наличие сразу трех признаков обезвоживания было отмечено у 3 спортсменов, двух признаков — у 16, только одного — у 8. Случаев, когда все три анализируемых параметра свидетельствовали об оптимальной гидратации (эугидратации), было всего 4, т. е. 10 %. Это меньше тех цифр, которые получали другие исследователи — например, 37 % в работе [12]. Наши наблюдения парадоксальны, т. к. футбол (и соккер, и мини-футбол, и футзал) — это вид спорта, в котором вопросам питания и потребления жидкости уделяется повышенное внимание, о чем свидетельствует наличие регулярно переиздаваемого свода правил [10].

Полученные в исследовании данные свидетельствуют о недооценке спортсменами риска обезвоживания и его отрицательного влияния на уровень демонстрируемых ими результатов, о непонимании подходов к поддержанию оптимального водно-электролитного баланса в организме. Эта проблема в отечественном спорте усугубляется отсутствием национальных клинических рекомендаций по регидратации в спорте, которые были бы одобрены врачами и тренерским сообществом. Создание и размещение в открытом доступе таких рекомендаций могли бы значительно улучшить ситуацию.

ВЫВОДЫ

Проведенное в ходе исследования анкетирование было ориентировано как на реализацию исследовательских задач, так и на достижение дидактического эффекта: заполнение специально разработанного опросника, последующее обсуждение со специалистами по спортивному питанию вероятных причин многовариантности ответов, в том числе на вопрос о роли рациональной регидратации в повышении (или поддержании на запланированном уровне) результативности — все это явилось для большинства спортсменов стимулом научиться поддерживать в организме водно-солевой баланс. Результаты ретроспективного анализа данных лабораторного тестирования объективно подтвердили наличие проблемы.

Проблема нерационального потребления жидкости спортсменами в процессе тренировочной и соревновательной деятельности по-прежнему чрезвычайно актуальна. В связи с чем важнейшей задачей, подлежащей незамедлительному решению, является создание различных инструментов мониторинга гидратационного статуса для применения как в условиях лабораторного стенда (включая стационарную аппаратуру для изучения композиционного состава тела с возможностью посегментарного анализа), так и для использования в «полевых» условиях (в том числе тест-полоски для определения удельной плотности мочи, электролитного состава пота и вязкости слюны, а также шкала цветности мочи). Возможность мониторирования позволит индивидуализировать программы регидратации на этапах годичного цикла подготовки не только для весьма ограниченного по численности контингента атлетов топ-уровня, но и для спортивного резерва.

Литература

1. Palmer MS, Heigenhauser GJ, Duong M, Spriet LL. Mild Dehydration Does Not Influence Performance or Skeletal Muscle Metabolism During Simulated Ice Hockey Exercise in Men. Int J Sport Nutr Exerc Metab. 2017 Apr; 27 (2): 169–77.
2. Zubac D, Antelj T, Olujic D, Ivancev V, Morrison SA. Fluid balance and hydration assessment during the weight-stable preparation phase in elite youth boxers. J Sports Sci. 2017 Apr; 35 (8): 719–26.
3. Shirreffs SM. Hydration in sport and exercise: water, sports drinks and other drinks. Nutrition Bulletin. 2009 Dec; 34 (4): 374–9.
4. Campbell B, Wilborn C, La Bounty P, Taylor L, Nelson MT, Greenwood M, et al. International Society of Sports Nutrition position stand: energy drinks. J Int Soc Sports Nutr. 2013 Jan 3; 10 (1): 1. doi: 10.1186/1550-2783-10-1
5. Report of the Science Committee on Food on composition and specification of food intended to meet the expenditure of intense muscular effort, especially for sportsmen (Adopted by the SCF on 22/6/2000, corrected by the SCF on 28/2/2001) [Интернет]; [дата обращения: 6 ноября 2017 г.]: 50 с. Доступно по ссылке: https://www.mattilsynet.no/mat_og_vann/spesialmat_og_kosttilskudd/sportsprodukter/report_of_the_scientific_committee_on_food_on_composition_and_specification_of_food_intended_to_meet_the_ expenditure_of_ intense_muscular_effort_especially_for_sportsmen.2847/binary/Report%20of%20the%20Scientific%20Committee%20on%20Food%20on%20composition%20and%20specification%20of%20food%20intended%20to%20meet%20the%20expenditure%20of%20intense%20muscular%20effort,%20especially%20for%20sportsmen
6. Рылова Н. В. Безопасность питания спортсменов. Вестн. НЦБЖД. 2014; 19 (1): 51–6.
7. Casa DJ, Clarkson PM, Roberts WO. American College of

Sports Medicine Roundtable on Hydration and Physical Activity: Consensus Statements. Curr Sport Med Rep. 2005 Jun; 4 (3): 115–27.
8. Lopez RM, Casa DJ. Hydration for Athletes: What coaches can do to keep their athletes healthy and performing their best. Coaches' quarterly/Winter 2006 [Интернет]; [дата обращения: 6 ноября 2017 г.]: 3 с. Доступно по ссылке: https://www.wiaawi.org/Portals/0/PDF/Sports/Wrestling/hydration4athletes.pdf
9. American College of Sports Medicine, Sawka MN, Burke LM, Eichner ER, Maughan RJ, Montain SJ, et al. American College of Sports Medicine position stand. Exercise and fluid replacement. Med Sci Sports Exerc. 2007 Feb; 39 (2): 377–90.
10. Nutrition for football: A practical guide to eating and drinking for health and performance. Based on an International Consensus Conference held at the Home of FIFA in Zurich, Sep 2005, Updated Jan 2010 [Интернет]; [дата обращения: 6 ноября 2017 г.]: 33 с. Доступно по ссылке: http://resources.fifa.com/mm/document/footballdevelopment/medical/51/55/15/nutritionbooklet_neue2010.pdf
11. Position Statement and Recommendations for Maintaining Hydration to Optimize Performance and Minimize the Risk for Exertional Heat Illness [Интернет]. National Federation of State High School Associations (NFHS), Sports Medicine Advisory Committee (SMAC). Revised and Approved Oct 2014 [дата обращения: 6 ноября 2017 г.]: 4 с. Доступно по ссылке: http://www.montgomeryschoolsmd.org/uploadedFiles/departments/athletics/health/NFHS%20-%20Position%20Statement%20-%20Heat%20Illness.pdf
12. Sponsiello N, Rucci S, Buonocore D, Focarelli A, Doria E, Negro M, et al. Experimental evaluation of the hydration status during fitness training. Med sport. 2013; 66 (4): 531–44.
13. Курашвили В. А. Спортивные напитки помогают молодым спортсменам. Вестн. спорт. инноваций. 2010 ноябрь; (20): 20.
14. Sanz de la Garza M, Lopez A, Sitges M. Multiple pulmonary embolisms in a male marathon athlete: Is intense endurance exercise a real thrombogenic risk? Scand J Med Sci Sports. 2017 May; 27 (5): 563–6. doi: 10.1111/sms.12680
15. Am I Hydrated? Urine Color Chart [файл из интернета]. The University of West Alabama; Athletic Training & Sports Medicine Center; c2017 [дата обращения: 6 ноября 2017 г.]: 1 с. Доступно по ссылке: http://at.uwa.edu/admin/UM/urinecolorchart.doc
16. Burke LM. Fluids: Facts & Fads. Aspetar Sports Medicine Journal. 2012 Aug; 1 (2): 88–93.

References

1. Palmer MS, Heigenhauser GJ, Duong M, Spriet LL. Mild Dehydration Does Not Influence Performance or Skeletal Muscle Metabolism During Simulated Ice Hockey Exercise in Men. Int J Sport Nutr Exerc Metab. 2017 Apr; 27 (2): 169–77.
2. Zubac D, Antelj T, Olujic D, Ivancev V, Morrison SA. Fluid balance and hydration assessment during the weight-stable preparation phase in elite youth boxers. J Sports Sci. 2017 Apr; 35 (8): 719–26.
3. Shirreffs SM. Hydration in sport and exercise: water, sports drinks and other drinks. Nutrition Bulletin. 2009 Dec; 34 (4): 374–9.
4. Campbell B, Wilborn C, La Bounty P, Taylor L, Nelson MT, Greenwood M, et al. International Society of Sports Nutrition position stand: energy drinks. J Int Soc Sports Nutr. 2013 Jan 3; 10 (1): 1. doi: 10.1186/1550-2783-10-1
5. Report of the Science Committee on Food on composition and specification of food intended to meet the expenditure of intense muscular effort, especially for sportsmen (Adopted by the SCF on 22/6/2000, corrected by the SCF on 28/2/2001) [Internet]; [cited 2017 Nov 6]: 50 p. Available from: https://www.mattilsynet.no/mat_og_vann/spesialmat_og_kosttilskudd/sportsprodukter/report_of_the_scientific_committee_on_food_on_composition_and_specification_of_food_intended_to_meet_the_expenditure_of_intense_muscular_effort_especially_for_sportsmen.2847/binary/Report%20of%20the%20Scientific%20Committee%20on%20Food%20on%20composition%20and%20specification%20of%20food%20intended%20to%20meet%20the%20expenditure%20of%20intense%20muscular%20effort,%20especially%20for%20sportsmen
6. Rylova NV. [Food safety in sport]. Vestnik NTsBZhD. 2014; 19 (1): 51–6. Russian.
7. Casa DJ, Clarkson PM, Roberts WO. American College of Sports Medicine Roundtable on Hydration and Physical Activity: Consensus Statements. Curr Sport Med Rep. 2005 Jun; 4 (3): 115–27.
8. Lopez RM, Casa DJ. Hydration for Athletes: What coaches can do to keep their athletes healthy and performing their best. Coaches' quarterly/Winter 2006 [Internet]; [cited 2017 Nov 6]: 3 p. Available from: https://www.wiaawi.org/Portals/0/PDF/Sports/Wrestling/hydration4athletes.pdf
9. American College of Sports Medicine, Sawka MN, Burke LM, Eichner ER, Maughan RJ, Montain SJ, et al. American College of Sports Medicine position stand. Exercise and fluid replacement. Med Sci Sports Exerc. 2007 Feb; 39 (2): 377–90.
10. Nutrition for football: A practical guide to eating and drinking for health and performance. Based on an International Consensus Conference held at the Home of FIFA in Zurich, Sep 2005, Updated Jan 2010 [Internet]; [cited 2017 Nov 6]: 33 p. Available from: http://resources.fifa.com/mm/document/footballdevelopment/medical/51/55/15/nutritionbooklet_neue2010.pdf
11. Position Statement and Recommendations for Maintaining Hydration to Optimize Performance and Minimize the Risk for Exertional Heat Illness [Internet]. National Federation of State High School Associations (NFHS), Sports Medicine Advisory Committee (SMAC). Revised and Approved Oct 2014 [cited 2017 Nov 6]: 4 p. Available from: http://www.montgomeryschoolsmd.org/uploadedFiles/departments/athletics/health/NFHS%20-%20Position%20Statement%20-%20Heat%20Illness.pdf
12. Sponsiello N, Rucci S, Buonocore D, Focarelli A, Doria E, Negro M, et al. Experimental evaluation of the hydration status during fitness training. Med sport. 2013; 66 (4): 531–44.
13. Kurashvili VA. Sportivnye napitki pomogayut molodym sportsmenam. Vestnik sportivnykh innovatsiy. 2010 Nov; (20): 20. Russian.
14. Sanz de la Garza M, Lopez A, Sitges M. Multiple pulmonary embolisms in a male marathon athlete: Is intense endurance exercise a real thrombogenic risk? Scand J Med Sci Sports. 2017 May; 27 (5): 563–6. doi: 10.1111/sms.12680
15. Am I Hydrated? Urine Color Chart [file on the Internet]. The University of West Alabama; Athletic Training & Sports Medicine Center; c2017 [cited 2017 Nov 6]: 1 p. Available from: http://at.uwa.edu/admin/UM/urinecolorchart.doc
16. Burke LM. Fluids: Facts & Fads. Aspetar Sports Medicine Journal. 2012 Aug; 1 (2): 88–93.

БЕЗОПАСНЫЙ СПОРТ? РЕАЛИИ, ПОНЯТИЙНЫЕ И НОРМАТИВНЫЕ АСПЕКТЫ

М. Д. Дидур[1] ✉, И. Т. Выходец[2], Н. К. Хохлина[2], А. И. Журавлева[3], Б. А. Поляев[2]

[1] Институт мозга человека имени Н. П. Бехтеревой, Санкт-Петербург

[2] Кафедра медицинской реабилитации, факультет дополнительного профессионального образования, Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва

[3] Кафедра физической терапии, спортивной медицины и медицинской реабилитации, Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования, Москва

Словосочетание «безопасный спорт» противоречиво: победа в соревновании требует напряжения систем жизнеобеспечения организма, но такое напряжение опасно, поскольку неконтролируемо, недозируемо и потому непредсказуемо. Статистический учет спортивных травм позволяет оценивать действие различных факторов риска получения повреждения и принимать взвешенные и эффективные меры по управлению ими. Оценка смертности спортсменов помогает совершенствовать подходы к скринингу здоровья атлетов. Такие системы получения информации о травмах и гибели спортсменов существуют во многих развитых странах. В статье анализируется ситуация по проблеме, сложившаяся в России, и обосновывается необходимость создания национальный системы учета спортивного травматизма.

Ключевые слова: спорт, безопасность, травматизм, внезапная смерть, статистический учет, факторы риска

✉ **Для корреспонденции:** Дидур Михаил Дмитриевич
ул. Академика Павлова, д. 9, г. Санкт-Петербург, 177376; didour@mail.ru

Статья получена: 16.11.2017 **Статья принята к печати:** 05.12.2017

CAN SPORTS BE SAFE? REALITY, CONCEPTS AND REGULATIONS

Didur MD[1] ✉, Vykhodets IT[2], Khokhlina NK[2], Zhuravleva AI[3], Polyaev BA[2]

[1] N. P. Bekhtereva Institute of Human Brain, Saint Petersburg, Russia

[2] Department of Medical Rehabilitation, Faculty of Continuing Professional Education, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

[3] Department of Physiotherapy, Sports Medicine and Medical Rehabilitation, Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Moscow, Russia

A safe sport is a bit of an oxymoron: competition puts a severe strain on the vital systems of the organism that may be dangerous or uncontrollable, does not come in small doses and entails unpredictable results. Sports injury surveillance aims to estimate the impact of different factors that increase the risk of injuries and to elaborate wise and efficient measures to curb this risk. Accurate data on mortality rates in athletes help to improve approaches to health screening. Injury surveillance systems that also report injury-related deaths in athletes exist in many developed countries. This article talks about sports injuries in Russia and provides rationale for creating a nation-wide system of sports injury surveillance.

Keywords: sports, safety, injury, sudden death, statistics, risk factors

✉ **Correspondence should be addressed:** Mikhail Didur
ul. Akademika Pavlova, d. 9, Saint-Petersburg, Russia, 177376; didour@mail.ru

Received: 16.11.2017 **Accepted:** 05.12.2017

«Безопасный спорт» — термин, прочно вошедший в междисциплинарный профессиональный оборот и закрепленный в российском законодательстве, трактуемый, однако, по-разному в научной, медицинской и спортивной среде.

Федеральный закон № 329-ФЗ «О физической культуре и спорте в Российской Федерации» определяет спорт как сферу социально-культурной деятельности в виде совокупности видов спорта, сложившуюся в форме соревнований и специальной практики подготовки человека к ним [1]. Закон предписывает обеспечивать безопасность жизни и здоровья участников соревнований, причем не только усилиями организаторов, но и самих спортсменов: атлеты должны регулярно проходить медицинские осмотры и соблюдать медицинские требования во время выступлений [2, 3]. Здесь заложено неразрешимое противоречие между реально сложившейся практикой спорта и базовыми законами медицины [4]. Соревнования всегда требуют для победы максимально возможного напряжения систем жизнеобеспечения организма, причем такое напряжение является неконтролируемым, недозируемым и, следовательно, непредсказуемым по последствиям. Невозможно спрогнозировать число травмоопасных ситуаций в игровых и контактных видах спорта. Невозможно также предсказать исход соревнования и реакцию организма на предельную для индивидуума нагрузку в каждый конкретный момент времени.

Таким образом, законодательное требование об обеспечении безопасности жизни и здоровья спортсменов непременно нарушается. Не является ли в таком случае словосочетание «безопасный спорт» опасной иллюзией законодателя, не позволяющей профессионально реагировать на сопряженные со спортивным травматизмом проблемы?

На наш взгляд, понимание уровня и причин спортивного травматизма может быть основой для повышения безопасности соревнований и в целом занятий спортом.

Системный учет и анализ спортивных травм

Соревнования опасны всегда, и этот факт признан специалистами большинства ведущих спортивных держав, которые уже более 50 лет изучают факторы риска получения травмы, выделяя модифицируемые (управляемые) и немодифицируемые (неуправляемые) факторы, а также факторы, вообще не доступные точному прогнозированию [5, 6].

Спортивный травматизм составляет 2–5 % в структуре общего травматизма (бытового и др.). Чтобы при определении уровня травматизма в различных видах спорта нивелировать различия в числе занимающихся этими видами спорта, рассчитывают число травм на 1 000 занимающихся. Это так называемый интенсивный показатель травматичности, равный, например, в регби 188, а в бодибилдинге — 18 [7]. Также в зарубежных исследованиях определяют степень риска получения травмы расчетом количества травм на 1 000 тренировок или соревнований — спортивных событий (athlete-exposures). В США по этому показателю «лидируют» бокс (5,2) и регби (3,8). Цифры получили в рамках исследования 2003 г., проанализировав данные обследований 20,1 млн спортсменов за 2002 г. [7].

Спорт всеми зарубежными исследователями признается опасным видом деятельности, поэтому на профессиональном и государственном уровне предпринимаются усилия, чтобы управляемые факторы риска получения травмы были как можно более объективно определены и измерены, а влияние неуправляемых факторов — минимизировано. Например, в 2007 г. Национальная университетская спортивная ассоциация США (NCAA) представила данные о 182 000 повреждениях из более чем 1 млн спортивных отчетов за 16 лет (сезон 1988/1989 – сезон 2003/2004). NCAA собирает стандартизированные сведения о повреждениях, полученных спортсменами на университетских соревнованиях и тренировках, начиная с 1982 г. Установлено, что травм на соревнованиях получают статистически значимо больше (13,8 на 1 000 соревнований), чем на тренировках (4,0 на 1 000 тренировок) [7]. При этом более половины всех повреждений приходились на нижние конечности, а 15 % из них — на растяжения связок лодыжки.

Для анализа спортивного травматизма используют также отчетность медицинских учреждений. За 2001–2012 гг. в США в отделениях скорой помощи было зафиксировано 3,42 млн обращений по поводу травм головного мозга, связанных со спортивной деятельностью [8]. У мужчин обращаемость была почти в 2 раза выше, чем у женщин. Почти 70 % всех повреждений головного мозга, связанных со спортивной деятельностью, были зарегистрированы среди лиц в возрасте до 19 лет. Наибольшее количество травм среди мужчин произошло во время тренировок и соревнований по велоспорту, футболу и баскетболу. Среди женщин наибольшее количество травм произошло во время занятий велоспортом и игровыми видами спорта. При этом 89 % мужчин и 91 % женщин лечились и выписывались на амбулаторное лечение из отделений скорой помощи. В другом исследовании по результатам анализа посещений более чем 900 больниц США (примерно 30 млн человек в год) за 2010–2013 гг. было установлено, что число обращений по поводу травм глаз, полученных на соревнованиях, составило 120 847 [9]. Травмы чаще наблюдали у мужчин (81,3 %) в результате игры в баскетбол, бейсбол или софтбол.

Еще один источник данных — школьная отчетность. Анализ онлайн-отчетности средних школ США за 2005–2014 гг. выявил 59 862 случаев спортивных травм [10]. Большинство повреждений, повлекших за собой прекращение тренировок на длительный срок, произошло во время соревнований (60,4 %). Самый высокий коэффициент травматизма имел американский футбол (26,5 на 100 000 спортсменов), затем — спортивная гимнастика (18,6) и борьба (17,9). Контакт игрока в игровых видах спорта был самым распространенным механизмом травматизма (48,2 % случаев). Коленный сустав повреждался наиболее часто (33,7 % случаев).

Хороший статистический инструментарий позволяет проводить эффективный мониторинг ситуации со спортивным травматизмом и принимать адекватные управленческие и профессиональные решения. Приведенные положительные примеры системного учета и анализа спортивного травматизма в одной из ведущих спортивных держав мира — США — резко контрастируют с ситуацией в России. Форма 092-у «Извещение о спортивной травме» была отменена более 30 лет назад и с тех пор централизованный сбор статистики в области спортивного травматизма в нашей стране отсутствует.

Учет и профилактика внезапных смертей при занятиях спортом

Накопленные мировой статистикой данные о нескольких тысячах смертей в ходе спортивных мероприятий — убедительное доказательство неэффективности системы профилактики жизнеугрожающих состояний. Один из первых случаев внезапной смерти спортсменов относится к 1976 г.: два баскетболиста одного из американских колледжей умерли с интервалом в 8 недель. У одного из них был синдром Марфана, у другого — гипертрофическая кардиомиопатия. В последующие годы внезапная гибель известных спортсменов только повышала значимость проблемы: Пит Маравич, Реджи Льюис, Кори Стрингер, Джейсон Кольер, Томас Эррион. Профессиональный интерес к смертям среди спортсменов привел к улучшению понимания демографии, заболеваемости и причин этих смертей, которые включают множество генетически обусловленных сердечно-сосудистых заболеваний (чаще всего это гипертрофическая кардиомиопатия), тупые травмы или ушибы сердца и др. Были предприняты инициативы по созданию консенсусных руководящих принципов для допуска к занятиям спортом и предпрофессионального скрининга для выявления непредвиденных нарушений сердечной деятельности. Исследования в течение трех десятилетий позволили собрать обширные данные, но не разрешили всех противоречий в этой области [11].

Усилия по скринингу внезапной сердечной смерти были в первую очередь направлены на спортсменов моложе 35 лет, однако в последние годы внимание уделяется быстро растущей группе более возрастных спортсменов. Именно они имеют 10-кратный повышенный риск остановки сердца, связанной с физической нагрузкой, в основном из-за болезней коронарных артерий. Систематический анализ 1 737 исследований, содержащих данные об эффективности различных методов визуализации ишемической болезни сердца у спортсменов старше 35 лет, показал, что рутинные методы визуализации должны

дополняться для этой группы обследуемых КТ-ангиографией, эхокардиографией и магнитно-резонансной томографией, чтобы иметь возможность оценить уровень кальцификации артерий и перфузии миокарда [12].

Демографическое исследование эффективности введения скрининговых программ по профилактике внезапной смерти, выполненное в Венето (Италия) среди спортсменов и обычных людей в возрасте 12–35 лет, показало, что в период исследования 55 случаев кардио-васкулярной смерти были зафиксированы среди спортсменов, прошедших скрининг (1,9 случая на 100 000 человеко-лет), и 265 — среди не занимавшихся спортом и не обследовавшихся (0,79 случая на 100 000 человеко-лет). Ежегодная частота внезапной сердечно-сосудистой смерти у спортсменов снизилась на 89 %: с 3,6 в 1979–1980 гг. до 0,4 случая на 100 000 человеко-лет в 2003–2004 гг. ($p < 0,01$). Снижение смертности началось после того, как был осуществлен обязательный национальный скрининг спортсменов. В основном сокращение численности погибших атлетов было обусловлено меньшим количеством случаев внезапной смерти от кардиомиопатий. Это положительный пример профессионального подхода к выявлению жизнеугрожающих состояний у спортсменов и реального уменьшения числа случаев внезапной смерти.

За рубежом также создаются специальные базы данных всех смертей в рамках проведения мероприятий национальных атлетических ассоциаций [14]. Анализ данных таких баз позволяет оценивать смертность по конкретных причинам. Так, по базе данных смертей американской NCAA было установлено, что уровень внезапной сердечной смерти у спортсменов ассоциации высок, а мужчины, темнокожие спортсмены и баскетболисты имеют значительно более высокий риск смерти [14].

Управление показателями спортивного травматизма в России

С сожалением можно констатировать, что национальная система учета спортивных травм на уровне Министерства здравоохранения была утрачена почти 30 лет назад. Статистика, предоставляемая врачебно-физкультурными диспансерами и отделениями, разрознена, не охватывает все спортивные мероприятия и виды спорта, не систематизирована на общероссийском уровне и, следовательно, не отражает реального положения дел. Отсутствуют национальные регистры тяжелых травм и смертельных случаев, связанных со спортивной деятельностью. При этом, по официальным отчетам Министерства спорта России, число занимающихся спортом постоянно растет.

Отечественное здравоохранение предприняло ряд попыток организации государственного регулирования в области спорта для предотвращения внезапной сердечной смерти и других заболеваний у спортсменов. В соответствии с приказом Минздрава России [3] основанием для допуска лица к спортивным тренировкам и соревнованиям является наличие у него медицинского заключения о допуске к соответствующему виду спорта. Получение спортсменом такого допуска является обязательным условием его спортивной деятельности вне зависимости от вида спорта, спортивной дисциплины, подведомственности спортивной школы или клуба. В то же время объем и качество медицинского обследования недостаточны, а международные рекомендации по выполнению скрининга при допуске к соревнованиям пока не нашли отражения в отечественном законодательстве.

Изданные Минздравом России приказ имеет и достоинства: в нем впервые были утверждены рекомендуемые штатные нормативы медицинской бригады, количество выездных бригад скорой медицинской помощи и медицинских работников для обслуживания спортивных соревнований в зависимости от вида спорта и количества участников и зрителей с учетом дифференциации возможного уровня травматизма по видам спорта.

На наш взгляд, обязательно следует развивать систему учета спортивного травматизма на национальном уровне, перенимая лучший международный опыт.

ВЫВОДЫ

Спорт (его конкретные виды и дисциплины) должен оцениваться как опасный вид деятельности. Статистика наглядно демонстрирует, что в современном спорте всегда будут травмы и внезапные смерти, частота которых никогда не снизится ниже определенного уровня, т. к. точное прогнозирование реакций организма человека в условиях спортивной деятельности невозможно. Однако данные зарубежных исследований указывают на то, что профессиональные оценки реальных рисков травматизации и внезапной смерти, основанные на объективной статистике, позволяют принимать качественные решения по управлению ими. В России необходимо восстановить систему учета спортивных травм, утраченную несколько десятилетий назад.

Литература

1. Федеральный закон от 04.12.2007 № 329-ФЗ (ред. от 26.07.2017) «О физической культуре и спорте в Российской Федерации».
2. Постановление Правительства РФ от 18.04.2014 № 353 «Об утверждении Правил обеспечения безопасности при проведении официальных спортивных соревнований».
3. Приказ Минздрава России от 01.03.2016 № 134н «О Порядке организации оказания медицинской помощи лицам, занимающимся физической культурой и спортом (в том числе при подготовке и проведении физкультурных мероприятий и спортивных мероприятий), включая порядок медицинского осмотра лиц, желающих пройти спортивную подготовку, заниматься физической культурой и спортом в организациях и (или) выполнить нормативы испытаний (тестов) Всероссийского физкультурно-спортивного комплекса "Готов к труду и обороне"» (зарегистрирован в Минюсте России 21.06.2016, № 42578).
4. Бокерия О. Л., Испирян А. Ю. Внезапная сердечная смерть у спортсменов. Анналы аритмологии. 2013; 10 (1): 31–9. DOI: 10.15275/annaritmol. 2013.1.5.
5. Fuller CW, Ekstrand J, Junge A, Andersen TE, Bahr R, Dvorak J et al. Consensus statement on injury definitions and data collection procedures in studies of football (soccer) injuries. Br J Sports Med. 2006 Mar; 40 (3): 193–201. DOI: 10.1136/bjsm.2005.025270.
6. Fuller CW, Bahr R, Dick RW, Meeuwisse WH. A framework for recording recurrences, re-injuries and exacerbations in injury surveillance. Clin J Sport Med. 2007 May; 17 (3): 197–200. DOI: 10.1097/JSM.0b013e3180471b89.

7. Hootman JM, Dick R, Agel J. Epidemiology of Collegiate Injuries for 15 Sports: Summary and Recommendations for Injury Prevention Initiatives. J Athl Train. 2007 Apr-Jun; 42 (2): 311–9.
8. Coronado VG, Haileyesus T, Cheng TA, Bell JM, Haarbauer-Krupa J, Lionbarger MR et al. Trends in Sports- and Recreation-Related Traumatic Brain Injuries Treated in US Emergency Departments: The National Electronic Injury Surveillance System-All Injury Program (NEISS-AIP) 2001-2012. J Head Trauma Rehabil. 2015 May-Jun; 30 (3): 185–97. DOI: 10.1097/HTR.0000000000000156.
9. Haring RS, Sheffield ID, Canner JK, Schneider EB. Epidemiology of Sports-Related Eye Injuries in the United States. JAMA Ophthalmol. 2016 Dec 1; 134 (12): 1382–90. DOI: 10.1001/jamaophthalmol.2016.4253.
10. Tirabassi J, Brou L, Khodaee M, Lefort R, Fields SK, Comstock RD. Epidemiology of High School Sports-Related Injuries Resulting in Medical Disqualification: 2005-2006 Through 2013-2014 Academic Years. Am J Sports Med. 2016 Nov; 44 (11): 2925–32. DOI: 10.1177/0363546516644604.
11. Maron BJ. Historical Perspectives on Sudden Deaths in Young Athletes with Evolution over 35 Years. Am J Cardiol. 2015 Nov 1; 116 (9): 1461–8. DOI: 10.1016/j.amjcard.2015.07.072.
12. Braber TL, Reitsma JB, Mosterd A, Willemink MJ, Prakken NHJ, Halle M et al. Cardiac imaging to detect coronary artery disease in athletes aged 35 years and older. A scoping review. Scand J Med Sci Sports. 2017 Aug 23. DOI: 10.1111/sms.12974.
13. Corrado D, Basso C, Pavei A, Michieli P, Schiavon M, Thiene G. Trends in sudden cardiovascular death in young competitive athletes after implementation of a preparticipation screening program. JAMA. 2006 Oct 4. 296 (13): 1593–601. DOI: 10.1001/jama.296.13.1593.
14. Harmon KG, Asif IM, Maleszewski JJ, Owens DS, Prutkin JM, Salerno JC et al. Incidence, Cause, and Comparative Frequency of Sudden Cardiac Death in National Collegiate Athletic Association Athletes: A Decade in Review. Circulation. 2015 Jul 7; 132 (1): 10–9. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.115.015431.

References

1. Federal Law of 04.12.2007 no. 329-FZ (ed. of 26.07.2017) “O fizicheskoy kul'ture i sporte v Rossiyskoy Federatsii”. Russian.
2. Decree of the Government of the Russian Federation of 18.04.2014 no. 353 “Ob utverzhdenii Pravil obespecheniya bezopasnosti pri provedenii ofitsial'nykh sportivnykh sorevnovaniy”. Russian.
3. Order of the Russian Ministry of Health of 01.03.2016no. 134n “O Poryadke organizatsii okazaniya meditsinskoy pomoshchi litsam, zanimayushchimsya fizicheskoy kul'turoy i sportom (v tom chisle pri podgotovke i provedenii fizkul'turnykh meropriyatiy i sportivnykh meropriyatiy), vklyuchaya poryadok meditsinskogo osmotra lits, zhelayushchikh proyti sportivnuyu podgotovku, zanimat'sya fizicheskoy kul'turoy i sportom v organizatsiyakh i (ili) vypolnit' normativy ispytaniy (testov) Vserossiyskogo fizkul'turno-sportivnogo kompleksa "Gotov k trudu i oborone"” (registered in the Russian Ministry of Justice at 21.06.2016, no. 42578). Russian.
4. Bockeriya OL, Ispiryan AYu. [Sudden cardiac death in athletes]. Annaly aritmologii. 2013; 10 (1): 31–9. DOI: 10.15275/annaritmol.2013.1.5. Russian.
5. Fuller CW, Ekstrand J, Junge A, Andersen TE, Bahr R, Dvorak J et al. Consensus statement on injury definitions and data collection procedures in studies of football (soccer) injuries. Br J Sports Med. 2006 Mar; 40 (3): 193–201. DOI: 10.1136/bjsm.2005.025270.
6. Fuller CW, Bahr R, Dick RW, Meeuwisse WH. A framework for recording recurrences, re-injuries and exacerbations in injury surveillance. Clin J Sport Med. 2007 May; 17 (3): 197–200. DOI: 10.1097/JSM.0b013e3180471b89.
7. Hootman JM, Dick R, Agel J. Epidemiology of Collegiate Injuries for 15 Sports: Summary and Recommendations for Injury Prevention Initiatives. J Athl Train. 2007 Apr-Jun; 42 (2): 311–9.
8. Coronado VG, Haileyesus T, Cheng TA, Bell JM, Haarbauer-Krupa J, Lionbarger MR et al. Trends in Sports- and Recreation-Related Traumatic Brain Injuries Treated in US Emergency Departments: The National Electronic Injury Surveillance System-All Injury Program (NEISS-AIP) 2001-2012. J Head Trauma Rehabil. 2015 May-Jun; 30 (3): 185–97. DOI: 10.1097/HTR.0000000000000156.
9. Haring RS, Sheffield ID, Canner JK, Schneider EB. Epidemiology of Sports-Related Eye Injuries in the United States. JAMA Ophthalmol. 2016 Dec 1; 134 (12): 1382–90. DOI: 10.1001/jamaophthalmol.2016.4253.
10. Tirabassi J, Brou L, Khodaee M, Lefort R, Fields SK, Comstock RD. Epidemiology of High School Sports-Related Injuries Resulting in Medical Disqualification: 2005-2006 Through 2013-2014 Academic Years. Am J Sports Med. 2016 Nov; 44 (11): 2925–32. DOI: 10.1177/0363546516644604.
11. Maron BJ. Historical Perspectives on Sudden Deaths in Young Athletes with Evolution over 35 Years. Am J Cardiol. 2015 Nov 1; 116 (9): 1461–8. DOI: 10.1016/j.amjcard.2015.07.072.
12. Braber TL, Reitsma JB, Mosterd A, Willemink MJ, Prakken NHJ, Halle M et al. Cardiac imaging to detect coronary artery disease in athletes aged 35 years and older. A scoping review. Scand J Med Sci Sports. 2017 Aug 23. DOI: 10.1111/sms.12974.
13. Corrado D, Basso C, Pavei A, Michieli P, Schiavon M, Thiene G. Trends in sudden cardiovascular death in young competitive athletes after implementation of a preparticipation screening program. JAMA. 2006 Oct 4. 296 (13): 1593–601. DOI: 10.1001/jama.296.13.1593.
14. Harmon KG, Asif IM, Maleszewski JJ, Owens DS, Prutkin JM, Salerno JC et al. Incidence, Cause, and Comparative Frequency of Sudden Cardiac Death in National Collegiate Athletic Association Athletes: A Decade in Review. Circulation. 2015 Jul 7; 132 (1): 10–9. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.115.015431.

НЕМЕДИКАМЕНТОЗНЫЕ СПОСОБЫ ЛЕЧЕНИЯ ГОЛОВНЫХ БОЛЕЙ НАПРЯЖЕНИЯ У ДЕТЕЙ ШКОЛЬНОГО ВОЗРАСТА

В. В. Полунина[1]✉, Е. Ю. Сергеенко[1], О. В. Ярустовская[2], В. С. Полунин[1]

[1] Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва

[2] Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования, Москва

Головная боль очень распространена среди современных детей и подростков. Целью исследования являлось изучение эффективности рефлексотерапии, кинезиотейпирования и точечного массажа миофасциальных триггерных точек в лечении головных болей напряжения у детей в сравнении с медикаментозной терапией. В исследовании приняли участие 37 детей (19 мальчиков и 18 девочек) в возрасте 9–14 лет. В основной группе (n = 25) лечение включало 2 курса рефлексотерапии с перерывом между ними в 1 мес., кинезиотейпирование и точечный массаж, которому в том числе были обучены пациенты и их родители; в контрольной (n = 12) — получение ибупрофена (суточная доза — не более 30 мг/кг) и мидокалма (суточная доза — 2–4 мг/кг). Общая продолжительность лечения в обеих группах составила 4 мес. Эффективность лечения оценивали по динамике жалоб на головную боль с использованием визуальной аналоговой шкалы боли и степени влияния головной боли на повседневную активность детей с помощью методики HIT-6. В контрольной группе частота эпизодов головной боли за месяц и средняя продолжительность приступа в среднем уменьшились после лечения в 1,2 раза, а в основной группе частота эпизодов головной боли за месяц уменьшилась в 2,5 раза и средняя продолжительность приступа — в 2 раза. При этом обычная интенсивность головной боли в контрольной группе практически не изменилась, а в основной — уменьшилась в 1,5 раза ($p < 0,05$). В контрольной группе количество пациентов с сильным влиянием головной боли на повседневную активность уменьшилось после лечения в 1,2 раза, в основной же группе таких пациентов вообще не осталось, а количество пациентов с незначительным влиянием головной боли на повседневную активность увеличилось в 4,7 раза — с 12 до 56 %. Полученные результаты показывают, что немедикаментозное лечение головных болей напряжения у детей эффективнее медикаментозного, при этом важно, что дети не подвергаются негативным эффектам от употребления анальгетиков и миорелаксантов.

Ключевые слова: дети, головная боль напряжения, рефлексотерапия, кинезиотейпирование, немедикаментозное лечение

✉ **Для корреспонденции:** Полунина Виктория Валерьевна
ул. Островитянова, д. 1, г. Москва, 117997; vikt025@gmail.com

Статья получена: 03.11.2017 **Статья принята к печати:** 25.11.2017

DRUG-FREE TREATMENTS OF TENSION HEADACHES IN SCHOOL-AGE CHILDREN

Polunina VV[1] ✉, Sergeenko EYu[1], Yarustovskaya OV[2], Polunin VS[1]

[1] Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

[2] Russian Medical Academy of Continuous Professional Education, Moscow, Russia

Nowadays headaches are common among teenagers and children. This study aimed to assess effectiveness of reflexology, kinesiology taping and myofascial trigger point therapy in children with tension headaches and to compare these treatments with traditional drug-based modalities. The study recruited 37 children (19 boys and 18 girls) aged 9 to 14 years. The main group (n = 25) received 2 series of reflexology treatments separated by a month interval, kinesiology taping and trigger point massage, which was also taught to the patients and their parents. The control group (n = 12) received Ibuprofen and Mydocalm (the daily doses did not exceed 30 mg/kg and 2–4 mg/kg, respectively). Treatment duration in both groups was 4 months. Treatment effectiveness was assessed based on the evolution of patients' complaints and the impact of headache on children's daily activities, using the visual analog pain scale and the HIT-6 method, respectively. Within a month, headaches became 1.2 times less frequent and the attacks became 1.2 times shorter in the control group, while in the main group headaches became 2.5 times less frequent and the attacks became twice as short as they had been before Headache intensity did not change significantly in the control group, while in the main group it decreased 1.5 times ($p < 0.05$). The number of controls who experienced a severe impact of headache on their daily activities decreased 1.2 times after the treatment, while the main group reported no such impact at all. In the main group the number of patients who experienced only a slight impact of headaches on their daily activities increased 4.7 times, from 12 % to 56 %. Our findings demonstrate that drug-free treatments for tension headaches are more effective than drug-based regimens. Moreover, children benefit from drug-free regimens as they are not exposed to the negative effects of analgesics and muscle relaxants.

Keywords: children, tension headache, kinesiology taping, reflexology, drug-free treatment

✉ **Correspondence should be addressed:** Viktoria Polunina
ul. Ostrovityanova, d. 1, Moscow, Russia, 117997; vikt025@gmail.com

Received: 03.11.2017 **Accepted:** 25.11.2017

Распространенность головных болей среди школьников, по данным разных авторов, составляет от 25 до 80 % [1–4]. У детей головные боли часто сочетаются с дефицитом внимания и гиперактивностью. При этом головные боли напряжения, т. е. повторяющиеся двусторонние головные боли сжимающего, давящего или ноющего характера, которые имеют значительную продолжительность, встречаются у 18–25 % детей и подростков [5–8], что составляет примерно 2/3 случаев всех головных болей [9].

Особенностью патогенеза головных болей напряжения у детей и подростков является незрелость механизмов психологической защиты. Факторами возникновения головных болей напряжения у детей могут быть физическое и психическое переутомление, депривация сна, зрительное перенапряжение, проблемы в детском коллективе [1]. Кроме того, некоторые исследователи [10–12] обращают внимание на высокую частоту среди детей с головными болями напряжения церебрастенических нарушений, в том числе дефицита внимания, снижения памяти, повышенной раздражительности, готовности к аффективным вспышкам. Причинами этих нарушений могут быть последствия перинатальных повреждений ЦНС, перенесенные соматические заболевания, черепно-мозговые травмы, нейроинфекции.

При головной боли отмечаются симптомы вегетативной дисфункции [13–15]. Своевременное выявление вегетативных нарушений позволяет эффективно корректировать клинические проявления патологии, повышая качество жизни пациентов [15]. Особое значение имеет выявление вегетативного дисбаланса у детей и подростков, поскольку именно в раннем возрасте происходит созревание сегментарных и надсегментарных структур головного мозга, которые оказывают влияние на формирование болевых синдромов, в том числе и цефалгий.

Большую роль в появлении головных болей напряжения играют триггерные точки, расположенные главным образом в области верхнего плечевого пояса и шеи. Триггерная точка — это скопление электрически активных участков мышечных волокон, связанных с сократившимся нервным окончанием двигательного нерва в скелетной мышце. Постоянное напряжение в волокнах самой триггерной точки нарушает кровообращение в этих участках мышцы, там накапливаются продукты метаболизма, тем самым создаются условия для длительного существования точек, которые могут способствовать появлению отраженных головных болей различной локализации. Массаж и, главное, самомассаж триггерных точек позволяет уменьшить головную боль. Это происходит за счет разрыва химической и нейрологической петли обратной связи, которая поддерживает сокращение мышцы, а также за счет улучшения местного кровотока и непосредственного распрямления мышечного волокна [16, 17].

Использование рефлексотерапии при головной боли известно уже давно [18, 19]. Существуют акупунктурные точки, воздействуя на которые можно уменьшить головную боль. Комплексное использование иглоукалывания и точечного массажа триггерных точек позволяет получить длительное избавление от головной боли.

Кинезиотейпирование — это один из способов купирования болевого синдрома, который был предложен в 1973 г. японским мануальным терапевтом Кензо Касе. Эта методика эффективна в реабилитации и используется на протяжении более 30 лет во всем мире. Кинезиотейпы представляют собой эластичные ленты, изготовленные из высококачественного хлопка и покрытые гипоаллергенным клеящим гелем на акриловой основе, который активируется при температуре тела. Эластические свойства тейпов приближены к эластическим параметрам кожи. Хлопковая основа не препятствует дыханию кожи и испарению с ее поверхности. Эти свойства позволяют оставлять тейпы наклеенными на кожу в течение 5–7 суток, не исключая ежедневные водные гигиенические процедуры. Клинические исследования показали, что в основе механизма действия кинезиотейпирования лежит нормализация микроциркуляции в соединительной ткани кожи и подкожной жировой клетчатке, уменьшение болевого синдрома, восстановление функциональной активности мышц, оптимизация афферентной импульсации на сегментарном уровне [20]. В зависимости от способа наложения тейпа можно получить расслабление или напряжение мышцы, уменьшение напряжения фасций, отечности тканей, рассасывание гематом. Использование различных методов кинезиотейпирования при воздействии на триггерные точки и зоны позволяет закрепить эффект рефлексотерапии и точечного массажа.

Целью нашего исследования было изучение эффективности немедикаментозных методов лечения головных болей напряжения у детей, включавших рефлексотерапию и кинезиотейпирование.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводили на базе Отделения восстановительного лечения Детской городской поликлиники № 39 (Москва). Под нашим наблюдением находились 37 детей в возрасте 9–14 лет (19 мальчиков и 17 девочек) с длительностью головных болей напряжения от 6 до 18 месяцев от момента их появления. Средний возраст детей составил 11,2 ± 1,6 года. Критерием включения являлось наличие у ребенка частых эпизодических головных болей напряжения: не реже 1 раза в месяц, но не чаще 15 раз в месяц — а также активных миофасциальных триггерных точек. В исследование не включали детей с другими видами головных болей и другого возраста.

В амбулаторных условиях все дети посетили невролога, окулиста, психолога, рефлексотерапевта; им была выполнена ультразвуковая допплерография сосудов головного мозга, общий анализ крови, контроль артериального давления; была произведена оценка состояния мышц шеи и надплечий, спины и верхних конечностей; было проведено анкетирование родителей и детей, исследованы дневники самочувствия. Затем детей рандомизированно разделили на две группы, лечение в которых различалось.

В основнную группу включили 25 детей (13 мальчиков и 12 девочек), которые находились под наблюдением невролога в течение 4 мес., получили 2 курса рефлексотерапии с кинезиотейпированием и были обучены точечному массажу миофасциальных триггерных точек. В контрольную группу включили 12 детей (7 мальчиков и 5 девочек), которые находились под наблюдением невролога также в течение 4 мес. с момента обращения за медицинской помощью и получили лекарственную терапию — анальгетики и миорелаксанты: ибупрофен (суточная доза — не более 30 мг/кг) и мидокалм (суточная доза — 2–4 мг/кг).

До начала терапии пациенты в течение 1–2 мес. совместно с родителями вели дневники самочувствия, в которых отмечали даты появления головных болей, их интенсивность и длительность, а также влияние на общее самочувствие и повседневную активность. Впоследствии

на основе записей мы определяли интенсивность болей по визуальной аналоговой шкале (ВАШ): 0 баллов — «боли нет», 10 баллов — «боль невыносима». Для оценки влияния головной боли на повседневную активность использовали методику HIT-6 [21].

Пациентам второй группы провели 2 двухнедельных курса рефлексотерапии: 10–12 процедур за курс длительностью 10–15 мин каждая (продолжительность процедуры зависела от возраста ребенка), ежедневно с перерывом на выходные. Повторный курс проводили через 1 мес. Рефлексотерапия включала поверхностную иглотерапию с помощью массажного валика, корпоральную и аурикулярную иглотерапию, точечный массаж. За один сеанс использовали 5–7 корпоральных и 2–3 аурикулярных точки. Точки выбирали с учетом жалоб пациентов и по результатам их осмотра.

После сеанса рефлексотерапии проводили кинезиотейпирование трапециевидной и задних мышц шеи с целью их расслабления. Использовали аппликации с полосками без натяжения в виде «китайского фонарика» — на трапециевидные мышцы и Y-образные полоски — на задние мышцы шеи.

Корме того, проводили точечный массаж активных триггерных точек, расположенных в области трапециевидной, грудинно-ключично-сосцевидной, ременной, надостной и перикраниальных мышц. Пациенты и их родители были обучены точечному массажу. Им была дана рекомендация выполнять массаж минимум дважды в день, утром и вечером, уделяя по 1 мин каждой точке, а также всякий раз после длительного нахождения в неудобных позах.

Статистическую обработку данных проводили в MS Excel-2007. Рассчитывали среднее значение и среднеквадратичное отклонение для каждого изучаемого параметра, для оценки достоверности различий использовали t-критерий Стьюдента.

Исследование было одобрено этическим комитетом Детской городской поликлиники № 39 (протокол № 1 от 21.03.2016). Родители пациентов дали письменное информированное согласие на участие детей в исследовании.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценку эффективности лечения проводили путем анализа динамики жалоб пациентов, интенсивности проявления симптомов головной боли по результатам осмотра, опроса и тестирования. Данные оценивали до лечения и после его окончания через 4 мес.

В таблице представлена характеристика головной боли в группах наблюдения. В контрольной группе детей, где использовали только медикаментозное лечение, частота эпизодов головной боли за месяц и средняя продолжительность приступа в среднем уменьшились в 1,2 раза, но различия были недостоверны, а в основной группе, где использовалось немедикаментозное лечение, частота эпизодов головной боли за месяц уменьшилась в 2,5 раза и средняя продолжительность приступа — в 2 раза ($p < 0,05$). При этом обычная интенсивность головной боли в контрольной группе практически не изменилась, а в основной — уменьшилась в 1,5 раза ($p < 0,05$). Ту же закономерность наблюдали для показателя влияния головной боли на повседневную активность пациентов. Таким образом, использование рефлексотерапии и кинезиотейпирование достоверно лучше способствует снижению интенсивности проявления симптомов головной боли.

Большое значение имеет влияние головной боли на повседневную жизнь пациентов. Оценку этого фактора проводили с помощью методики HIT-6, на рис. 1 и 2 представлены результаты. В контрольной группе количество пациентов с сильным влиянием головной боли на повседневную активность уменьшилось после лечения в 1,2 раза, появились пациенты (8,4 %), на активность которых головная боль оказывала незначительное влияние, но различия были недостоверными. В основной группе после терапии не осталось пациентов, на жизнь которых головная боль влияла бы сильно, а количество пациентов с незначительным влиянием головной боли на повседневную активность увеличилось в 4,7 раза ($p < 0,05$).

Пациенты с головной болью напряжения жаловались также на снижение внимания и памяти и быструю утомляемость. На рис. 3 показано, что в основной группе после терапии частота жалоб на перечисленные симптомы уменьшалась значительнее, чем в контрольной.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Головные боли напряжения относятся к первичным головным болям и являются наиболее частым типом головных болей у детей и подростков [1, 9]. Полученные нами результаты свидетельствуют об эффективности использования рефлексотерапии в сочетании с кинезиотейпированием при лечении головных болей напряжения с миофасциальным синдромом у детей. Следует отметить, что рефлексотерапия обычно хорошо ими переносится, не имеет побочных эффектов. Большое значение при работе с детьми имеет использование направителя при введении акупунктурных игл — это позволяет уменьшить неприятные болевые ощущения. Важной также является психологическая подготовка маленьких пациентов к проведению сеанса иглоукалывания, использование в процессе спокойной музыки. Обучение родителей и детей массажу миофасциальных триггерных точек и его регулярное применение позволило успешно купировать головную боль и предотвращать ее приступы.

В работах [22–24] с участием взрослых пациентов также была показана обоснованность использования

Характеристика симптомов головной боли напряжения у пациентов в группах наблюдения до и после лечения

Характеристика головной боли	Основная группа		Контрольная группа	
	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения
Частота, среднее число эпизодов за мес.	12,9 ± 2,6	5,1 ± 1,2*,#	12,3 ± 2,1	10,1 ± 1,9#
Средняя продолжительность за мес., ч	4,9 ± 1,4	2,4 ± 0,6*	5,2 ± 1,3	4,3 ± 0,9
Обычная интенсивность за мес., баллы по ВАШ	6,2 ± 1,1	4,1 ± 0,9*	6,1 ± 1,1	5,6 ± 1,4
Влияние головной боли на повседневную активность, баллы по HIT-6	53,5 ± 3,1	45,3 ± 2,7*	52,3 ± 4,9	49,5 ± 6,1

Примечание. * — $p < 0,05$ при сравнении результатов до и после лечения внутри группы, # — $p < 0,05$ при сравнении результатов после лечения между группами.

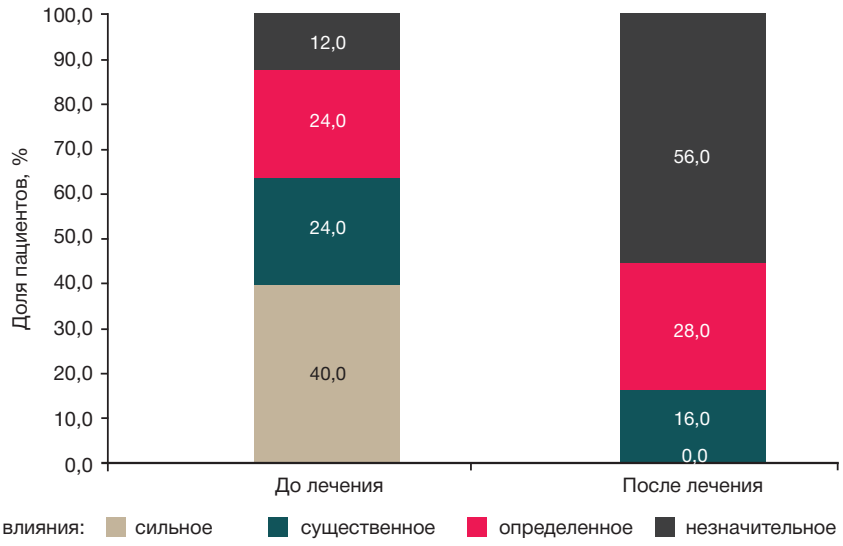


Рис. 1. Распределение пациентов, получавших немедикаментозное лечение, внутри группы в зависимости от степени влияния головной боли на их повседневную активность до и после терапии ($p < 0,05$)

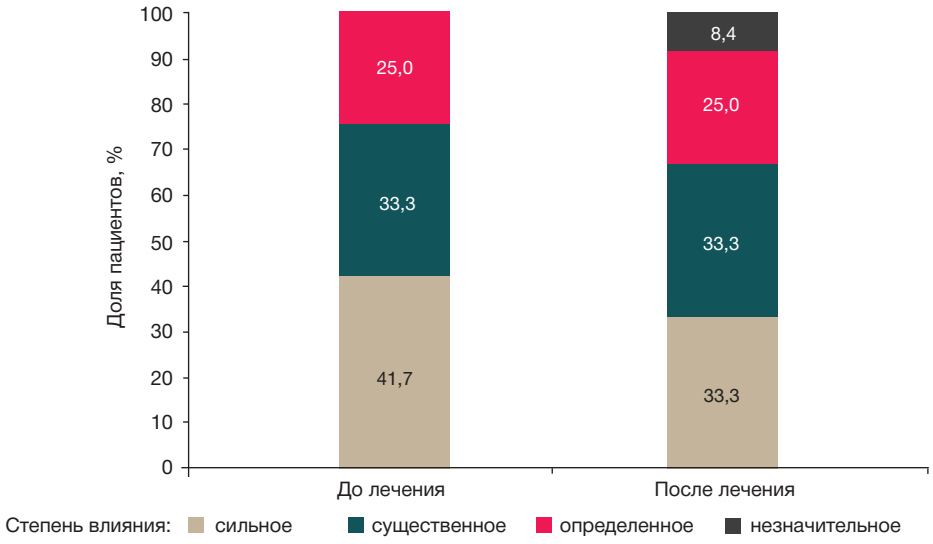


Рис. 2. Распределение пациентов, получавших медикаментозное лечение (анальгетик и миорелаксант), внутри группы в зависимости от степени влияния головной боли на их повседневную активность до и после терапии ($p > 0,05$)

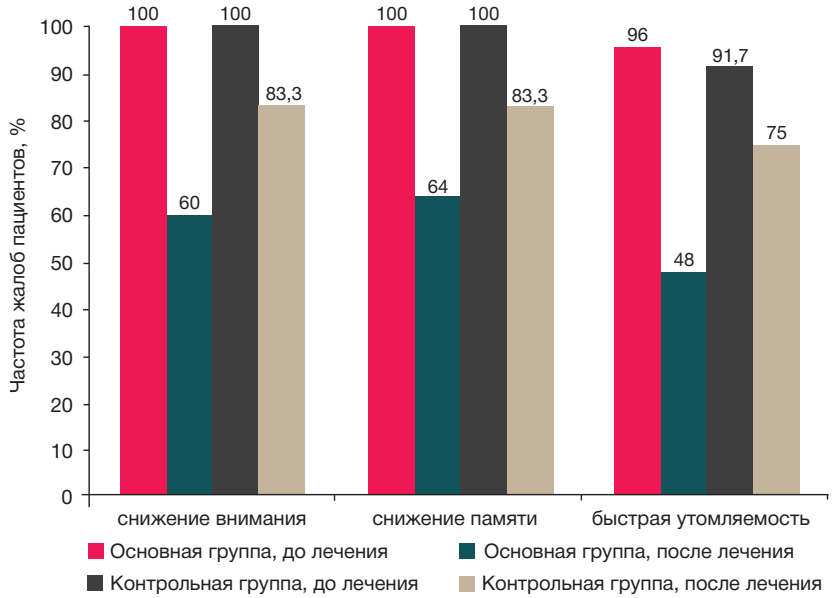


Рис. 3. Частота жалоб на сниженное внимание и память и быструю утомляемость среди пациентов с головной болью напряжения до и после лечения в пересчете на 100 обследованных ($p < 0,05$)

рефлексотерапии в лечении головных болей, в том числе вследствие снижения употребления анальгетиков и миорелаксантов. Отмечался более выраженный терапевтический эффект рефлексотерапии в сравнении с медикаментозным лечением.

Также важно отметить, что в лечении головных болей напряжения у детей и подростков большое значение имеют создание благоприятной психологической атмосферы в семье и школе, обеспечение достаточного по продолжительности сна, отдыха, правильного режима дня и питания, адекватная физическая и умственная нагрузка, дозированное использование компьютера и общения в социальных сетях, т. е. успех терапии в значительной мере зависит от соблюдения лечебно-охранительного режима пациентами.

ВЫВОДЫ

Применение различных методик рефлексотерапии в сочетании с кинезиотейпированием у детей позволяет не только уменьшить частоту головных болей, их продолжительность и интенсивность, но и устранить сопутствующие симптомы, такие как дефицит внимания и памяти, быстрая утомляемость, причем терапевтический эффект достоверно, нежели при применении анальгетиков и миорелаксантов.

Литература

1. Заваденко Н. Н., Нестеровский Ю. Е., Хондкарян Г. Ш., Шипилова Е. М., Холин А. А. Первичные головные боли у детей и подростков. М.: РНИМУ им. Н. И. Пирогова; 2015. 96 с.
2. Hershey AD, Powers SW, Vockell A-LB0, LeCates S, Kabbouche MA, Maynard MK. PedMIDAS: Development of a questionnaire to assess disability of migraines in children. Neurology 2001 Dec 11; 57 (11): 2034–9.
3. Bugdayci R, Ozge A, Sasmaz T, Kurt AO, Kaleagasi H, Karakelle A et al. Prevalence and factors affecting headache in Turkish schoolchildren. Pediatr Int. 2005 Jun; 47 (3): 316–22. DOI: 10.1111/j.1442-200x.2005.02051.x.
4. Carlsson J. Prevalence of headache in schoolchildren: relation to family and school factor. Acta Paediatr. 1996 Jun; 85 (6): 692–6.
5. Abu-Arafeh I, Razak S, Sivaraman B, Graham C. Prevalence of headache and migraine in children and adolescents: a systematic review of population-based studies. Dev Med Child Neurol. 2010 Dec; 52 (12): 1088–97. DOI: 10.1111/j.1469-8749.20120.03793.x.
6. Bonfert M, Straube A, Schroeder AS, Reilich P, Ebinger F, Heinen F. Primary Headache in Children and Adolescents: Update on Pharmacotherapy of Migraine and Tension-Type Headache. Neuropediatrics. 2013 Feb; 44 (1): 3–19. DOI: 10.1055/s-0032-1330856.
7. Kroner-Herwig B, Heinrich M, Morris L. Headache in German children and adolescents: a population-based epidemiological study. Cephalalgia. 2007 Jun; 27 (6): 519–27. DOI: 10.1111/j.1468-2982.2007.01319.x.
8. Rho YI, Chung HJ, Lee KH, Eun BL, Eun SH, Nam SO et al. Prevalence and clinical characteristics of primary headaches among school children in South Korea: a nationwide survey. Headache. 2012 Apr; 52 (4): 592–9. DOI: 10.1111/j.1526-4610.2011.02001.x.
9. Будчанова Н. Ю., Делягин В. М., Хондкарян Г. Ш. Распространенность и особенности клинических проявлений первичных головных болей у школьников. Педиатрия. 2008; 87 (5): 138–40.
10. Чутко Л. С., Сурушкина С. Ю., Рожкова А. В., Яковенко Е. А., Быкова Ю. Л., Никишена И. С. Астенические расстройства и когнитивные нарушения у пациентов с головной болью напряжения. Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. 2013; 113 (5): 31–5.
11. Измайлова И. Г. Головная боль напряжения и мигрень в детском возрасте. Астрахань: Изд-во Астраханской государственной медицинской академии; 2011. 199 с.
12. Шипилова Е. М., Заваденко Н. Н., Нестеровский Ю. Е. Возможности профилактической терапии при головной боли напряжения у детей и подростков Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. 2016; 116 (4): 31–6. DOI: 10.17116/jnevro20161163231-36.
13. Вейн А. М. Вегетативные расстройства. Клиника, диагностика, лечение. М.: МИА; 2003. 752 с.
14. Кравцова Е. Ю., Семенова Е. В. Эмоциональные и вегетативные расстройства у подростков с головной болью. Уральский медицинский журнал. 2015; 2 (125): 29–33.
15. Семенова Е. В. Вегетативные расстройства у подростков с головными болями. Пермский медицинский журнал. 2016; XXXIII (2): 23–9.
16. Симонс Д. Г., Трэвелл Ж. Г., Симонс Л. С. Миофасциальные боли и дисфункции: Руководство по триггерным точкам. 2-е изд. Т. 1. М.: Медицина; 2005. 1192 с.
17. Дэвис К. Триггерные точки: безлекарственная помощь при хронической боли. М.: Эксмо; 2008. 336 с.
18. Лувсан Г. Традиционные и современные аспекты восточной медицины. М.: Московские учебники и картолитография; 2000. 400 с.
19. Табеева Д. М. Руководство по иглорефлексотерапии. М.: Медицина, 1980. 560 с.
20. Крючок В. Г., Сиваков А. П., Василевский С. С., Можейко Л. Ф., Забаровский В. К., Загородный Г. М. и др. Применение оригинального кинезиотейпирования при травмах и заболеваниях. Инструкция по применению. Республика Беларусь, Минск: 2010. 25 с.
21. Kosinsky M, Bayliss MS, Bjorner JB, Ware JrJE, Garber WH, Batenhorst A et al. A six-item short-form survey for measuring headache impact: The HIT-6TM. Quality of Life Research. 2003;12: 963–74.
22. Якупов Р. А., Якупова А. А. Этапная рефлексотерапия хронической головной боли напряжения. Достижения науки и образования. 2016. 6 (7): 67–70.
23. Сафонов М. И., Априенко М. В. Рефлексотерапевтические методы в лечении хронической мигрени. Вестник новых медицинских технологий. 2014; (1): 9–17. DOI: 10.12737/7344.
24. Медведева Л. А., Авакян Г. Н., Загорулько О. И., Гнездилов А. В. Применение блокад и рефлексотерапии в комплексном лечении головных болей напряжения. Журнал неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. 2010; (2): 29–32.

References

1. Zavadenko NN, Nesterovsky YuE, Hondkaryan GSh, Shipilova EM, Holin AA. Pervichnye golovnye boli u detey i podrostkov. Moscow: RNIMU im. N. I. Pirogova; 2015. 96 p. Russian.
2. Hershey AD, Powers SW, Vockell A-LB0, LeCates S, Kabbouche MA, Maynard MK. PedMIDAS: Development of a questionnaire to assess disability of migraines in children. Neurology 2001 Dec 11; 57 (11): 2034–9.

3. Bugdayci R, Ozge A, Sasmaz T, Kurt AO, Kaleagasi H, Karakelle A et al. Prevalence and factors affecting headache in Turkish schoolchildren. Pediatr Int. 2005 Jun; 47 (3): 316–22. DOI: 10.1111/j.1442-200x.2005.02051.x.
4. Carlsson J. Prevalence of headache in schoolchildren: relation to family and school factor. Acta Paediatr. 1996 Jun; 85 (6): 692–6.
5. Abu-Arafeh I, Razak S, Sivaraman B, Graham C. Prevalence of headache and migraine in children and adolescents: a systematic review of population-based studies. Dev Med Child Neurol. 2010 Dec; 52 (12): 1088–97. DOI: 10.1111/j.1469-8749.20120.03793.x.
6. Bonfert M, Straube A, Schroeder AS, Reilich P, Ebinger F, Heinen F. Primary Headache in Children and Adolescents: Update on Pharmacotherapy of Migraine and Tension-Type Headache. Neuropediatrics. 2013 Feb; 44 (1): 3–19. DOI: 10.1055/s-0032-1330856.
7. Kroner-Herwig B, Heinrich M, Morris L. Headache in German children and adolescents: a population-based epidemiological study. Cephalalgia. 2007 Jun; 27 (6): 519–27. DOI: 10.1111/j.1468-2982.2007.01319.x.
8. Rho YI, Chung HJ, Lee KH, Eun BL, Eun SH, Nam SO et al. Prevalence and clinical characteristics of primary headaches among school children in South Korea: a nationwide survey. Headache. 2012 Apr; 52 (4): 592–9. DOI: 10.1111/j.1526-4610.2011.02001.x.
9. Budchanova NYu, Delyagin VM, Khondkaryan GSh. Rasprostranennost' i osobennosti klinicheskikh proyavleniy pervichnykh golovnykh boley u shkol'nikov. Pediatriya. 2008; 87 (5): 138–40. Russian.
10. Chutko LS, Surushkina SYu, Rozhkova AV, Yakovenko EA, Bykova YuL, Nikishena IS. [Asthenic disorders and cognitive impairment in patients with tension headache]. Zhurnal nevrologii i psikhiatrii im. S. S. Korsakova. 2013; 113 (5): 31–5. Russian.
11. Izmaylova IG. Golovnaya bol' napryazheniya i migren' v detskom vozraste. Astrakhan': Izd-vo Astrakhanskoy gosudarstvennoy meditsinskoy akademii; 2011. 199 p. Russian.
12. Shipilova EM, Zavadenko NN, Nesterovskiy YuE. [Possibilities of preventive treatment of tension-type headache in children and adolescents]. Zhurnal nevrologii i psikhiatrii im. S. S. Korsakova. 2016; 116 (4): 31–6. DOI: 10.17116/jnevro20161163231-36. Russian.
13. Veyn AM. Vegetativnye rasstroystva. Klinika, diagnostika, lechenie. Moscow: MIA; 2003. 752 p. Russian.
14. Kravtsova EYu, Semenova EV. [Emotional and vegetative disorders in adolescents with headache]. Uralskiy medicinskiy zhurnal. 2015; 2 (125): 29–33. Russian.
15. Semenova EV. [Vegetative disorders in adolescents with different types of headaches]. Permskiy medicinskiy zhurnal. 2016; XXXIII (2): 23–9. Russian.
16. Simons DG, Trevell ZhG, Simons LS. Miofastsial'nye boli i disfunktsii: Rukovodstvo po triggernym tochkam. 2nd ed. Vol. 1. Moscow: Meditsina; 2005. 1192 p. Russian.
17. Devis K. Triggernye tochki: bezlekarstvennaya pomoshch' pri khronicheskoy boli. Moscow: Eksmo; 2008. 336 p. Russian.
18. Luvsan G. Traditsionnye i sovremennye aspekty vostochnoy meditsiny. Moscow: Moskovskie uchebniki i kartolitogafiya; 2000. 400 s. Russian.
19. Tabeeva DM. Rukovodstvo po iglorefleksoterapii. Moscow: Meditsina, 1980. 560 p. Russian.
20. Kryuchok VG, Sivakov AP, Vasilevskiy SS, Mozheyko LF, Zabarovskiy VK, Zagorodnyy GM et al. Primenenie original'nogo kinezioteypirovaniya pri travmakh i zabolevaniyakh. Instruktsiya po primeneniyu. Republic of Belarus, Minsk: 2010. 25 p. Russian.
21. Kosinsky M, Bayliss MS, Bjorner JB, Ware JrJE, Garber WH, Batenhorst A et al. A six-item short-form survey for measuring headache impact: The HIT-6TM. Quality of Life Research. 2003;12: 963–74.
22. Yakupov RA, Yakupova AA. Etapnaya refleksoterapiya khronicheskoy golovnoy boli napryazheniya. Dostizheniya nauki i obrazovaniya. 2016. 6 (7): 67–70. Russian.
23. Safonov MI, Naprienko MV. [Reflexotherapeutic methods for chronic migraine]. Vestnik novykh meditsinskikh tekhnologiy. 2014; (1): 9–17. DOI: 10.12737/7344. Russian.
24. Medvedeva LA, Avakyan GN, Zagorulko OI, Gnezdilov AV. [Therapeutic blockades and reflexotherapy in the complex treatment of tension headache]. Zhurnal nevrologii i psikhiatrii im. S. S. Korsakova. 2010; (2): 29–32. Russian.

ЗАВИСИМОСТЬ МЫШЕЧНОЙ СИЛЫ ОТ ТЕМПОВ БИОЛОГИЧЕСКОГО СОЗРЕВАНИЯ И ОСНОВНЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ФИЗИЧЕСКОГО РАЗВИТИЯ У МАЛЬЧИКОВ-ПОДРОСТКОВ

О. Ю. Милушкина[1], Н. А. Скоблина[1], П. К. Прусов[2,3], Н. А. Бокарева[1] ✉, А. А. Татаринчик[1], Ф. У. Козырева[1], А. Б. Моисеев[4]

[1] Кафедра гигиены, педиатрический факультет,
Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва

[2] Кафедра восстановительной медицины, ЛФК и спортивной медицины, курортологии и физиотерапии,
Институт повышения квалификации ФМБА России, Москва

[3] Московский научно-практический центр реабилитации, восстановительной и спортивной медицины, Москва

[4] Кафедра пропедевтики детских болезней, педиатрический факультет,
Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва

На формирование функциональных возможностей современных школьников влияют различные факторы, в том числе эндогенные. В статье представлены данные об особенностях физического развития 182 мальчиков, каждого из которых обследовали ежегодно с 11 до 17 лет. Изучали основные антропометрические показатели (длину и массу тела), функциональные показатели (мышечную силу кистей рук), показатели биологического развития и особенности телосложения. Исследование показало, что негативное влияние на формирование мышечной силы у мальчиков-подростков оказывает ряд эндогенных факторов: задержка биологического развития, дефицит массы тела, рост ниже среднего и астеноидный тип телосложения. На формировании мышечной силы мальчиков-подростков неблагоприятно сказываются также избыточная масса тела и низкая скелетная масса. Полученные данные позволяют выделить группу риска, детям из которой следует уделять особое внимание при занятиях физкультурой и спортом и при подготовке к сдаче норм ГТО.

Ключевые слова: физическое развитие школьников, темп биологического созревания, мышечная сила кистей рук, динамометрия, соматотипы

✉ **Для корреспонденции:** Бокарева Наталия Андреевна
ул. Островитянова, д. 1, г. Москва, 117997; nabokareva@mail.ru

Статья получена: 23.10.2017 **Статья принята к печати:** 15.11.2017

DEPENDENCE OF MUSCLE STRENGTH ON BIOLOGICAL MATURATION RATES AND KEY VARIABLES OF PHYSICAL DEVELOPMENT IN TEENAGE BOYS

Milushkina OYu[1], Skoblina NA[1], Prusov PK[2,3], Bokareva NA[1]✉, Tatarinchik AA[1], Kozyreva FU[1], Moiseev AB[4]

[1] Department of Hygiene, Faculty of Pediatrics,
Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

[2] Department of Restorative, Sports and Health Resort Medicine and Physiotherapy,
Institute of Advanced Training of the Federal Medical-Biological Agency of the Russian Federation, Moscow, Russia

[3] Moscow Centre for Research and Practice in Medical Rehabilitation, Restorative and Sports Medicine, Moscow, Russia

[4] Department of Propedeutics of Childhood Diseases, Faculty of Pediatrics,
Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

Functional abilities of school-age children are affected by a variety of factors, including endogenous. Over the course of a few years, we studied physical development of 182 boys who underwent annual physical examination from the age of 11 to 17. We took basic anthropometric measurements, such as height and weight, tested hand muscle strength and assessed biological maturation and body build. Our study showed that muscle strength in school-age boys suffers a negative influence of such endogenous factors as delayed physical development, body mass deficit, short stature, and asthenic build. Excess weight and low skeletal weight also contribute to decreased muscle strength in teenage boys. Our results can be used to identify teenagers at risk who should be given special attention during PE classes at school or during training sessions before the GTO fitness test.

Keywords: physical development of school-age children, biological maturation rate, hand muscle strength, handgrip test, somatotype

✉ **Correspondence should be addressed:** Natalia Bokareva
ul. Ostrovityanova, d. 1, Moscow, Russia, 117997; nabokareva@mail.ru

Recieved: 23.10.2017 **Accepted:** 15.11.2017

Мышечная сила кистей рук является интегральным показателем состояния мышечной и нервной систем организма. Уже многие десятилетия этот показатель применяется для оценки силовых и функциональных возможностей детей и подростков при врачебно-физкультурном консультировании. В настоящее время изучение функциональных

возможностей организма приобретает особое значение в связи с вступлением в силу Указа Президента Российской Федерации от 24 марта 2014 г. № 172 «О Всероссийском физкультурно-спортивном комплексе "Готов к труду и обороне" (ГТО)».

В современной литературе имеются данные о новых тенденциях в физическом развитии детей и подростков: увеличение тотальных размеров тела, ускорение процессов биологического созревания, более ранние сроки менархе, увеличение доли детей с избытком массы тела [1–9], выраженное снижение функциональных возможностей, в том числе мышечной силы [10–13]. В большинстве работ показатели динамометрии анализировались в контексте социальных и средовых факторов [14, 15], однако недостаточно изучена зависимость мышечной силы от показателей физического развития детей и подростков с учетом популяционной изменчивости последних.

Целью исследования являлось изучение зависимости мышечной силы кистей рук от показателей физического развития и темпов биологического созревания детей.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В исследовании приняли участие 182 мальчика. В ходе лонгитудинальных наблюдений подростков обследовали ежегодно в динамике от 11 до 17 лет. В группу наблюдения отобрали подростков славянской внешности, родившихся в Москве, отнесенных по результатам медицинского осмотра к I и II группам здоровья.

Физическое развитие и уровень биологического созревания школьников оценивали по унифицированной антропометрической методике с использованием стандартного инструментария [16]. Изучали основные антропометрические показатели физического развития — массу и длину тела и функциональные показатели — мышечную силу правой кисти. Оценку гармоничности физического развития проводили с использованием региональных модифицированных шкал регрессии массы тела по длине тела [17]. Соматоскопическое обследование включало визуальную оценку стадии полового развития. По темпам биологического созревания выделяли мальчиков-ретардантов (биологический возраст отстает от календарного), медиантов (биологический возраст соответствует календарному) и акселерантов (биологический возраст опережает календарный).

Конституциональный тип (телосложение) был определен по схеме В. Г. Штефко и А. Д. Островского (1929 г.) в модификации С. С. Дарской (1975 г.). Визуально на основе развития мускулатуры, костного скелета, подкожно-жировой клетчатки, формы грудной клетки, живота, спины, ног выделяют дигестивный, торакальный, мышечный, астеноидный и неопределенный типы [16].

Для изучения связи мышечной силы с содержанием жировой и мышечной ткани было проведено обследование 23 мальчиков. Соматометрические показатели изучали с использованием стандартной антропометрической методики и инструментария. Для определения состава тела был применен анализатор состава тела InBody (Южная Корея), действие которого основано на биоэлектрическом импендансометрическом анализе.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием программного пакета Statistica 6.0 (StatSoft, США). Для определения достоверности различий рассчитывали t-критерий Стьюдента. Были изучены корреляционные связи количественных показателей физического развития с непрерывной изменчивостью. Использовалась линейная корреляция Пирсона, теснота связей показателей описывалась коэффициентом корреляции (r). При значении коэффициента до ± 0,3 констатировалось отсутствие или незначительная связь, от ± 0,3 до ± 0,5 — слабая связь, от ± 0,5 до ± 0,7 — заметная связь, от ± 0,7 — высокая связь.

Исследование было одобрено этическим комитетом Российского национального исследовательского медицинского университета имени Н. И. Пирогова (протокол № 130 от 09.12.2013). Руководители и родительские комитеты школ дали согласие на участие подростков в эксперименте.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При анализе корреляционных связей основных антропометрических показателей и мышечной силы кистей рук у 11-летних мальчиков была выявлена статистически значимая ($p < 0,05$) заметная связь между мышечной силой и длиной тела и слабая, но также статистически значимая связь между мышечной силой и массой тела. Необходимо отметить, что с возрастом сила этих корреляционных связей заметно снижалась (табл. 1, 2).

Более выраженные корреляционные связи были получены при использовании биоимпендансметрии. Проведенный анализ выявил статистически значимые ($p < 0,05$) высокие связи мышечной силы с показателями основного обмена ($r = 0,86$) и скелетной массы ($r = 0,86$), а также достоверные отрицательные связи средней силы — с показателем содержания жировой ткани ($r = –0,52$, $p < 0,05$).

Данные о мышечной силе кистей рук у мальчиков с учетом возраста представлена в табл. 3. С увеличением календарного возраста с 11 до 17 лет значение показателя возрастает с 15,25 ± 0,86 до 38,66 ± 0,8 кг, т. е. почти в 2,5 раза.

Таблица 1. Корреляционные связи основных показателей физического развития и мышечной силы кистей рук мальчиков 11 лет (r; $p < 0,05$)

Показатель	Длина тела	Масса тела	Мышечная сила правой кисти
Длина тела	1	0,75	0,53
Масса тела	0,75	1	0,47
Мышечная сила правой кисти	0,53	0,47	1

Таблица 2. Корреляционные связи основных показателей физического развития и мышечной силы кистей рук юношей 17 лет (r; $p < 0,05$)

Показатель	Длина тела	Масса тела	Мышечная сила правой кисти
Длина тела	1	0,56	0,47
Масса тела	0,56	1	0,39
Мышечная сила правой кисти	0,47	0,39	1

Таблица 3. Возрастная динамика мышечной силы у мальчиков 11–17 лет (M ± m)

Возраст, лет	11	12	13	14	15	16	17
Мышечная сила, кг	15,15 ± 0,26	16,85 ± 0,30	19,93 ± 0,58	26,08 ± 0,69	31,49 ± 0,68	35,13 ± 0,60	37,50 ± 0,74

Таблица 4. Мышечная сила школьников разных соматотипов (M ± m)

Показатель	Соматотип				
	астеноидный	торакальный	мышечный	дигестивный	неопределенный
	1	2	3	4	5
Мышечная сила правой кисти	14,3 ± 0,2	17,04 ± 0,1	18,3 ± 0,2	18,6 ± 0,3	16,2 ± 0,2
p-value	при сравнении 1 и 3 — $p < 0,05$; при сравнении 1 и 4 — $p < 0,01$				

Возрастная динамика мышечной силы у мальчиков-подростков с учетом темпов биологического созревания представлена на рис. 1.

Акселеранты, имея некоторое преимущество по мышечной силе в 11-летнем возрасте, существенно увеличили его к 13 годам, особенно по сравнению с группой ретардантов, и имели наибольшие значения показателя до 17-летнего возраста. В 11–12 лет ретарданты не отличались достоверно по мышечной силе от медиантов, но в 13–15 лет уступали как медиантам, так и акселерантам. К 16–17 годам различия сглаживались и становились недостоверными для разных групп мальчиков-подростков.

Показатели мышечной силы в зависимости от гармоничности физического развития представлены на рис. 2. Во всех возрастных группах мышечная сила детей с нормальным (гармоничным) физическим развитием и детей с избытком массы тела не имела достоверных различий. А мышечная сила мальчиков с дефицитом массы тела во всех возрастных группах (за исключением группы 14-летних) была статистически значимо ниже ($p < 0,01$, $p < 0,05$) по сравнению с подростками с гармоничным физическим развитием.

Наблюдалась зависимость величины мышечной силы от длины тела. Мышечная сила подростков с ростом ниже среднего во всех возрастных группах была статистически значимо ($p < 0,01$, $p < 0,05$) ниже по сравнению с мальчиками, отнесенными к другим ростовым группам (рис. 3). Мальчики с ростом выше среднего и высоким ростом достоверно ($p < 0,01$) опережали своих сверстников по результатам кистевой динамометрии в возрасте 11–16 и 11–14 лет соответственно. В более старших возрастных группах эти различия сглаживались и переставали быть достоверными.

При анализе распределения детей по соматотипам (рис. 4) было установлено, что относительно «слабые» типы (астеноидный и торакальный) характерны для 42 % подростков, относительно «сильные» (мышечный и дигестивный) — для 25,8 %, неопределенный тип встречался у 32,2 % подростков. Анализ мышечной силы у детей с разными соматотипами показал, что тип телосложения достоверно влияет на формирование мышечной силы. Получены статистически значимые различия: дети астеноидного типа телосложения имеют меньшую мышечную силы по сравнению со сверстниками мышечного и дигестивного типов телосложения.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Исследования, проводимые в разных регионах нашей страны в последние годы, свидетельствуют о выраженном снижении мышечной силы у современных детей и подростков. Установлено, что в Московском регионе и у мальчиков, и у девочек показатели динамометрии снижены по сравнению со сверстниками 1960-х и 1980-х гг. прошлого столетия, причем выявленные различия имеют высокую статистическую значимость ($p < 0,01$) [15]. Выявленное снижение функциональных показателей у детей и подростков требует осторожного введения норм ГТО. Как показывают исследования, современные дети могут выполнить эти нормы только ценой собственного здоровья, а иногда и жизни.

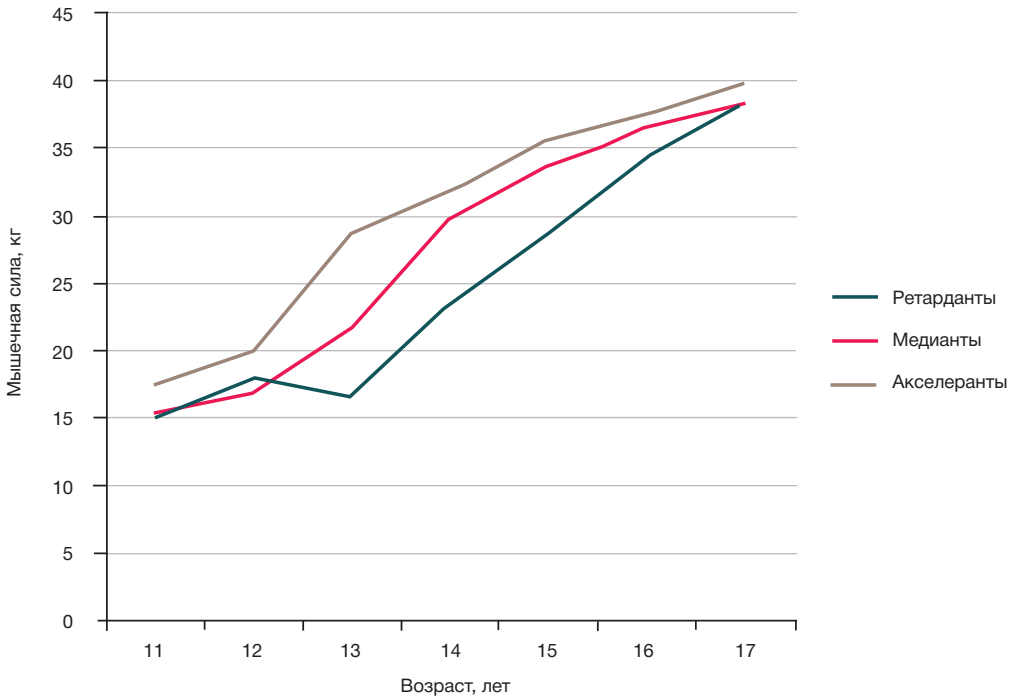


Рис. 1. Возрастная динамика мышечной силы у мальчиков-подростков с учетом темпов биологического созревания

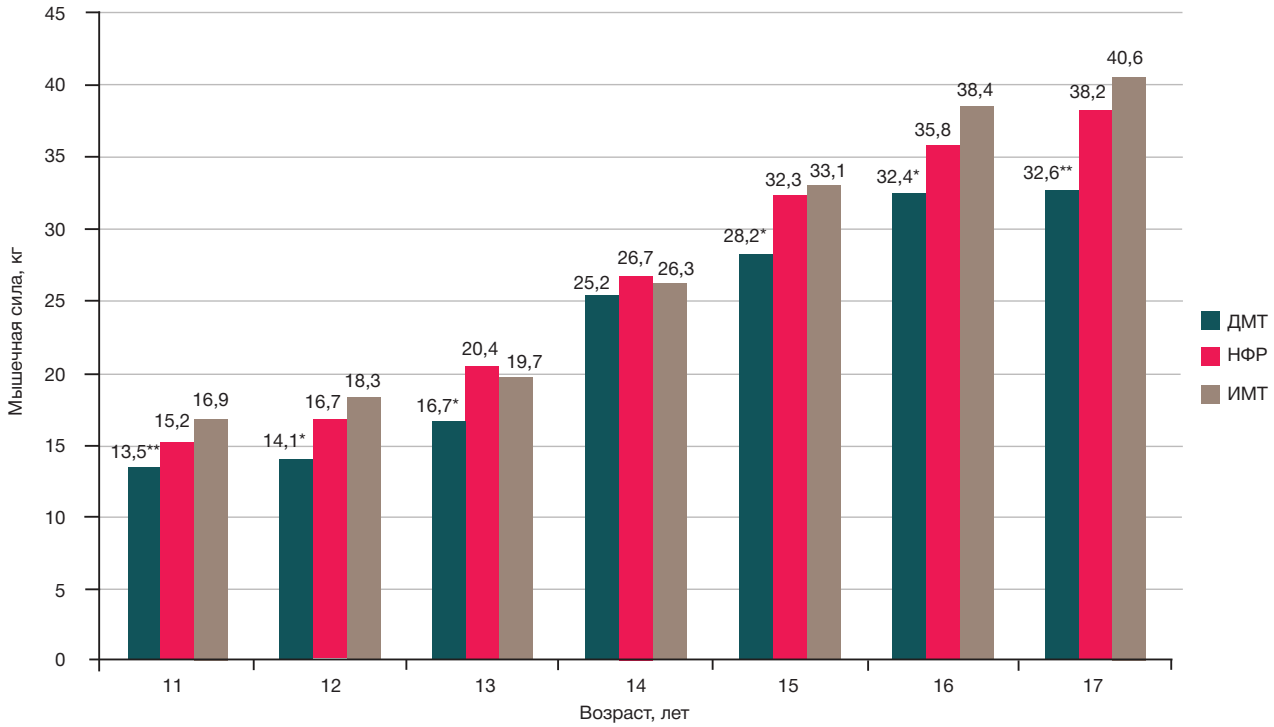


Рис. 2. Показатели мышечной силы мальчиков-подростков в зависимости от гармоничности физического развития
* — p < 0,05, ** – p < 0,01
НФР — нормальное физическое развитие, ДМТ — дефицит массы тела, ИМТ — избыток массы тела.

Среди эндогенных факторов, влияющих на формирование мышечной силы, наиболее часто указываются темп биологического развития и тип телосложения [18–20]. Результаты, полученные в нашем исследовании, свидетельствуют об отрицательном влиянии на формирование мышечной силы мальчиков-подростков замедления темпов биологического развития и относительно «слабого» астеноидного типа телосложения. Средние значения мышечной силы у подростков с отставанием в биологическом развитии в 13–15 лет были достоверно ниже, чем в других группах. В то же время необходимо отметить, что в старшем возрасте они догоняли своих сверстников по мышечной силе и к 17 годам выявленные различия нивелировались. Показатели динамометрии у мальчиков с

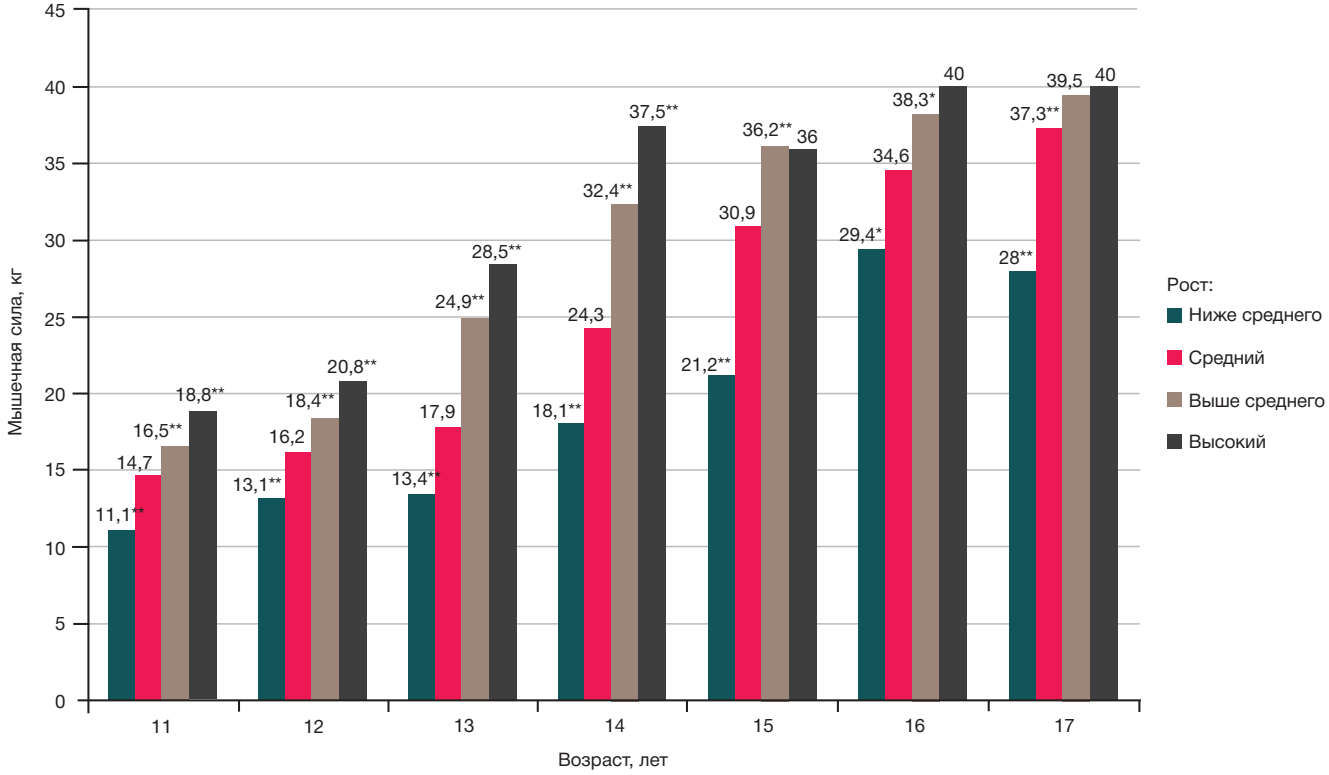


Рис. 3. Показатели мышечной силы мальчиков-подростков в зависимости от длины тела
* — p < 0,05, ** — p < 0,01.

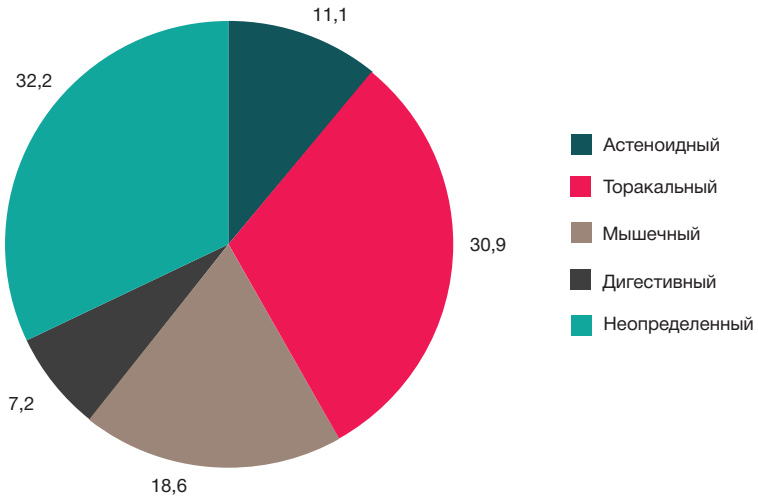


Рис. 4. Распределение школьников по типу телосложения (%)

астеноидным типом телосложения также были достоверно ниже, чем у мальчиков с «сильными» типами телосложения (мышечным и дигестивным).

Анализ влияния других эндогенных факторов на формирование мышечной силы детей и подростков показал, что гармоничность физического развития и рост (длина тела) также оказывают влияние на изучаемый показатель. Мальчики-подростки с дефицитом массы тела и с ростом ниже среднего во всех возрастных группах имели достоверно более низкие показатели мышечной силы. В нашей выборке не оказалось мальчиков с низким ростом, но надо полагать, что они также будут иметь сниженные функциональные возможности.

Проведенные исследования показывают, что около 40 % современных юношей старшего школьного возраста не могут сдать нормы ГТО [21–25]. Этот факт свидетельствует о необходимости совершенствования организации физического воспитания в образовательных организациях. Полученные нами данные позволяют выделить группу риска по формированию сниженных функциональных возможностей у мальчиков-подростков. К этой группе следует относить мальчиков астеноидного типа телосложения, мальчиков с дефицитом массы тела, мальчиков с ростом ниже среднего и низким ростом, а также подростков с замедленным темпом биологического созревания в период пубертата. Подросткам, отнесенным к группе риска, следует уделять особое внимание при занятиях физкультурой и спортом, а также при подготовке к сдаче норм ГТО.

ВЫВОДЫ

Проведенное исследование позволило выявить негативное влияние ряда эндогенных факторов на формирование мышечной силы у мальчиков-подростков: задержка биологического развития, дефицит массы тела, рост ниже среднего и астеноидный тип телосложения. На формировании мышечной силы мальчиков-подростков неблагоприятно сказываются высокая доля жировой массы и низкая скелетная масса.

Полученные результаты позволили авторам выделить группу риска формирования сниженных функциональных показателей и разработать практические рекомендации по профилактике отклонений в физическом развитии школьников, адресованные медицинским работникам образовательных организаций, педагогам, родителям и школьникам.

Литература

1. Година Е. З., Хомякова И. А., Задорожная Л. В., Анисимова А. В., Иванова Е. М., Пермякова Е. Ю. и др. Ауксологические исследования на родине М. В. Ломоносова. Вестн. МГУ. Сер. XXIII. Антропол. 2011; (3): 68–99.
2. Поварго Е. А., Зулькарнаева А. Т., Зулькарнаев Т. Р., Овсянникова Л. Б., Агафонов А. И., Ахметшина Р. А. Региональные особенности физического развития школьников Уфы. Гиг. и сан. 2014; 93 (4): 72–4.
3. Перевощикова Н. К., Анисимова А. В., Торочкина Г. П., Коськина Е. В., Черных Н. С. Динамика физического развития школьников г. Кемерово за 50 лет (период 1962–2012 гг.). Мать и дитя в Кузбассе. 2014; (1): 4–9.
4. Грицинская В. Л., Бекетова Е. В. Анализ физического развития школьников Красноярского края. В сб.: Материалы XVI Конгресса педиатров России с международным участием «Актуальные проблемы педиатрии»; 24–27 февраля 2012 г.; Москва, Россия. М., 2012. с. 179.
5. Муратова А. П., Карпунов А. А. Особенности физического развития детей и подростков Ненецкого автономного округа. В сб.: Циркумполярная медицина: влияние факторов окружающей среды на формирование здоровья человека: Материалы международной научно-практической конференции; 27–29 июня 2011 г.; Архангельск, Россия. Архангельск: Изд-во СГМУ; 2011. с. 234–40.
6. Платонова А. Г. Изменения в физическом развитии киевских школьников за десятилетний период (1996–2008 гг.). Гиг. и сан. 2012; (2): 69–73.
7. Лебедькова С. Е., Вивтаненко Т. В., Игнатова Т. Н., Трусова О. Ю. Распространенность избыточной массы тела и ожирения у детей и подростков Оренбурга. В сб.: Материалы XVI Конгресса педиатров России с международным участием «Актуальные проблемы педиатрии»; 24–27 февраля 2012 г.; Москва, Россия. М., 2012. с. 192.
8. Федотов Д. М. Формирование морфофункционального статуса детского населения Крайнего Севера на примере Архангельской области [автореф. диссертации]. М.: РНИМУ им. Н. И. Пирогова; 2013. 22 с.
9. Бокарева Н. А., Скоблина Н. А., Милушкина О. Ю Динамика

физического и биологического развития московских школьников. Доктор.Ру. Педиатрия Гастроэнтерология. 2014; 99 (11): 5–8.
10. Кучма В. Р., Скоблина Н. А., Милушкина О. Ю., Бокарева Н. А., Ямпольская Ю. А. Характеристика морфофункциональных показателей московских школьников 8–15 лет (по результатам лонгитудинальных исследований). Вестн. МГУ. Сер. XXIII. Антропол. 2012; (1): 76–83.
11. Чагаева Н. В., Попова И. В., Токарев А. Н., Кашин А. В., Беляков В. А. Сравнительная характеристика физиометрических показателей физического развития школьников. Гиг. и сан. 2011; (2): 72–5.
12. Кузнецова Д. А., Сизова Е. Н., Туляков О. В. Функциональное состояние подростков с учетом влияния высоких широт. Социальные аспекты здоровья населения: электрон. науч. журн. [Интернет]. 2012 [дата обращения: 28 сентября 2017 г.]; 25 (3) [примерно 7 с.]. Доступно по: http://vestnik.mednet.ru/content/view/412/30/lang,ru/.
13. Смирнова А. В., Хасанова А. Р. Динамика некоторых функциональных показателей школьников г. Набережные Челны. В мире научных открытий. 2014; 49 (1): 398–403.
14. Милушкина О. Ю. Закономерности формирования морфофункциональных показателей детей и подростков в современных санитарно-гигиенических и медико-социальных условиях [автореф. диссертации]. М.: РНИМУ им. Н. И. Пирогова; 2013. 47 с.
15. Милушкина О. Ю., Бокарева Н. А. Особенности формирования морфофункционального состояния современных школьников. Здравоохр. РФ. 2013; (5): 37–8.
16. Баранов А. А., Кучма В. Р., редакторы. Методы исследования физического развития детей и подростков в популяционном мониторинге: Руководство для врачей. М.: Союз педиатров России; 1999. 225 с.
17. Кучма В. Р., Сухарева Л. М., Храмцов П. И., Звездина И. В., Крымский Е. Ф., Рапопорт И. К. и др. Руководство по диагностике и профилактике школьно обусловленных заболеваний, оздоровлению детей в образовательных учреждениях. М.: НЦЗД РАМН; 2012. с. 144–70.
18. Федотова Т. К. О специфике формирования соматического статуса детей от 7 до 16 лет. Педиатрия. 2005; (5): 92–4.
19. Мишкова Т. А. Морфофункциональные особенности и адаптационные возможности современной студенческой молодежи в связи с оценкой физического развития [автореф. диссертации]. М.: МГУ имени М. В. Ломоносова, 2010. 24 с.
20. Бобошко И. Е. Системный анализ конституциональных особенностей детей школьного возраста и дифференцированные программы формирования их здоровья [автореф. диссертации]. Иваново: ИвГМА; 2010. 46 с.
21. Абасов Р. Г., Горелик В. В. Оценка физического развития учащихся на соответствие нормам ГТО. Наука и образование: новое время. 2017; 18 (1): 52–7.
22. Кизляева Е. Ю. Состояние здоровья и физическая подготовленность школьников для сдачи норм ГТО. В сб.: Проблемы физической культуры, спорта и туризма в свете современных исследований и социальных процессов: сборник трудов Международной научно-практической конференции; 14 апреля 2017 г.; Санкт-Петербург, Россия. СПб.: СПбГУПТД; 2017. с. 461–4.
23. Шакирова Ч. Р., Никитин А. С., Гуляков А. А. Уровень готовности учащихся старшего школьного возраста к сдаче норм ГТО. В сб.: Материалы Шестой Всероссийской научной конференции с международным участием «Олимпийская идея сегодня»; 20–23 апреля 2016 г.; Ростов-на-Дону, Россия. Ростов-на-Дону: Изд-во ЮФУ; 2016. с. 296–302.
24. Виноградов И. Г., Токарева А. В. Тренировка студентов с низким уровнем физической подготовленности к сдаче норм ГТО. Уч. зап. Ун-та им. П. Ф. Лесгафта. 2016; 134 (4): 47–51.

References

1. Godina EZ, Khomyakova IA, Zadorozhnaya LV, Anisimova AV, Ivanova EM, Permyakova EYu, et al. [Auxological investigations at Mikhailo Lomonosov motherland]. Vestnik Moskovskogo universiteta. Seriya XXIII. Antropologiya. 2011; (3): 68–99. Russian.
2. Povargo EA, Zulkarnaeva AT, Zulkarnaev TR, Ovsyannikova LB, Agafonov AI, Akhmetshina RA. [Regional features of the physical development of schoolchildren in the city of Ufa]. Gigiena i sanitariya. 2014; 93 (4): 72–4. Russian.
3. Perevoshchikova NK, Anisimova AV, Torochkina GP, Koskina EV, Chernych NS. [Dynamics of physical development of schoolchildren Kemerovo for 50 years (the period 1962–2012)]. Mat' i ditya v Kuzbasse. 2014; (1): 4–9. Russian.
4. Gritsinskaya VL, Beketova EV. Analiz fizicheskogo razvitiya shkol'nikov Krasnoyarskogo kraya. In: Materialy XVI Kongressa pediatrov Rossii s mezhdunarodnym uchastiem “Aktual'nye problemy pediatrii”; 2012 Feb 24–27; Moscow, Russia. Moscow, 2012. p. 179. Russian.
5. Muratova AP, Karpunov AA. Osobennosti fizicheskogo razvitiya detey i podrostkov Nenetskogo avtonomnogo okruga. In: Tsirkumpolyarnaya meditsina: vliyanie faktorov okruzhayushchey sredy na formirovanie zdorov'ya cheloveka: Materialy mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii; 2011 Jun 27–29; Arkhangelsk, Russia. Arkhangelsk: NSMU Press; 2011. p. 234–40. Russian.
6. Platonova AG. [Changes in the physical development of Kiev schoolchildren over a ten-year period (1996–2008)]. Gigiena i sanitariya. 2012; (2): 69–73. Russian.
7. Lebed'kova SE, Vivtanenko TV, Ignatova TN, Trusova OYu. Rasprostranennost' izbytochnoy massy tela i ozhireniya u detey i podrostkov Orenburga. In: Materialy XVI Kongressa pediatrov Rossii s mezhdunarodnym uchastiem “Aktual'nye problemy pediatrii”; 2012 Feb 24–27; Moscow, Russia. Moscow, 2012. p. 192. Russian.
8. Fedotov DM. Formirovanie morfofunktsional'nogo statusa detskogo naseleniya Kraynego Severa na primere Arkhangel'skoy oblasti [abstract of the dissertation]. Moscow: N. I. Pirogov RNRMU; 2013. 22 p. Russian.
9. Bokareva NA, Skoblina NA, Milushkina OYu. [Changes in Physical and Biological Development: Survey on Moscow School Students]. Doktor.Ru. Pediatriya Gastroenterologiya. 2014; 99 (11): 5–8. Russian.
10. Kuchma VR, Skoblina NA, Milushkina OJu, Bokareva NA, Jampol'skaya JuA. [Characteristics of morphofunctional indicators of Moscow schoolchildren aged 8–15 years (on the results of longitudinal studies)]. Vestnik Moskovskogo universiteta. Seriya XXIII. Antropologiya. 2012; (1): 76–83. Russian.
11. Chagaeva NV, Popova IV, Tokarev AN, Kashin AV, Belyakov VA. [Comparative characteristics of the physiometric parameters of schoolchildren' physical development]. Gigiena i sanitariya. 2011; (2): 72–5. Russian.
12. Kuznetsova DA, Sizova EN, Tulyakova OV. [Functional status of teenagers in consideration of high latitudes]. Sotsial'nye aspekty zdorov'ya naseleniya [serial on the Internet]. 2012 [cited 2017 Sep 28]; 25 (3) [about 7 p.]. Available from: http://vestnik.mednet.ru/content/view/412/30/lang,ru/. Russian.
13. Smirnova AV, Khasanova AR. Dynamics of some functional indicators of school students Naberezhnye Chelny. Siberian Journal of Life Sciences and Agriculture. 2014; 49 (1): 398–403.
14. Milushkina OYu. Zakonomernosti formirovaniya morfofunktsional'nykh pokazateley detey i podrostkov v sovremennykh sanitarno-gigienicheskikh i mediko-sotsial'nykh usloviyakh [abstract of the dissertation]. Moscow: N. I. Pirogov RNRMU; 2013. 47 p. Russian.
15. Milushkina OYu, Bokareva NA. [The characteristics of development of morpho-functional conditions of modern school children]. Zdravookhranenie Rossiyskoy Federatsii. 2013; (5): 37–8. Russian.

16. Baranov AA, Kuchma VR, editors. Metody issledovaniya fizicheskogo razvitiya detey i podrostkov v populyatsionnom monitoringe: Rukovodstvo dlya vrachey. Moscow: Soyuz pediatrov Rossii; 1999. 225 p. Russian.
17. Kuchma VR, Sukhareva LM, Khramtsov PI, Zvezdina IV, Krymskiy EF, Rapoport IK, et al. Rukovodstvo po diagnostike i profilaktike shkol'no obuslovlennykh zabolevaniy, ozdorovleniyu detey v obrazovatel'nykh uchrezhdeniyakh. Moscow: SCCH of the RAMS; 2012. p. 144–70. Russian.
18. Fedotova TK. [Peculiarity of somatic state forming in the age 7–16 years old]. Pediatriya. Zhurnal im. G. N. Speranskogo. 2005; (5): 92–4. Russian.
19. Mishkova TA. Morfofunktsional'nye osobennosti i adaptatsionnye vozmozhnosti sovremennoy studencheskoy molodezhi v svyazi s otsenkoy fizicheskogo razvitiya [abstract of the dissertation]. Moscow: Lomonosov Moscow State University, 2010. 24 p. Russian.
20. Boboshko IE. Sistemnyy analiz konstitutsional'nykh osobennostey detey shkol'nogo vozrasta i differentsirovannye programmy formirovaniya ikh zdorov'ya [abstract of the dissertation]. Ivanovo: IvSMA; 2010. 46 p. Russian.
21. Abasov RG, Gorelik VV. Otsenka fizicheskogo razvitiya uchashchikhsya na sootvetstvie normam GTO. Nauka i obrazovanie: novoe vremya. 2017; 18 (1): 52–7. Russian.
22. Kizlyaeva EYu. Sostoyanie zdorov'ya i fizicheskaya podgotovlennost' shkol'nikov dlya sdachi norm GTO. In: Problemy fizicheskoy kul'tury, sporta i turizma v svete sovremennykh issledovaniy i sotsial'nykh protsessov: sbornik trudov Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii; 2017 Apr 14; Saint Petersburg, Russia. Saint Petersburg: SPbSUITD; 2017. p. 461–4. Russian.
23. Shakirova ChR, Nikitin AS, Gulyakov AA. Uroven' gotovnosti uchashchikhsya starshego shkol'nogo vozrasta k sdache norm GTO. In: Materialy Shestoy Vserossiyskoy nauchnoy konferentsii s mezhdunarodnym uchastiem “Olimpiyskaya ideya segodnya”; 2016 Apr 20–23; Rostov-on-Don, Russia. Rostov-on-Don: SFEDU Press; 2016. p. 296–302. Russian.
24. Vinogradov IG, Tokareva AV. Training of students with low level of physical fitness to qualifying in standards of “Ready for Labor and Defense”. Uchenye zapiski Universiteta imeni P. F. Lesgafta. 2016; 134 (4): 47–51. Russian.

ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА УСЛОВИЙ ТРУДА В УЧРЕЖДЕНИЯХ ИСПРАВИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ: ПРОБЛЕМЫ И ПУТИ РЕШЕНИЯ

Н. В. Полунина[1], М. И. Тимерзянов[2], О. Ю. Милушкина[2], Ю. П. Пивоваров[2], В. С. Полунин[1], А. А. Аль Сабунчи[2], Ф. У. Козырева[2] ✉, В. В. Королик[2]

[1] Кафедра общественного здоровья и здравоохранения, экономики здравоохранения, педиатрический факультет, Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва

[2] Кафедра гигиены, педиатрический факультет, Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва

Государство берет на себя обязанность сохранить жизнь, здоровье и трудоспособность осужденных к отбытию наказания в учреждениях пенитенциарной системы. Целью исследования являлось изучение условий труда заключенных одного из исправительных учреждений в Республике Татарстан. К наиболее значимым вредным производственным факторам на рабочих местах по результатам их обследования были отнесены повышенный уровень шума, недостаточный уровень искусственной освещенности производственных помещений, повышенный уровень общей и локальной вибрации, превышение предельно допустимых концентраций вредных веществ в воздухе рабочей зоны, а также физические перегрузки, вынужденная рабочая поза, сенсорные нагрузки и монотонность работы. Анализ заболеваемости 5 009 осужденных, работавших во вредных условиях труда, показал, что среди них чаще в сравнении с лицами, работавшими в офисных помещениях, регистрировали заболевания, обусловленные неблагоприятными условиями труда, в том числе болезни кожи и подкожной клетчатки — в 2,1 раза, нарушения слуха — в 1,7 раза, болезни органов дыхания — в 1,5 раза, заболевания системы кровообращения — в 1,3 раза. Исследование выявило отсутствие предварительных и периодических медицинских осмотров, а также нежелание осужденных использовать средства индивидуальной защиты. По результатам исследования были проведены мероприятия по улучшению условий труда, была налажена санитарно-просветительная работа, внедрена система медицинских осмотров. Число работающих во вредных условиях труда снизилось с 68 % до 19 %. Средства индивидуальной защиты стали применять до 82 % заключенных.

Ключевые слова: заключенные, безопасность рабочих мест, условия труда, факторы рабочей среды, тяжесть труда, напряженность труда, средства индивидуальной защиты

✉ **Для корреспонденции:** Козырева Фатима Увжикоевна
ул. Островитянова, д. 1, г. Москва, 117997; kf61@mail.ru

Статья получена: 24.09.2017 **Статья принята к печати:** 04.10.2017

WORKPLACE HYGIENE IN CORRECTIONAL FACILITIES: PROBLEMS AND SOLUTIONS

Polunina NV[1], Timerzyanov MI[2], Milushkina OYu[2], Pivovarov YuP[2], Polunin VS[1], Al Sabunchi AA[2], Kozyreva FU[2] ✉, Korolik VV[2]

[1] Department of Public Health, Healthcare and Health Economics, Faculty of Pediatrics, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

[2] Department of Hygiene, Faculty of Pediatrics, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

The state takes the responsibility of protecting the life, health and working ability of inmates of penitentiary institutions. This study aimed to explore working conditions at a correctional facility located in Tatarstan. Among the most significant workplace hazards were high noise and vibration levels, poor lighting, exposure to increased concentrations of harmful substances in the air, physical distress, constrained posture, sensory stress, and monotonous work. Health evaluation of 5,009 incarcerated individuals exposed to poor working conditions revealed that they were more likely to develop work-related diseases than their counterparts who worked in the office. Among the former skin and subcutaneous tissue diseases, hearing impairment, respiratory conditions and cardiovascular disorders were 2.1, 1.7, 1.5 and 1.3 times more frequent, respectively. Our study revealed the lack of medical examinations on admission, as well as regular medical checkups, and the reluctance of the inmates to use personal protection at work. Based on the study results, adequate measures were taken to improve working conditions, raise awareness of hygiene problems among the inmates and initiate routine medical checkups. The number of incarcerated individuals working under bad conditions plunged from 68 % to 19 %. Also, up to 82 % of inmates started to use personal protection.

Keywords: inmate, safety at work, working conditions, work environment, hard labor, work intensity, personal protection

✉ **Correspondence should be addressed:** Kozyreva Fatima
ul. Ostrovityanova, d. 1, Moscow, Russia, 117997; kf61@mail.ru

Received: 24.09.2017 **Accepted:** 04.10.2017

Проблема создания благоприятных для здоровья условий труда для разных социальных групп, в том числе и осужденных, отбывающих наказание в учреждениях исправительной системы (УИС).

В закрытых сообществах труд обеспечивает сохранность физического и психического здоровья их участников, построение нормальных отношений, основанных на принципах коллективизма и уважения человеческого достоинства, а в конечном счете способствует ресоциализации личности. Возможность не утратить за время пребывания в УИС профессиональные навыки или, наоборот, получение новой специальности, которая поможет вернуться в общество полноценным человеком, т. е. профессиональная адаптация — важнейшие составляющие исправительной системы. Также осужденные трудом вносят определенный материальный вклад в свое содержание: выплачивают взысканные с них по суду средства, удовлетворяют мелкие материальные потребности, накапливают некоторые средства для устройства после отбытия наказания.

Условия труда для отбывающих наказание должны создаваться с учетом состояния их здоровья, трудоспособности, опыта, наличия трудовых навыков и профессии. Продолжительность рабочего времени осужденных к лишению свободы, правила охраны труда, техники безопасности и производственной санитарии устанавливаются в соответствии с законодательством Российской Федерации о труде. Охрана труда есть система сохранения жизни и здоровья работников в процессе трудовой деятельности, включающая правовые, социально-экономические, организационно-технические, санитарно-гигиенические, реабилитационные и иные мероприятия. Обеспечение допустимых условий труда позволит сохранить здоровье работающих осужденных [1–3].

Целью исследования являлось изучение условий труда отбывающих наказание в исправительных учреждениях и разработка мероприятий по оптимизации трудового процесса для сохранения здоровья осужденных.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводили в одном из исправительных учреждений (ИУ) Республики Татарстан. При ИУ созданы производственные предприятия, включающие литейное производство, деревообрабатывающее, металлообрабатывающее, шлакоблочное, швейное производства и автосервис, на которых трудоустроены до трети всех осужденных. Оценку санитарно-гигиенических условий труда осужденных осуществляли путем проведения лабораторно-инструментальных исследований физических факторов на рабочих местах, определения концентрации вредных веществ в воздухе рабочей зоны, изучения показателей тяжести и напряженности трудового процесса, а также безопасности рабочих мест и обеспеченности осужденных средствами индивидуальной защиты в соответствии с руководством Р 2.2.2006-05 «Руководство по гигиенической оценке факторов рабочей среды и трудового процесса. Критерии и классификация условий труда» (табл. 1).

Особое внимание было уделено изучению роли вредных производственных факторов, воздействие которых на работающего в определенных условиях приводит к заболеванию или снижению трудоспособности.

Оценку состояния здоровья осуществляли на основании анализа данных о заболеваемости 5 009 работающих осужденных, полученных при анализе учетной формы № 025-10/у-11. В группу сравнения были включены офисные работники (информационно-вычислительный центр, отдел маркетинга, отдел материально-технического снабжения, отдел технического контроля, технический отдел, группа экономистов и бухгалтеров).

В системе профилактических мероприятий, направленных на обеспечение безопасных условий труда и снижение профессиональных отравлений и заболеваний, важную роль играют средства индивидуальной защиты (СИЗ). Для изучения причин отказа от использования СИЗ провели анкетный опрос также 5 009 осужденных.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В условиях литейного, кузнечного, металлообрабатывающего и деревообрабатывающего производств источниками шума являются работающие станки, ручные механизированные инструменты, электрические машины, компрессоры, кузнечно-прессовое, подъемно-транспортное и вспомогательное оборудование. Действие высоких уровней шума приводит к снижению работоспособности, развитию утомления, повышению заболеваемости и инвалидности среди работающих [4]. Результаты исследования уровня производственного шума на рабочих местах промышленных предприятий УИ представлены в табл. 2.

Как видно из таблицы, фактические уровни производственного шума на рабочих местах шпиндельного и кузнечного участков превышали предельно допустимые значения. Непостоянный производственный шум на обследованных рабочих местах имел колеблющийся характер, с непрерывным изменением уровня звука во времени. Для шпиндельного и кузнечного участков был характерен импульсный шум. Для оценки возможного вредного действия шумов разного уровня и продолжительности рассчитывали величину эквивалентного уровня шума (в пересчете на продолжительность рабочей смены). Полученные данные позволили отнести условия труда по уровню воздействия

Таблица 1. Выполненные исследования условий труда осужденных

Вид исследования	Объем исследования
Определение класса условий труда	296 рабочих мест
Определение уровня шума	296 измерений
Определение уровня вибрации	204 измерения
Определение параметров микроклимата (в холодный и теплый период года)	1 776 измерений
Определение параметров световой среды	623 измерения
Определение содержания химических веществ в воздухе рабочей зоны	223 пробы
Определение тяжести трудового процесса	2 368 измерений
Определение напряженности трудового процесса	2 368 измерений

производственного шума на шпиндельном и кузнечном участках к вредным условиям 2 степени (класс 3.2).

Металлообрабатывающие, деревообрабатывающие станки, литейные машины, кузнечно-прессовое оборудование, транспорт являются источниками общей вибрации, и большинство рабочих мест, за исключением мест на кузнечном и транспортном участках, по фактору «общая вибрация» были отнесены к числу мест с вредными условиям труда (класс 3.1). Рабочие транспортного цеха подвержены также воздействию локальной вибрации. Корректированный уровень локального виброускорения на рабочих местах цеха составил 118,3 ± 7,2 дБ. Таким образом, условия труда по фактору «локальная вибрация» для рабочих транспортного цеха оцениваются как допустимые (класс 2).

Осужденные, занятые на швейном производстве, подвергались неблагоприятному воздействию локальной вибрации при работе на швейных машинах. Корректированный уровень виброускорения составил 134 ± 0,1 дБ, что превышает допустимое значение (126 дБ), условия труда были отнесены к классу 3.2. Средние высокочастотные вибрации (30–125 Гц) вызывают нарушения различной степени тяжести в сосудистой, нервно-мышечной, костно-суставной системах. Источником общей вибрации на швейном участке являются двигатели, которые у большинства машин крепятся непосредственно к крышке стола и не имеют демпфирующих прокладок. Вибрация при этом передается на крышку стола и корпус машины. Величина вибрации возрастает при изношенности и неисправности машин [5].

Гигиеническая оценка производственных помещений показала, что на рабочих местах токарей, фрезеровщиков, на участке обработки цветного литья; токарей и резьбонакатчиков участка сборки корпусов и крышек общая искусственная освещенность существенно ниже установленных норм (табл. 3). При недостаточной освещенности у рабочих развивается утомление зрения, понижается работоспособность и производительность труда, возрастает количество брака и опасность производственного травматизма [6].

Как видно из таблицы, общая искусственная освещенность на рабочих местах станочников недостаточна. Условия труда по фактору «освещение» не могут быть признаны допустимыми. Условия освещения на механическом участке, участке обработки цветного литья, сборки корпусов и крышек, шпиндельном и кузнечном участках относятся к классу 3.2, т. е. способны вызвать стойкие функциональные изменения органов зрения. Была выявлена необходимость установки дополнительных светильников общей системы искусственного освещения, замены ламп на более мощные, а у станочников — установки светильников местного освещения.

Оценка загрязнения воздуха рабочей зоны показала, что в воздухе рабочей зоны присутствовала пыль с примесью диоксида кремния в объеме 2–10 %. Среди аэрозолей преимущественно фиброгенного действия наибольшую опасность представляет пыль, содержащая свободную двуокись кремния [7]. Предельно допустимая концентрация (ПДК) такой пыли в зависимости от содержания двуокиси кремния составляет 1 и 2 мг/м^3. Для других видов пыли ПДК составляют 2–10 мг/м^3. В нашем исследовании доля проб с превышением гигиенических нормативов составила 84,4 %. Пылевая патология у рабочих может проявиться в виде катаров верхних дыхательных путей, пылевых бронхитов и пневмоний [8].

Доля проб с превышением ПДК минеральных масел составила 25,4 %. Смазочные масла при их вдыхании способны оказать раздражающее действие на слизистые оболочки верхних дыхательных путей. У рабочих на коже могут появиться масляные фолликулиты и масляные угри с локализацией на местах наибольшего загрязнения [2].

Пары бензина определялись в воздухе рабочей зоны транспортного цеха. Среднесменная концентрации не превышала установленной величины ПДК, однако доля нестандартных проб составила 33,3 %. В пробах воздуха в зоне дыхания рабочих транспортного участка цеха

Таблица 2. Показатели производственного шума на рабочих местах

Рабочие места	M ± SD, дБА	ПДУ, дБА
Группа сравнения (офисные работники)	56,8 ± 8,4	60
Малярный участок	66,0 ± 0,0	80
Механический участок	78,6 ± 0,0	80
Участок обработки цветного литья	76,0 ± 0,0	80
Участок сборки корпусов и крышек	64,7 ± 7,2	80
Шпиндельный участок	82,6 ± 12,0	80
Замочный участок	69,9 ± 14,9	80
Инструментальный участок	61,4 ± 13,6	80
Кузнечный участок	88,4 ± 0,0	80
Ремонтно-механический участок	67,9 ± 13,7	80
Энерго-ремонтно-механический участок	58,2 ± 3,24	80
Транспортный участок	67,1 ± 7,87	80
Железнодорожный участок	60,6 ± 9,99	80
Кислородная подстанция	48,0 ± 0,0	80
Деревообрабатывающий участок	72,8 ± 11,0	80
Монтажный участок	65,0 ± 8,6	80
Швейный участок	66,1 ± 4,77	80
Производственно-дежурный отдел (устранение аварий)	64,2 ± 6,85	80

Примечание. ПДУ — предельно допустимый уровень.

Таблица 3. Параметры общего освещения производственных помещений

Рабочие места	M ± SD, лк	Минимальное нормативное значение, лк
Группа сравнения (офисные работники)	300,2 ± 128,5	300
Малярный участок	204,7 ± 5,0	300
Механический участок	186,2 ± 32,7	200
Участок обработки цветного литья	236,3 ± 20,5	200
Участок сборки корпусов и крышек	148,2 ± 76,4	200
Шпиндельный участок	230,3 ± 43,6	200
Замочный участок	195,6 ± 75,4	200
Инструментальный участок	207,9 ± 99,1	200
Кузнечный участок	250,0 ± 0,0	200
Ремонтно-механический участок	178,8 ± 111,5	200
Энерго-ремонтно-механический участок	248,6 ± 35,5	200
Транспортный участок	145,0 ± 119,2	200
Железнодорожный участок	101,5 ± 14,7	200
Кислородная подстанция	75,5 ± 0,71	200
Деревообрабатывающий участок	160,8 ± 15,5	200
Монтажный участок	244,7 ± 38,2	200
Швейный участок	279,5 ± 130,0	400
Производственно-дежурный отдел	123,0 ± 33,5	200

№ 5 содержание продуктов неполного сгорания топлива не превышало предельно допустимых значений. Исследования проводили с учетом эффекта суммации.

Анализ проб воздуха производственных помещений на содержание бензола, марганца в сварочных аэрозолях, свинцово-кадмиевого припоя, ацетона, уайт-спирита, оксида углерода, хлора показал, что концентрация перечисленных веществ не превышала установленных нормативных величин. Как показала комплексная оценка загрязнения воздуха рабочей зоны обследуемых производственных помещений, условия труда в большинстве цехов соответствовали 1 степени класса 3. Гигиеническая оценка условий труда осужденных по химическому фактору в офисных помещениях показала их соответствие классу 2, т. е. условия труда были допустимыми.

Гигиеническая оценка микроклимата производственных помещений показала, что температура воздуха на рабочих местах находилась в диапазоне допустимых значений (табл. 4). Относительная влажность воздуха колебалась в диапазоне 60–75 % при скорости движения воздуха от 0,1 до 0,3 м/с. Таким образом, по основным параметрам микроклимата условия труда характеризовались как допустимые (класс 2).

Гигиеническая оценка условий труда осужденных показала, что по тяжести трудового процесса класс условий труда на всех производствах вредный 1–2 степени

Таблица 4. Показатели температуры воздуха в производственных помещениях

Рабочие места	Категория работ по уровню энергозатрат	Температура воздуха, C° (M ± SD)	
		Холодный период года	Теплый период года
Группа сравнения (офисные работники)	1б	23,4 ± 2,9	23,3 ± 2,8
Малярный участок	2б	23,5 ± 0,5	23,5 ± 1,2
Механический участок	2а	20,9 ± 0,2	20,3 ± 1,6
Участок обработки цветного литья	2б	24,9 ± 1,1	20,4 ± 0,8
Участок сборки корпусов и крышек	2а	21,1 ± 0,5	21,0 ± 0,5
Шпиндельный участок	2а	23,0 ± 0,6	21,5 ± 1,1
Замочный участок	2а	20,2 ± 1,3	19,9 ± 1,4
Инструментальный участок	2а	20,3 ± 1,5	20,0 ± 1,1
Кузнечный участок	2б	24,8 ± 0,0	22,6 ± 0,0
Ремонтно-механический участок	2б	20,0 ± 1,5	19,6 ± 1,5
Энерго-ремонтно-механический участок	2б	20,6 ± 0,7	20,3 ± 0,8
Транспортный участок	2а	22,4 ± 0,9	21,0 ± 2,7
Железнодорожный участок	2а	21,9 ± 0,7	16,7 ± 5,3
Кислородная подстанция	2а	22,5 ± 0,6	21,8 ± 0,2
Деревообрабатывающий участок	2б	22,1 ± 0,6	21,7 ± 2,2
Монтажный участок	2а	22,6 ± 0,1	22,1 ± 0,3
Швейный участок	2а	24,3 ± 1,2	22,8 ± 1,9
Производственно-дежурный отдел	2а	19,7 ± 1,6	17,2 ± 5,7

Таблица 5. Класс условий труда по тяжести и напряженности трудового процесса в зависимости от вида производства

Трудовой процесс	Класс условий трудового процесса	Класс напряженности трудового процесса
Швейное производство, швеи мотористы	3.2	3.2
Швейное производство, раскройщики	3.1	2
Литейное производство	3.2	3.1
Производство по деревообработке	3.1	3.1
Производство механической обработки металлов	3.2	3.1
Строительное производство	3.2	3.1
Малярное производство	3.2	2
Транспортный участок	3.2	3.2
Производственный дежурный отдел (устранения аварий)	3.1	3.1

(3.1–3.2), а напряженность трудового процесса была допустимой или вредной (табл. 5).

В ходе исследования было установлено, что большинство (73,1 %) осужденных, работавших с вредными и/или опасными производственными факторами, не использовали средства индивидуальной защиты. Опрос лиц, не использовавших СИЗ, показал, что 54,9 % из них не знают о средствах индивидуальной защиты; 47,6 % опрошенных считали, что их применение затрудняет выполнение работы; 44,9 % отметили неудобство их использования; 39,7 % не умели их применять; 25,9 % не связывали состояние своего здоровья с работой во вредных условиях труда; 17,1 % ответили, что не считали нужным использовать СИЗ. В среднем на одного работающего осужденного приходится 2–3 причины отказа от использования СИЗ.

Условия труда оказывают существенное влияние на состояние здоровья работающих [2, 9–14]. Анализ заболеваемости работавших во вредных условиях труда показал, что среди них в сравнении с лицами, не работавшими во вредных условиях, достоверно выше уровень заболеваемости (1267,2‰ против 810,6‰, $p < 0,05$), при этом чаще регистрируются заболевания, обусловленные неблагоприятными условиями труда, в том числе болезни кожи и подкожной клетчатки — в 2,1 раза, нарушения слуха — в 1,7 раза, болезни органов дыхания — в 1,5 раза, заболевания системы кровообращения — в 1,3 раза. Следует отметить, что отсутствие предварительных и периодических медицинских осмотров и~ нарушение правил допуска к работе по состоянию здоровья не позволили своевременно выявить лиц, которые не должны были быть допущены к работе с вредными условиями труда.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Изучение условий труда на производствах, где работают осужденные, позволило выявить нарушения санитарно-гигиенических требований на отдельных рабочих местах по уровню шума, вибрации, уровню освещенности, микроклиматическим параметрам и по химическому загрязнению воздуха рабочей зоны. Установлен факт уклонения работающими осужденными от использования СИЗ, что в дальнейшем приводит к увеличению заболеваемости среди них. Использование средств индивидуальной защиты становится необходимым в тех случаях, когда возникают затруднения в обеспечении безопасности технологических процессов и оснащении оборудования специальными техническими средствами, повышающими безопасность труда, а также в условиях контакта работающих с факторами, вредными для здоровья. В ходе исследования были проведены мероприятия по улучшению условий труда осужденных, технологические и санитарно-технические мероприятия, позволившие снизить уровни шума, общей и локальной вибрации на рабочих местах, повысить освещенность. Была налажена санитарно-просветительная работа по применению СИЗ, внедрена система предварительных и периодических медосмотров работающих осужденных и допуска к работе перед сменой.

Оценка эффективности проведенных профилактических мероприятий показала, что санитарно-гигиенические условия на производстве улучшились для большинства осужденных. Снизилось число работающих во вредных условиях труда (классы 3.1–3.2) с 68 % до 19 %. При предварительных медицинских осмотрах было выявлено 3,9 % лиц, имевших противопоказание к работе. При проведении периодических медицинских осмотров было отстранено от работы по состоянию здоровья 12,6 % осужденных, при осуществлении медицинских осмотров непосредственно перед сменой — 10,2 % осужденных. Полный охват работающих санитарно-просветительской работой позволил увеличить применение СИЗ до 82 %.

ВЫВОДЫ

Трудовая деятельность осужденных протекает в условиях определенной производственной среды, которая при несоблюдении гигиенических требований может оказывать влияние на их здоровье и работоспособность. Результаты нашего исследования позволили разработать и провести мероприятия по устранению влияния вредных факторов производственной среды путем изменения технологических процессов, механизации и автоматизации производства, установки современного производственного оборудования, сокращения ручного труда, которые в короткое время дали положительный эффект.

Литература

1. Евдокимова Н. А. Сравнительная оценка состояния условий труда по методикам проведения аттестации рабочих мест и специальной оценки условий труда. Безопасн. жизнедеят. 2015; 177 (9): 3–9.
2. Измеров Н. Ф., Бухтияров И. В., Прокопенко Л. В., Шиган Е. Е. Реализация глобального плана действий ВОЗ по ох-

ране здоровья работающих в Российской Федерации. Мед. труда и пром. экол. 2015; (9): 4–10.
3. Тимерзянов М. И., Полунина Н. В. Краткий анализ состояния здоровья особых групп лиц, отбывающих наказание в местах лишения свободы. Мед. вестн. МВД. 2017; 87 (1): 63–6.
4. Петрова Н. Н., Паньшина В. С., Фигуровский А. П., Топанов И. О. Гигиеническая характеристика условий труда работников предприятия деревообрабатывающей промышленности. Гиг. и сан. 2017; 4 (96): 344–6.
5. Алимов Н. П., Готлиб Я. Г. К вопросу допустимых значений уровней шума и вибрации при поведении аттестации рабочих мест. Охр. и экон. труда. 2013; 10 (1): 23–8.
6. Гарайшина Э. Г. Анализ параметров световой среды на промышленных предприятиях. Вестн. Казанск. технол. университета. 2017; 20 (5): 130–1.
7. Раков Ю. В., Смолина А. С., Кузнецов Д. А., Игнатова А. М., Файнбург Г. З. О классификации и некоторых физико-химических свойствах производственной и сварочной пыли и аэрозолей. Master's Journal. 2014; (1): 53–61.
8. Чомаева М. Н. Промышленная пыль как вредный производственный фактор. Нац. безопасн. и стратег. планир. 2015; 10 (2–1): 119–22.
9. Шевляков В. В., Сычик С. И., Эрм Г. И., Грушевская М. А., Филонюк В. А. Производственная шерстяная пыль как фактор риска аллергического поражения работников. Пробл. здоровья и экол. 2017; 53 (3): 54–8.
10. Бухтияров И. В., Измеров Н. Ф., Тихонова Г. И., Чуранова А. Н., Горчакова Т. Ю., Брылева М. С. и др. Условия труда как фактор риска повышения смертности в трудоспособном возрасте. Мед. труда и пром. экол. 2017; (8): 43–9.
11. Петрова Н. Г., Тептин С. Е., Погосян С. Г. Здоровье работающего населения крупной агропромышленной области (по результатам дополнительной диспансеризации). Пробл. соц. гиг., здравоохр. и ист. мед. 2014; (3): 15–9.
12. Мещакова Н. М., Шаяхметов С. Ф., Дьякович М. П. Совершенствование методических подходов к оценке риска нарушений здоровья у работающих при воздействии химического фактора. Гиг. и сан. 2017; 96 (3): 270–4.
13. Ефремов Д. В. К вопросу об охране здоровья работающего населения. Бюл. Нац. НИИ обществ. здоровья им. Н. А. Семашко. 2016; (1–2): 58–60.
14. Корж В. А. Основные направления улучшения условий труда работников. Охр. и экон. труда. 2015; 20 (3): 4–7.

References

1. Evdokimova NA. [Comparative Assessment of the State of Working Conditions by Techniques of Carrying out Certification of Workplaces and the Special Assessment of Working Conditions]. Bezopasnost' zhiznedeyatel'nosti. 2015; 177 (9): 3–9. Russian.
2. Izmerov NF, Bukhtiyarov IV, Prokopenko LV, Shigan EE. [Russian Federation implementation of WHO global efforts plan on workers health care]. Med Tr Prom Ekol. 2015; (9): 4–10. Russian.
3. Timerzyanov M, Polunina N. [Brief analysis of health status of special groups of persons serving the sentence in places of deprivation of freedom]. Meditsinskiy vestnik MVD. 2017; 87 (1): 63–6. Russian.
4. Petrova NN, Panshina VS, Figurovsky AP, Topanov IO. [Working conditions for employees of the enterprise of woodworking industry]. Gig Sanit. 2017; 4 (96): 344–6. Russian.
5. Alimov N, Gotlib YG. [To the question of accepted indicators of noise and vibration level within work places certification implementation]. Okhrana i ekonomika truda. 2013; 10 (1): 23–8. Russian.
6. Garayshina EG. Analiz parametrov svetovoy sredy na promyshlennykh predpriyatiyakh. Vestnik Kazanskogo tekhnologicheskogo universiteta. 2017; 20 (5): 130–1. Russian.
7. Rakov JuV, Smolina AS, Kuznecov DA, Ignatova AM, Fajnburg GZ. [About classification and some physicochemical properties of industrial and welding dusts and aerosols]. Master's Journal. 2014; (1): 53–61. Russian.
8. Chomaeva MN. [Industrial dust as harmful factors]. Natsional'naya bezopasnost' i strategicheskoe planirovanie. 2015; 10 (2–1): 119–22. Russian.
9. Shevlyakov VV, Sychik SI, Erm GI, Grushevskaya MA, Filanyuk VA. [Industrial wool dust as a risk factor for allergy of workers]. Problemy zdorov'ya i ekologii. 2017; 53 (3): 54–8. Russian.
10. Bukhtiyarov IV, Izmerov NF, Tikhonova GI, Churanova AN, Gorchakova TYu, Bryleva MS, et al. [Work conditions as a risk factor mortality increase in able-bodied population]. Med Tr Prom Ekol. 2017; (8): 43–9. Russian.
11. Petrova NG, Teptin SE, Pogosiyan SG. [The health of working population of large agroindustrial oblast (according results of additional dispensarization)]. Probl Sotsialnoi Gig Zdravookhranenniiai Istor Med. 2014 May–Jun; (3): 15–9. Russian.
12. Meshchakova NM, Shayakhmetov SF, Dyakovich MP. [The improvement of methodical approaches to the health risk assessment in workers exposed to the chemical factor]. Gig Sanit. 2017; 96 (3): 270–4. Russian.
13. Efremov DV. [About the issue of working population health support]. Byulleten' Natsional'nogo nauchno-issledovatel'skogo instituta obshchestvennogo zdorov'ya imeni N. A. Semashko. 2016; (1–2): 58–60. Russian.
14. Korzh VA. [The main directions of improvement of conditions ofworkers]. Okhrana i ekonomika truda. 2015; 20 (3): 4–7. Russian.

РАЗРАБОТКА СИСТЕМЫ ПРОГНОЗИРОВАНИЯ ДИАГНОЗОВ ЗАБОЛЕВАНИЙ НА ОСНОВЕ ИСКУССТВЕННОГО ИНТЕЛЛЕКТА

М. В. Сахибгареева ✉, А. Ю. Заозерский

ООО «КОМТЕК», Уфа

В статье представлены результаты исследования по применению технологий искусственного интеллекта для решения одной из основных проблем здравоохранения — повышения качества диагностики заболеваний. Предложен подход к прогнозированию нозологических диагнозов путем интеллектуального анализа совокупности результатов лабораторных исследований (200 тестов), проводимых по каждому случаю заболевания пациентов. В общую выборку, разделенную впоследствии на обучающую и тестовую, включили данные о 7 918 случаях заболеваний по 4 нозологиям: D50 (железодефицитная анемия), E11 (инсулиннезависимый сахарный диабет), E74 (другие нарушения обмена углеводов), E78 (нарушения обмена липопротеидов и другие липидемии). Методом градиентного бустинга для них была построена модель машинного обучения. Точность распознавания моделью выбранных диагнозов составила более 89 % (ROC AUC) при средней уверенности модели в каждом прогнозируемом диагнозе в 92 %. Исследование показало принципиальную возможность применения методов машинного обучения для анализа данных такого рода. Система прогнозирования диагнозов заболеваний внедряется в виде веб-сервиса в программный комплекс «Здравоохранение», предназначенный для автоматизации работы медицинских учреждений.

Ключевые слова: искусственный интеллект, анализ медицинских данных, машинное обучение, градиентный бустинг, лабораторная диагностика, нозологический диагноз, многоклассовая классификация, железодефицитная анемия, липидемия, нарушения обмена углеводов

✉ **Для корреспонденции:** Сахибгареева Маргарита Владимировна
ул. Бехтерева, д. 16, кв. 48, г. Уфа, 450047; margarita.vl2011@gmail.com

Статья получена: 23.11.2017 **Статья принята к печати:** 13.12.2017

DEVELOPING AN ARTIFICIAL INTELLIGENCE-BASED SYSTEM FOR MEDICAL PREDICTION

Sakhibgareeva MV ✉, Zaozersky AYu

COMTEK LLC, Ufa, Russia

Diagnostic accuracy remains one of the central problems of medical care. In this work we attempt to apply artificial intelligence to solve this challenge. We propose an approach to medical prediction based on the intelligent analysis of patients' data from 200 different laboratory tests. The initial sample included 7, 918 cases falling into 4 nosological categories: D50 (iron deficiency anemia), E11 (non-insulin-dependent diabetes mellitus), E74 (other disorders of carbohydrate metabolism), and E78 (disorders of lipoprotein metabolism and other lipidemias), and was further divided into the training and testing datasets. Using gradient boosting, we constructed a machine learning model. The model demonstrated a recognition rate of 89 % (AUC-ROC) and a mean certainty in the diagnosis of 92 %. Our study proves feasibility of using machine learning in the analysis of this type of medical data. We are currently implementing a web-service for medical prediction as part of our *Healthcare* platform aiming at automation of clinical practice.

Keywords: artificial intelligence, analysis of medical data, machine learning, gradient boosting, laboratory diagnostics, nosological diagnosis, multiclass classification, iron deficiency anemia, lipidemia, carbohydrate metabolism disorders

✉ **Correspondence should be addressed:** Margarita Sakhibgareeva
ul. Bekhtereva 16, kv. 48, Ufa, Russia, 450047; margarita.vl2011@gmail.com

Received: 23.11.2017 **Accepted:** 13.12.2017

Совершенствование процессов организации медицинской помощи за счет внедрения информационных технологий является одним из приоритетных направлений развития здравоохранения России. Все большее внимание уделяется не только внедрению информационных систем в медицинскую практику и ведению документации в электронном виде, но и применению технологий интеллектуального анализа больших данных с целью повышения качества оказываемой медицинской помощи [1, 2].

В некоторых работах [3, 4] отмечается острота проблемы сбора и перевода медицинских данных в электронный формат для применения машинного обучения, вследствие чего создание аналитического программного обеспечения оказывается затруднено. Благодаря разработке и внедрению программного комплекса (ПК) «Здравоохранение» в работу ряда медицинских учреждений и активному сотрудничеству с ООО «Сибирский центр защиты информации», нам удалось сформировать обширную базу медицинских данных с правом их обработки. В результате появилась возможность осуществить интеллектуальный анализ данных с использованием методов машинного обучения.

Значительный интерес для практического здравоохранения представляют системы для диагностики заболеваний, поскольку высокая загруженность врачей или недостаточный практический опыт молодых специалистов ограничивает возможности принятия ими верных решений.

Кроме того, задачи диагностики, прогнозирования течения заболевания, выбора стратегии и тактики лечения требуют учета совокупности имеющейся информации о пациенте, без чего медицинские решения носят приблизительный, «неточный» характер [5].

По статистике, приведенной академиком А. Г. Чучалиным в докладе на II Национальном конгрессе терапевтов, каждый третий диагноз, который ставят российские врачи, неверен [6]. Значительное число ошибок при постановке диагнозов было выявлено и нами при анализе результатов диагностирования в нескольких медицинских учреждениях, которые являются пользователями нашего программного обеспечения. Анализ проводили как по отделениям учреждений (табл. 1), так и непосредственно по нозологическим диагнозам (табл. 2), путем определения доли несоответствий заключительного и предварительного диагнозов. Из этических соображений наименования данных медицинских учреждений в статье не приводятся.

От неверного предварительного диагноза страдают не только пациенты, которых лечат не от той болезни, но и сами медицинские учреждения, которые несут значительные финансовые затраты, поскольку Фонд обязательного медицинского страхования финансирует только лечение, соответствующее заключительному диагнозу.

В связи с этим при разработке интеллектуальной системы задача прогнозирования нозологического диагноза была выбрана нами в качестве приоритетной. Целью данной работы являлась проверка принципиальной возможности аналитической обработки имеющихся данных методами машинного обучения и определение точности прогнозирования, при которой модель машинного обучения может иметь практическую ценность, а также дальнейшее расширение функционала ПК «Здравоохранение».

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исходные данные

Для принятия медицинских решений могут использоваться разнообразные данные: анамнез, результаты клинического осмотра, лабораторных тестов и исследований с помощью сложных функциональных методов. При этом лабораторные исследования предоставляют, пожалуй, наиболее объективную информацию о состоянии здоровья пациента. Зачастую именно они позволяют выявить или подтвердить наличие той или иной патологии, когда сделать это иными методами не удается. Особенно актуально проведение лабораторной диагностики при определении таких форм нозологий, как различные анемии, липидемии, гепатиты, ревматоидный артрит серопозитивный и др.

В качестве исходной выборки для проведения машинного обучения мы отобрали случаи заболеваний с известными заключительными диагнозами. В качестве пространства информационных признаков выступали пол и возраст пациента, а также результаты различных лабораторных тестов, взятые из данных диспансеризации одной из поликлиник, которые были собраны в результате работы ПК «Здравоохранение» [7]. Из встречавшихся в медицинском учреждении случаев анализировали данные по 4 нозологическим формам (D50, E11, E74, E78), которые могут быть заподозрены и диагностированы с использованием данных лабораторных анализов. Структура выборки была следующей:

- железодефицитная анемия (D50) — 778 случаев (10 %);
- инсулиннезависимый сахарный диабет (E11) — 1 392 случая (17 %);
- другие нарушения обмена углеводов (E74) — 163 случая (2 %);
- нарушения обмена липопротеидов и другие липидемии (E78) — 5 585 случаев (71 %).

Итого в выборку включили 7 918 случаев с результатами 200 лабораторных тестов (анализы крови, урины, цитологическое исследование и т. д.) за 2005–2017 гг. Данные были получены от пациентов в возрасте 18–99 лет, в том числе 71 % женщин и 29 % мужчин. Часть результатов лабораторных тестов была представлена категориальными признаками «в норме», «ниже нормы», «выше нормы».

Выбор метода машинного обучения и метрики качества

Рассматриваемая задача прогнозирования диагноза по результатам лабораторных анализов представляет собой задачу многоклассовой классификации.

Анализ данных осуществляли с использованием Scikit-learn [8] — библиотеки для машинного обучения с открытым исходным кодом, написанной на языке программирования Python. В серии предварительных вычислительных экспериментов с использованием различных методов (нейронных сетей, решающих деревьев, градиентного бустинга) наилучший результат показал градиентный бустинг, который относится к методам последовательного построения композиции алгоритмов машинного обучения, когда каждый следующий алгоритм стремится компенсировать недостатки композиции всех предыдущих алгоритмов [9]. Считается, что градиентный бустинг над решающими деревьями — это один из самых универсальных и

Таблица 1. Доля ошибочных диагнозов в различных отделениях нескольких российских медицинских учреждений

Отделение	Доля ошибочных диагнозов, %		
	Учреждение 1	Учреждение 2	Учреждение 3
Пульмонологическое	76,80	39,28	–
Анестезиологии и реанимации	72,96	24,11	73,11
Кардиологические (несколько)	57,88	23,00	46,43
Терапевтическое	56,36	–	–
Гастроэнтерологическое	66,38	11,29	–
Травматологическое	32,19	–	60,64
Неврологическое	55,04	14,97	–
Урологическое	–	–	67,72

Таблица 2. Доля ошибочных диагнозов по нозологиям в нескольких российских медицинских учреждениях

Нозология	Доля ошибочных диагнозов, %
Нарушения обмена липопротеидов и другие липидемии	92,73
Холера	88,89
Нарушения обмена сфинголипидов и другие болезни накопления липидов	88,72
Иммунодефициты с преимущественной недостаточностью антител	83,33
Последствия других и неуточненных инфекционных и паразитарных болезней	80,00
Доказательство влияния алкоголя, определенного по его содержанию в крови	80,00
Юношеский (ювенильный) артрит при болезнях, классифицированных в других рубриках	75,00
Другие бактериальные болезни, не классифицированные в других рубриках	66,67
Лицо, находившееся в легковом автомобиле и пострадавшее при его столкновении с велосипедистом	66,67
Непереносимость лактозы	60,00
Перикардит при болезнях, классифицированных в других рубриках	60,00
Трихомоноз	50,00
Другие кишечные гельминтозы, не классифицированные в других рубриках	50,00
Вирусные агенты как возбудители болезней, классифицированных в других рубриках	50,00
Злокачественное новообразование губы	50,00
Карцинома in situ шейки матки	50,00
Недостаточность других элементов питания	50,00
Другие болезни внутреннего уха	50,00
Нарушения всасывания в кишечнике	50,00
Гипертрихоз	50,00
Другие поражения почки и мочеточника при болезнях, классифицированных в других рубриках	50,00
Существовавшая ранее гипертензия с присоединившейся протеинурией	50,00
Буллезный эпидермолиз	50,00
Неуточненная желтуха	50,00
Аномалия лейкоцитов, не классифицированная в других рубриках	50,00
Гликозурия	50,00
Другие отклонения от нормы, выявленные при исследовании мочи	50,00
Другие нарушения обмена углеводов	20,70
Железодефицитная анемия	13,90
Инсулиннезависимый сахарный диабет	3,240

эффективных методов машинного обучения, известных на сегодняшний день. При этом сами решающие деревья хорошо зарекомендовали себя в практике решения задач классификации.

Отдельное внимание уделяли выбору метрики для оценки качества алгоритма, учитывая специфику задачи и несбалансированность выборки данных. Рассматриваемые метрики будем описывать в терминах матрицы ошибок (confusion matrix) [9, 10] применительно к случаю многоклассовой классификации с использованием подхода Один-Против-Всех. Данный подход основан на сведении задачи многомерной классификации к серии бинарных задач, когда текущий рассматриваемый класс обозначается единицей, а все остальные классы относят к классу 0. Для каждого рассматриваемого класса i определяются следующие показатели:

• TP (true positive) — число истинноположительных, верно отнесенных к классу i примеров;

• TN (true negative) — число истинноотрицательных, верно не отнесенных к классу i примеров, отнесенных к некоторому другому классу $j \neq i$;

• FP (false positive) — число ложноположительных, ошибочно отнесенных к классу i примеров;

• FN (false negative) — число ложноотрицательных примеров, ошибочно отнесенных к некоторому другому классу $j \neq i$, в то время как истинный класс примеров — i.

Наиболее интуитивно понятная метрика качества accuracy — доля правильных ответов — оказывается неподходящей в случае несбалансированных выборок:

$$accuracy = \frac{TP + TN}{TP + TN + FP + FN}.$$

Поэтому чаще рассматривают другие метрики качества, такие как:

• точность (precision) — доля истинноположительных примеров от общего количества предсказанных положительных примеров. Иными словами, сколько из предсказанных положительных примеров оказались действительно положительными:

$$precision = \frac{TP}{TP + FP};$$

• полнота (recall) — доля истинноположительных примеров от общего количества фактически положительных примеров (размерности класса). Полноту еще называют долей истинно положительных примеров (true positive rate, TPR):

$$recall = \frac{TP}{TP + FN}.$$

Полнота используется в роли показателя качества модели машинного обучения, когда необходимо определить все положительные примеры, т. е. снизить количество ложноотрицательных примеров (FN) [10]. Поэтому данная

Таблица 3. Показатели качества построенной модели машинного обучения для прогнозирования диагнозов заболеваний

Диагноз	Метрика				Размерность тестовой выборки, число случаев
	ROC AUC	Recall (полнота)	Precision (точность)	Accuracy (доля верных ответов)	
D50 (железодефицитная анемия)	0,98	0,66	0,83	0,95	44
E11 (инсулиннезависимый сахарный диабет)	0,91	0,62	0,69	0,9	69
E74 (другие нарушения обмена углеводов)	0,89	0,21	0,6	0,97	14
E78 (нарушения обмена липопротеидов и другие липидемии)	0,94	0,96	0,89	0,89	318

метрика предпочтительна для решения задачи медицинской диагностики, когда важно не пропустить случай того или иного заболевания. Хотя она также достаточно понятна, она не всегда подходит для работы с несбалансированными выборками.

Еще один критерий, который был выбран в данной работе — это ROC AUC, рекомендуемый [10] для оценки качества моделей на несбалансированных данных. ROC AUC — это площадь (area under curve) под кривой ошибок ROC (receiver operating characteristic). Данная кривая представляет собой линию от (0,0) до (1,1) в координатах true positive rate (TPR) и false positive rate (доля ложноположительных примеров, FPR):

$$TPR = \frac{TP}{TP + FN},$$

$$FPR = \frac{FP}{FP + TN}.$$

Считается, что чем выше показатель ROC AUC, тем качественнее классификатор. При этом значение 0,5 демонстрирует непригодность выбранного метода классификации (соответствует случайному гаданию). Значение менее 0,5 говорит о том, что классификатор действует с точностью до наоборот: если положительные примеры назвать отрицательными, и наоборот, то классификатор будет работать лучше.

В связи с вышеизложенным в данной работе в роли основного показателя качества модели использовали метрику ROC AUC, но также обращали внимание на метрику recall.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Отобранные случаи заболеваний с представленными результатами лабораторных тестов были поделены на 2 выборки: обучающую (75 % случаев) и тестовую (25 % случаев). В результате построения модели методом градиентного бустинга для рассмотренных 4 нозологий (D50, E11, E74, E78) на тестовой выборке был достигнут показатель площади под кривой ошибок (ROC AUC), равный более чем 89 % (табл. 3). При этом средняя вероятность, с которой были правильно распознаны диагнозы в тестовой выборке, составила 92 %.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Достаточно высокие значения показателя ROC AUC (от 89 до 98 %) говорят о пригодности построенного классификатора к предсказанию выбранных диагнозов. При этом преимуществом проведенного исследования является рассмотрение совокупности данных: результатов лабораторных анализов (200 различных тестов) и таких признаков, как пол и возраст пациента. Сильной стороной проведенного анализа является также достаточно большой объем реальных данных — за 12 лет работы медицинского учреждения. Так, в работе [11] анализировали данные всего за 3 месяца работы госпиталя в Бостоне. В этом исследовании решали задачу предсказания результатов лабораторных тестов, а именно: содержания ферритина в крови. Как и в нашем случае, в роли метрики качества в работе [11] была выбрана площадь под кривой ошибок, которая составила 97 %. Тем не менее стоит отметить, что в соответствии с рядом работ [12–14] сосредоточение на конкретных нозологических диагнозах может позволить увеличить точность их предсказания. И, согласно работам [15, 16], для повышения качества моделей перспективны различные способы предобработки медицинских данных.

ВЫВОДЫ

Проведенное исследование показало принципиальную возможность анализа накопленных нами данных методами машинного обучения. В настоящее время ведется внедрение данной модели в работу программного комплекса «Здравоохранение» для использования во врачебной практике. Внедрение осуществляется путем создания веб-сервиса, в который будут поступать на анализ данные результатов лабораторных тестов по каждому случаю заболевания пациента, а веб-сервис будет возвращать в ПК «Здравоохранение» результат анализа в виде нескольких наиболее вероятных диагнозов, которые могут быть приняты во внимание лечащим врачом при дальнейшей работе с пациентом.

Ближайшими планами являются расширение перечня анализируемых нозологий и повышение качества моделей за счет построения отдельных моделей для каждого диагноза с учетом экспертной информации о нем с целью определения лабораторных анализов, оказывающих наибольшее влияние на результат моделирования. Это позволит сделать следующий шаг — разработать инструмент, предлагающий рекомендации относительно тех или иных лабораторных исследований для диагностирования различных заболеваний.

Главной целью начатой работы является переход к персонализированной медицине [17, 18]: анализ данных конкретного пациента, включающих не только результаты лабораторных исследований, но и анамнез и историю его заболеваний; использование искусственного интеллекта не только для прогнозирования диагноза, но и для формирования рекомендаций по назначению подходящего именно данному пациенту лечения. Достижение этой цели позволит снизить число врачебных ошибок и повысить значение профилактики заболеваний путем технологического наблюдения за пациентом.

Литература

1. Гусев А. В. Перспективы нейронных сетей и глубокого машинного обучения в создании решений для здравоохранения. Врач и информационные технологии. 2017; (3): 92–105.
2. Kononenko I. Machine learning for medical diagnosis: history, state of the art and perspective. Artificial Intelligence in Medicine. 2001; 23(1): 89–109.
3. Бледжянц Г. А., Саркисян М. А., Исакова Ю. А., Туманов Н. Ф., Попов А. Н., Бегмуродова Н. Ш. Ключевые технологии формирования искусственного интеллекта в медицине. Ремедиум. Журнал о российском рынке лекарств и медицинской технике. 2015; (12): 10–5.
4. Машинное обучение поможет врачам принимать более информированные решения. Телемедицина.ru [Интернет]. Сентябрь 2017 г. [процитировано 4 сентября 2017 г.]. Доступно по ссылке: https://telemedicina.ru/news/equip/mashinnoe-obuchenie-pomojet-vracham-prinimat-bolee-informirovannyie-resheniya.
5. Жариков О. Г., Мещеряков Ю. В., Литвин А. А. Нейросетевые технологии в медицине. Вопросы организации и информатизации здравоохранения. 2007; 4 (53): 59–63.
6. Головачев В. Ошибочный диагноз. Газета «Труд». 28 октября 2014 г.
7. Коротаев И. Г., Чернухин Г. А., авторы; ООО «КОМТЕК», правообладатель. Программный комплекс «Здравоохранение». Свидетельство об официальной регистрации программы для ЭВМ № 2007613347 от 09.08.2007.
8. Pedregosa F, Varoquaux G, Gramfort A, Michel V, Thirion B, Grisel O et al. Scikit-learn: Machine Learning in Python. Journal of Machine Learning Research. 2011; 12: 2825–30.
9. Shalev-Shwartz S, Ben-David S. Understanding Machine Learning: From Theory to Algorithms. New York: Cambridge University Press; 2014. 410 p.
10. Müller AC, Guido S. Introduction to Machine Learning with Python: A Guide for Data Scientists. 1st ed. O'Reilly Media; 2016. 285 p.
11. Luo Y, Szolovits P, Dighe AS, Baron JM. Using Machine Learning to Predict Laboratory Test Results. Am J Clin Pathol. 2016 Jun; 145 (6): 778–88. DOI: 10.1093/ajcp/aqw064.
12. Хливненко Л. В., Пятакович Ф. А. Вариант построения системы коллективного человеко-машинного интеллекта для обработки больших данных в медицине. Здоровье и образование в XXI веке. 2016; 18 (12): 141–4.
13. Биленко А. А., Рыбкин С. В. Применение алгоритмов машинного обучения для определения высокого риска сахарного диабета 1 типа. Электронный журнал: наука, техника и образование. 2017; 1 (10): 44–9.
14. Tseng CJ, Lu CJ, Chang CC, Chen GD, Cheewakriangkrai C. Integration of data mining classification techniques and ensemble learning to identify risk factors and diagnose ovarian cancer recurrence. Artif Intell Med. 2017; (78): 47–54.
15. Oniśko A, Druzdzel MJ. Impact of precision of Bayesian network parameters on accuracy of medical diagnostic systems. Artif Intell Med. 2013 Mar; 57 (3): 197–206. DOI: 10.1016/j.artmed.2013.01.004.
16. Khajehali N, Alizadeh S. Extract critical factors affecting the length of hospital stay of pneumonia patient by data mining (case study: an Iranian hospital). Artif Intell Med. 2017 Nov; 83: 2–13. DOI: 10.1016/j.artmed.2017.06.010.
17. Weiss JC, Natarajan S, Peissig PL, McCarty CA, Page D. Machine Learning for Personalized Medicine: Predicting Primary Myocardial Infarction from Electronic Health Records. AI Magazine. 2012; 33 (4): 33–45.
18. Futoma J, Sendak M, Cameron B, Heller K. Predicting Disease Progression with a Model for Multivariate Longitudinal Clinical Data. In: Proceedings of the 1st Machine Learning for Healthcare Conference; 2016 Aug 19-20; Children's Hospital LA, USA; 2016; (56): 42–54.

References

1. Gusev AV. [Perspectives of neural networks, and deep machine learning to create solutions for healthcare]. Doctor and information technologies. 2017; (3): 92–105. Russian.
2. Kononenko I. Machine learning for medical diagnosis: history, state of the art and perspective. Artificial Intelligence in Medicine. 2001; 23(1): 89–109.
3. Bledzhiants GA, Sarkisian MA, Isakova IA, Tumanov NF, Popov AN, Begmurodova NS. [The key technologies of artificial intelligence in medicine]. Remedium. Magazine about the Russian market of medicines and medical equipment. 2015; (12): 10–5. Russian.
4. [Machine learning helps physicians to make more informed decisions]. Telemedicina.ru [Internet]. 2017 Sep. [cited 2017 Sep 4]. Available from: https://telemedicina.ru/news/equip/mashinnoe-obuchenie-pomojet-vracham-prinimat-bolee-informirovannyie-resheniya. Russian.
5. Zharikov OG, Meshcherikov IV, Litvin AA. [Neuronet technologies in medicine]. The issues of organization and Informatization of healthcare. 2007; 4 (53): 59–63. Russian.
6. Golovachev V. Oshibochniy diagnoz. Trud. 2014 Oct 28. Russian.
7. Korotaev IG, Chernukhin GA, the authors; COMTEK Ltd., assignee. Software complex «Healthcare». The certificate of official registration program for computer 2007613347. 2007 Aug 9.
8. Pedregosa F, Varoquaux G, Gramfort A, Michel V, Thirion B, Grisel O et al. Scikit-learn: Machine Learning in Python. Journal of Machine Learning Research. 2011; 12: 2825–30.
9. Shalev-Shwartz S, Ben-David S. Understanding Machine Learning: From Theory to Algorithms. New York: Cambridge University Press; 2014. 410 p.
10. Müller AC, Guido S. Introduction to Machine Learning with Python: A Guide for Data Scientists. 1st ed. O'Reilly Media; 2016. 285 p.
11. Luo Y, Szolovits P, Dighe AS, Baron JM. Using Machine Learning to Predict Laboratory Test Results. Am J Clin Pathol. 2016 Jun; 145 (6): 778–88. DOI: 10.1093/ajcp/aqw064.
12. Khlivnenko LV, Piatakovich FA. [The option of constructing the system of collective human-machine intelligence for big data processing in medicine]. Health and Education Millenium. 2016; 18 (12): 141–4. Russian.
13. Bilenko AA, Rybkin SV. [The application of machine learning algorithms to identify high risk diabetes type 1 diabetes]. E-magazine: science, technology and education. 2017; 1 (10): 44–9. Russian.
14. Tseng CJ, Lu CJ, Chang CC, Chen GD, Cheewakriangkrai C. Integration of data mining classification techniques and ensemble learning to identify risk factors and diagnose ovarian cancer recurrence. Artif Intell Med. 2017; (78): 47–54.
15. Oniśko A, Druzdzel MJ. Impact of precision of Bayesian network parameters on accuracy of medical diagnostic systems. Artif Intell Med. 2013 Mar; 57 (3): 197–206. DOI: 10.1016/j.artmed.2013.01.004.
16. Khajehali N, Alizadeh S. Extract critical factors affecting the length of hospital stay of pneumonia patient by data mining (case study: an Iranian hospital). Artif Intell Med. 2017 Nov; 83: 2–13. DOI: 10.1016/j.artmed.2017.06.010.
17. Weiss JC, Natarajan S, Peissig PL, McCarty CA, Page D. Machine Learning for Personalized Medicine: Predicting Primary Myocardial Infarction from Electronic Health Records. AI Magazine. 2012; 33 (4): 33–45.
18. Futoma J, Sendak M, Cameron B, Heller K. Predicting Disease Progression with a Model for Multivariate Longitudinal Clinical Data. In: Proceedings of the 1st Machine Learning for Healthcare Conference; 2016 Aug 19-20; Children's Hospital LA, USA; 2016; (56): 42–54.

ХАРАКТЕРИСТИКИ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ ПЛАСТИЧЕСКИХ ХИРУРГОВ

Н. Е. Мантурова[1], В. В. Кочубей[2] ✉, А. В. Кочубей[3]

[1] Кафедра пластической, реконструктивной хирургии, косметологии и клеточных технологий, факультет дополнительного профессионального образования, Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва

[2] Кафедра факультетской хирургии № 1, лечебный факультет, Московский государственный медико-стоматологический университет имени А. И. Евдокимова, Москва

[3] Кафедра общественного здоровья и здравоохранения, Институт повышения квалификации Федерального медико-биологического агентства, Москва

Вводимая периодическая аккредитация не гарантирует поддержание одинаково высокого уровня квалификации врачей-хирургов, так как утвержденный формат портфолио не содержит требований к спектру и объему оперативных вмешательств. Целесообразность введения подобных требований можно обосновать, изучая деятельность пластических хирургов по сведениям отчетов о медицинских услугах по пластической хирургии, оказанных в медицинской организации частной системы здравоохранения, имеющей лицензию на выполнение работ и услуг по пластической хирургии в амбулаторных и стационарных условиях. В ходе анализа отчетов был проведен расчет коэффициента вариации, критериев Колмогорова–Смирнова, Манна–Уитни, Краскела–Уоллиса, коэффициента Спирмена. Статистически значимыми считали значения при $p < 0,05$. Оперативные вмешательства были разделены по 9 трудовым функциям: пластика покровных тканей; пластика носа; молочных желез (груди); век; наружного уха; губ и неба; краниофациальная пластика, урогенитальная пластика, хирургия кисти. Средний объем оперативных вмешательств по профилю составил 112,3 ± 326,4 на одного врача при Mo = 1. Причем 30,4 % хирургов выполнили за год 1–10 оперативных вмешательств. Ни один хирург не выполнял оперативные вмешательства по всем 9 трудовым функциям, а также по хирургии кисти. Спектр и объем оперативных вмешательств не зависит от категории или ученой степени ($r_S = –0,8$, $p = 0,2$ и $r_S = –0,2$, $p = 0,8$). Пластика покровных тканей составляет 51,1 % всех оказанных услуг. На одно оперативное вмешательство приходится 0,017 услуг по послеоперационному ведению.

Ключевые слова: пластическая хирургия, портфолио пластического хирурга, аккредитация пластического хирурга, непрерывное медицинское образование

✉ **Для корреспонденции:** Кочубей Валентин Владимирович
ул. Делегатская, д. 20/1, г. Москва, 127473; kochoubey@gmail.com

Статья получена: 28.11.2017 **Статья принята к печати:** 15.12.2017

A FEW ASPECTS OF PLASTIC SURGEONS' PERFORMANCE

Manturova NE[1], Kochubey VV[2] ✉, Kochubey AV[3]

[1] Department of Plastic and Reconstructive Surgery, Cosmetology and Cell Technologies, Faculty of Continuous Professional Education, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

[2] Department of Surgery No.1, Faculty of General Medicine, Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russia

[3] Department of Public Health and Healthcare, Institute of Continuous Professional Education of the Federal Medical and Biological Agency, Moscow, Russia

In spite of accreditation programs, levels of professional skills vary among plastic surgeons: there are no requirements for the diversity and number of performed surgical interventions that a surgeon can specify in his/her portfolio. Rationale for elaborating such requirements can be explored by studying service reports of private medical practices certified to provide plastic surgery services to their in- and outpatients. In the course of out study we analyzed such reports using different statistical tools, including the variation coefficient, the Kolmogorov–Smironov, Mann–Whitney U and Kruskal–Wallis tests, and Spearman's correlation coefficient. Differences were considered statistically significant at $p < 0.05$. Surgical interventions were divided into 9 categories: skin/soft tissue plasty, rhinoplasty, breast plasty, blepharoplasty, otoplasty, lip and palate repair, craniofacial plasty, repair of urogenital defects, and hand surgery. On average, each surgeon performed a total of 112.3 ± 326.4 surgeries (Mo = 1). About 30.4 % of surgeons performed 1 to 10 interventions a year. None of the surgeons performed all types of interventions and hand surgery. We found that the diversity and number of interventions performed by a surgeon does not depend on the qualification or academic title ($r_S = –0.8$, $p = 0.2$ and $r_S = –0.2$, $p = 0.8$, respectively). Skin/soft tissue repair accounted for 51.1 % of all services provided by private medical practices. The number of post-operative treatment services was 0.017 per surgery.

Keywords: plastic surgery, plastic surgeon portfolio, plastic surgeon accreditation, continuous medical education

✉ **Correspondence should be addressed:** Valentin Kochubey
ul. Delegatskaya, d. 20/1, Moscow, Russia, 127473; kochoubey@gmail.com

Received: 28.11.2017 **Accepted:** 15.12.2017

Несмотря на молодой возраст специальности «пластическая хирургия» деятельность пластических хирургов подвергается суровой критике, ряд исследований отмечают низкую квалификацию специалистов [1]. Пластическая хирургия как деятельность относится к медицинской, должна оказываться в медицинских организациях [2]. Для обеспечения качества и безопасности медицинской деятельности данные организации, независимо от

юридическо-правовой формы, обязаны соблюдать требования, предъявляемые к подобной деятельности, вести персонифицированный учет, проводить внутренний контроль, они также подвергаются государственному, ведомственному контролям относительно показателей качества деятельности и систем оценки деятельности медицинских работников [3]. В условиях преобладающего существования пластической хирургии в секторе частной системы здравоохранения и практически абсолютном ее финансировании за счет личных средств граждан все виды контроля качества и безопасности медицинской деятельности должны быть усилены [4]. Парадоксально, но о качестве услуг в сфере пластической хирургии чаще вспоминают при обнаружении случаев нанесения вреда здоровью или жизни пациента [5]. При этом публикации о таких случаях подрывают общественное мнение относительно качества и безопасности всей пластической хирургии.

В основе обеспечения качества медицинской помощи по пластической хирургии лежат порядки оказания медицинской помощи по видам, профилям, отдельным заболеваниям и состояниям, а также стандарты медицинской помощи [6]. Порядок оказания медицинской помощи по пластической хирургии утвержден и является единым для всех медицинских организаций на территории Российской Федерации [7]. Он определяет организационно-функциональную структуру профильных подразделений (учреждений). Квалификацию пластического хирурга, как и врачей иных специальностей, подтверждает сертификат специалиста. Однако существующий процесс сертификации врачей давно вызывает нарекания со стороны профессионального сообщества [8]. Вновь создаваемая система аккредитации должна обеспечить не только факт непрерывного медицинского образования врача, но и одинаково высокий уровень квалификации специалистов [9], так как при успешном ее прохождении пластический хирург получает полный доступ к деятельности по специальности, а не к ее части. Важную роль в аккредитации играет портфолио специалиста, который должен отражать успехи врача в расширении квалификации и совершенствовании профессиональных навыков. Правда, существующий сегодня формат портфолио, в том числе для пластического хирурга, не содержит требований к внесению информации о спектре и объеме оперативных вмешательств или тематике освоенных программ повышения квалификации [10]. Отсутствие единых требований к портфолио низводит ценность аккредитации как инструмента обеспечения одинаково высокого уровня квалификации пластических хирургов. В этой связи целью настоящего исследования стало изучение спектра и объема деятельности пластических хирургов, дабы обосновать необходимость единых требований к портфолио для этой категории специалистов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для достижения поставленной цели было проведено обсервационное описательное продольное исследование. Источником первичной информации послужили отчеты о деятельности медицинской организации частной системы здравоохранения, имеющей лицензию на осуществление медицинской деятельности, в том числе на выполнение работ и услуг по пластической хирургии в амбулаторных и стационарных условиях. Отчеты содержали сведения о количестве и перечне медицинских услуг, выполненных сотрудниками организации за год. Для исследования были отобраны сведения, касающиеся медицинских услуг, относящихся к области пластической хирургии. Так как рассчитанный коэффициент вариации V = 257,2 %, что выше 33 %, свидетельствует о неоднородности изучаемой совокупности, а критерий Колмогорова–Смирнова подтверждает, что распределение является неравномерным ($p < 0,001$), оценку различий между двумя выборками по уровню количественно измеренного признака проводили расчетом U-критерия Манна–Уитни, и при $p < 0,05$ превышение считали статистически значимым. Корреляция между признаками подтверждалась расчетом коэффициента Спирмена (r_S), если эмпирическое значение r_S было выше критического для $p = 0,05$ и при $p < 0,05$. Сравнение различий уровня признака между множеством групп определяли с помощью критерия Краскела–Уоллиса (K) и считали статистически значимым при $p < 0,05$. Статистическая обработка данных проводилась с использованием программного продукта Microsoft Excel 2016 «Пакет анализа» и программы IBM SPSS Statistics 23.

Перечень трудовых функций специалиста в области пластической хирургии был сформирован в рамках иного продолжающегося собственного исследования и включал 9 трудовых функций: пластика покровных тканей, пластика носа, молочных желез (груди), век, наружного уха, губ и неба, краниофациальная пластика, урогенитальная пластика, хирургия кисти.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Общий объем работ, который выполнили за год 46 врачей пластических хирургов, составил 5184 медицинские услуги, в среднем 112,7 ± 289,9 услуги на одного врача. Наименьшее число выполненных услуг составило 1, наибольшее — 1760, Mo = 2, Me = 10. Причем 36 (78,3 %) сотрудников выполняют в год не более среднего числа услуг, и только 10 (21,7 %) — более 112. Вообще, 4329 (83,5 %) выполненных медицинских услуг за год — результат работы 7 (15,2 %) сотрудников.

Все выполненные медицинские услуги были разделены по 9 трудовым функциям пластического хирурга. Из общего числа медицинских услуг на первом месте стоит пластика покровных тканей, на нее приходится более половины (51,1 %) оказанных услуг. На втором месте со значительным отрывом находится пластика век (5,7 %), на третьем — пластика носа (2,8 %). Оперативные вмешательства, которые можно отнести к трудовой функции «хирургия кисти», не выполнял ни один сотрудник за рассматриваемый годовой период (табл. 1).

Таблица 1. Распределение выполненных оперативных вмешательств по функции

Трудовая функция	Абс.	%
Пластика покровных тканей	2 649	51,1
Пластика век	294	5,7
Пластика носа	147	2,8
Пластика молочных желез (груди)	131	2,5
Пластика наружного уха	41	0,8
Урогенитальная пластика	14	0,3
Краниофациальная пластика	9	0,2
Пластика губ и неба	8	0,2
Хирургия кисти	0	0
Иное	1 891	36,5
Итого	5 184	100

К категории «иное» были отнесены следующие медицинские услуги: первичный прием и консультация пластического хирурга, наложение асептической повязки сложной, обработка и перевязка чистых ран, послеоперационный осмотр врача пластического хирурга, снятие послеоперационных швов (пациентам других учреждений). Они составили 36,5 % общего объема оказанных услуг. Надо отметить, что 1820 услуг (35,1 % общего объема) из категории «иное» приходится на первичный прием или консультацию пластического хирурга. То есть, на 1 первичный прием/консультацию пластического хирурга приходится 1,8 медицинских инвазивных, включая оперативные, вмешательств. Общее количество таких услуг, как обработка и перевязка чистых ран, наложение асептической повязки сложной, а также послеоперационный осмотр пластического хирурга, составило 55 (1,1 % общего объема). Таким образом, на 1 оперативное вмешательство приходится только 0,017 услуг, связанных с послеоперационным ведением пациента.

В целом из 5184 медицинских услуг к оперативным вмешательствам можно было отнести 3145, в среднем 112,3 ± 326,4 на одного врача специалиста в области пластической хирургии в год, Mo = 1, Me = 8. Наименьшее число выполненных оперативных вмешательств в год составило 1, наибольшее — 1758. Из 46 сотрудников 14 (30,4 %) выполнили за год от 1 до 10 оперативных вмешательств, 4 (8,7 %) — от 14 до 50, 6 (13,0 %) — от 64 до 134, 2 (4,3 %) — более 200, 1 (2,2 %) — 1758 оперативных вмешательств за год. Из врачей, оказывавших медицинские услуги, 19 (41,3 %) человек не выполнили за год ни одного оперативного вмешательства.

Если рассматривать выполнение трудовых функций пластическими хирургами, то большинство из них (19 человек из 46) выполняли пластику покровных тканей, по 14 человек — пластику носа и век, по 9 человек — пластику молочных желез (груди) и наружного уха, по 3 сотрудника — краниофацильную и урогенитальную пластику, и 2 хирурга — пластику губ. Ни один из сотрудников не выполнил за год вмешательств, которые относились бы ко всем 9 трудовым функциям. Один сотрудник выполнил в течение года оперативные вмешательства по 7 трудовым функциям, 1 — по 6 трудовым функциям, по 3 врача — по 5, 3 и 2 функциям, 4 — по 4 функциям, и 13 сотрудников — по 1 трудовой функции. В табл. 2 представлены данные о числе оперативных вмешательств по основным категориям сотрудников центра.

Расчет коэффициента Спирмена показал, что между средним числом трудовых функций и уровнем профессионализма пластических хирургов нет статистически значимой связи (r_S = –0,8, p = 0,2), как и между средним числом выполняемых оперативных вмешательств и уровнем профессионализма пластических хирургов (r_S = –0,2, p = 0,8). Вообще, сравнение среднего числа выполняемых трудовых функций разными группами пластических хирургов, как и среднего числа оперативных вмешательств не обнаружило статистически значимой разницы (K = 1,27, p = 0,2 и K = 1,9, p = 0,5 соответственно). Вместе с тем превышение среднего числа операций ($U_{эмп}$ = 46,5, p < 0,014) и трудовых функций ($U_{эмп}$ = 72,5, p < 0,017), выполняемых пластическими хирургами, относительно хирургов других специальностей статистически значимо.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Анализ отчетов о деятельности в области пластической хирургии показал, что оперативные вмешательства в области пластической хирургии ведут не только пластические хирурги, но и хирурги иных специальностей, например, челюстно-лицевые хирурги, хирурги, оториноларингологи, офтальмологи, травматологи, гинекологи и др. При этом спектр их деятельности ограничен собственной узкой специализацией и среднее число оперативных вмешательств значимо меньше ($U_{эмп}$ = 46,5, p < 0,014), чем у пластических хирургов. Подобное вторжение врачей иных специальностей в пластическую хирургию обусловлено особенностями правового регулирования медицинской помощи по данному профилю [5]. Действительно, приказом Минздрава России от 30.10.2012 № 555н разрешено оказывать специализированную медицинскую помощь по профилю «пластическая хирургия» врачам «хирургического профиля, прошедшим тематическое усовершенствование по соответствующему (профильному) разделу пластической хирургии». Однако, на наш взгляд, данная норма требует пересмотра с учетом полученных сведений о крайне низком среднем числе оперативных вмешательств в год хирургов иных специальностей в области пластической хирургии, а также данных литературных источников о значительно меньшем числе доказанных случаев ошибок врачей с конкретной квалификацией по сравнению с врачами без нее [11–13].

Мы обнаружили, что в структуре медицинских услуг существенно преобладают услуги, связанные с пластикой покровных тканей, что свидетельствует о направленности деятельности в сторону эстетической пластической хирургии. Таким образом, множество пластических хирургов, работающих много лет исключительно в области эстетической хирургии, теряют полученные при подготовке навыки в области реконструктивной хирургии. Учитывая, что сертификат дает специалисту право доступа ко всем разделам пластической хирургии, следует либо внести требования к выполнению установленного объема реконструктивных операций в портфолио, либо предусмотреть ограниченный допуск в реконструктивной пластической хирургии посредством дискретного обучения [14].

Вообще, дискретный допуск к осуществлению деятельности по специальности «пластическая хирургия» может

Таблица 2. Оперативная деятельность сотрудников разных категорий

Показатель	Пластические хирурги				Иные хирургические специальности
	без категории и степени	высшая категория	к. м. н.	д. м. н.	
Среднее число трудовых функций	3,2	3,5	2,4	1,8	0,4
	2,7 ± 1,9				
Общее число оперативных вмешательств	442	301	2222	148	32
Среднее число оперативных вмешательств	88,4 ± 88,0	100,3 ± 4,6	246,9 ± 543,7	37 ± 57,2	4,6 ± 4,2
	129,7 ± 370,0				

быть реализован в рамках новой системы аккредитации. Причем полученные данные об ограниченном спектре выполняемых медицинских услуг пластическими хирургами, в среднем 2,7 трудовые функции относительно существующих 9 областей пластической хирургии, подтверждают необходимость и востребованность [15] дискретного допуска к профессиональной деятельности.

Обращают на себя внимание данные о частоте первичных приемов/консультаций и послеоперационных осмотров относительно общего числа оперативных вмешательств.

Учитывая, что не каждый первичный прием заканчивается оперативным вмешательством, столь значительное превышение числа операций над числом первичных приемов можно объяснить либо проведением консультаций в предыдущие годы, что говорит о длительном периоде принятия решения пациентом, либо определением показаний к нескольким операциям во время одной первичной консультации.

Особое беспокойство вызывает парадоксально низкое число услуг, связанных с послеоперационным ведением пациента, — 0,017 на 1 оперативное вмешательство. При этом неадекватность послеоперационного ведения, как и недооценку состояния пациента и факторов риска, относят к медицинским ошибкам в эстетической хирургии, влияющим на качество оказываемой помощи [16–18].

Интересно, что спектр выполняемых трудовых функций в области пластической хирургии и количество оперативных вмешательств в год не зависит от категории или ученой степени врача. Однако меньшие спектр и количество оперативных вмешательств у доктора медицинских наук, в отличие от иных категорий пластических хирургов, косвенно свидетельствуют об уходе из клинической деятельности в научно-педагогическую. В этой связи периодическая аккредитация будет служить действенным стимулом для непрерывного совершенствования практических навыков [19].

ВЫВОДЫ

Полученные данные подтверждают необходимость внесения изменений в нормативные документы, регулирующие оказание медицинской помощи по пластической хирургии, а также подготовку и профессиональное развитие пластического хирурга. Учитывая, что исследование было проведено на базе одной медицинской организации, необходимо продолжить изучение деятельности пластических хирургов в других медицинских учреждениях частной и государственной систем здравоохранения. Это позволит получить более точные сведения и предложить рациональные направления развития пластической хирургии в нашей стране.

Литература

1. Шолом Е. А. Договор возмездного оказания косметологических услуг [диссертация]. Саратов: СГАП; 2010. 187 с.
2. Федеральный закон от 21.11.2011 № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации». Ст. 2 «Основные понятия, используемые в настоящем Федеральном законе».
3. Федеральный закон от 21.11.2011 № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации». Ст. 87 «Контроль качества и безопасности медицинской деятельности».
4. Parikh RP, Snyder-Warwick A, Naidoo S, Skolnick GB, Patel KB. Impact of an Event Reporting System on Resident Complication Reporting in Plastic Surgery Training: Addressing an ACGME and Plastic Surgery Milestone Project Core Competency. Plast Reconstr Surg. 2017 Nov; 140 (5): 736e–45e. doi: 10.1097/PRS.0000000000003771
5. Гришин С. М. Дефекты медицинских услуг в пластической хирургии. Медицина. 2016; (1): 34–40.
6. Федеральный закон от 21.11.2011 № 323-ФЗ «Об основах охраны здоровья граждан в Российской Федерации». Ст. 37 «Порядки оказания медицинской помощи и стандарты медицинской помощи».
7. Приказ Министерства здравоохранения РФ от 30 октября 2012 г. № 555н «Об утверждении Порядка оказания медицинской помощи по профилю «пластическая хирургия».
8. Комаров Ю. М. О подготовке врачебных кадров в Российской Федерации. Медицина. 2013; (3): 1–11.
9. Петрова И. А. Аккредитация медицинских работников: польза и риски. Бюл. Нац. НИИ обществ. здоровья им. Н. А. Семашко. 2015; (4–5): 180–6.
10. Кочубей В. В. Профессиональное лицензирование и сертификация пластических хирургов за рубежом. Моск. хир. журн. 2016; 51 (5): 16–8.
11. Güven A, Kols K, Fischer K, Schönberger M, Allert S. [Does the hand solely belong in the hands of a qualified hand surgeon?] Handchir Mikrochir Plast Chir. 2017 Sep; 49 (4): 251–6. doi: 10.1055/s-0043-118599. German.
12. Brüser P. [Treatment errors in hand surgery. Comparison criteria for education in hand surgery and additional training in hand surgery based on error statistics of Chamber of Medicine, North Rhine-Westphalia]. Handchir Mikrochir Plast Chir. 2011 Feb; 43 (1): 9–14. doi: 10.1055/s-0030-1269903. German.
13. Hanke CW, Moy RL, Roenigk RK, Roenigk HH Jr, Spencer JM, Tierney EP, et al. Current status of surgery in dermatology. J Am Acad Dermatol. 2013 Dec; 69 (6): 972–1001. doi: 10.1016/j.jaad.2013.04.067
14. Федеральный закон от 29.12.2012 № 273-ФЗ «Об образовании в Российской Федерации». Ст. 82, ч. 11.
15. McNichols CHL, Diaconu S, Alfadil S, Woodall J, Grant M, Lifchez S, et al. Cosmetic Surgery Training in Plastic Surgery Residency Programs. Plast Reconstr Surg Glob Open. 2017 Sep 26; 5 (9): e1491. doi: 10.1097/GOX.0000000000001491
16. Jewell ML. Medical Errors and Aesthetic Plastic Surgery. Aesthet Surg J. 2003 Mar; 23 (2): 108–9. doi: 10.1067/maj.2003.27
17. Seretis K, Goulis D, Demiri EC, Lykoudis EG. Prevention of Seroma Formation Following Abdominoplasty: A Systematic Review and Meta-Analysis. Aesthet Surg J. 2017 Mar 1; 37 (3): 316–23. doi: 10.1093/asj/sjw192
18. Allert S, Flechtner C, Vogt PM, Herold C. [What went wrong? Analysis of Medical Malpractice Arbitration Proceedings Conducted by a German Arbitration Board after Breast Reductions]. Handchir Mikrochir Plast Chir. 2016 Apr; 48 (2): 101–7. doi: 10.1055/s-0042-103586. German.
19. Приказ Минздрава России от 02.06.2016 № 334н «Об утверждении Положения об аккредитации специалистов».

References

1. Sholom EA. Dogovor vozmezdnogo okazaniya kosmetologicheskikh uslug [dissertation]. Saratov: SSLA; 2010. 187 p. Russian.
2. Federal'nyy zakon ot 21.11.2011 N 323-FZ “Ob osnovakh okhrany zdorov'ya grazhdan v Rossiyskoy Federatsii”. Stat'ya 2 “Osnovnye ponyatiya, ispol'zuemye v nastoyashchem Federal'nom zakone”.

Federal law of the Russian Federation. Article 2. Russian.
3. Federal'nyy zakon ot 21.11.2011 N 323-FZ “Ob osnovakh okhrany zdorov'ya grazhdan v Rossiyskoy Federatsii”. Stat'ya 87. “Kontrol' kachestva i bezopasnosti meditsinskoy deyatel'nosti”. Federal law of the Russian Federation. Article 87. Russian.
4. Parikh RP, Snyder-Warwick A, Naidoo S, Skolnick GB, Patel KB. Impact of an Event Reporting System on Resident Complication Reporting in Plastic Surgery Training: Addressing an ACGME and Plastic Surgery Milestone Project Core Competency. Plast Reconstr Surg. 2017 Nov; 140 (5): 736e–45e. doi: 10.1097/PRS.0000000000003771
5. Grishin SM. [Defective Medical Services in Plastic Surgery]. Meditsina. 2016; (1): 34–40. Russian.
6. Federal'nyy zakon ot 21.11.2011 N 323-FZ “Ob osnovakh okhrany zdorov'ya grazhdan v Rossiyskoy Federatsii”. Stat'ya 37. “Poryadki okazaniya meditsinskoy pomoshchi i standarty meditsinskoy pomoshchi”. Federal law of the Russian Federation. Article 37. Russian.
7. Prikaz Ministerstva zdravookhraneniya RF ot 30 oktyabrya 2012 g. N 555n “Ob utverzhdenii Poryadka okazaniya meditsinskoy pomoshchi po profilyu “plasticheskaya khirurgiya”. Order of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation. Russian.
8. Komarov JM. [On Training of Medical Staff in Russian Federation]. Meditsina. 2013; (3): 1–11. Russian.
9. Petrova IA. [Accreditation of medical professinals: the debefits and risks]. Byulleten' Natsional'nogo nauchno-issledovatel'skogo instituta obshchestvennogo zdorov'ya imeni N. A. Semashko. 2015; (4–5): 180–6. Russian.
10. Kochubey VV. Professional'noe litsenzirovanie i sertifikatsiya plasticheskikh khirurgov za rubezhom. Moskovskiy khirurgicheskiy zhurnal. 2016; 51 (5): 16–8. Russian.
11. Güven A, Kols K, Fischer K, Schönberger M, Allert S. [Does the hand solely belong in the hands of a qualified hand surgeon?] Handchir Mikrochir Plast Chir. 2017 Sep; 49 (4): 251–6. doi: 10.1055/s-0043-118599. German.
12. Brüser P. [Treatment errors in hand surgery. Comparison criteria for education in hand surgery and additional training in hand surgery based on error statistics of Chamber of Medicine, North Rhine-Westphalia]. Handchir Mikrochir Plast Chir. 2011 Feb; 43 (1): 9–14. doi: 10.1055/s-0030-1269903. German.
13. Hanke CW, Moy RL, Roenigk RK, Roenigk HH Jr, Spencer JM, Tierney EP, et al. Current status of surgery in dermatology. J Am Acad Dermatol. 2013 Dec; 69 (6): 972–1001. doi: 10.1016/j.jaad.2013.04.067
14. Federal'nyy zakon ot 29.12.2012 N 273-FZ “Ob obrazovanii v Rossiyskoy Federatsii”. Stat'ya 82, chast' 11. Federal law of the Russian Federation. Article 82, part 11. Russian.
15. McNichols CHL, Diaconu S, Alfadil S, Woodall J, Grant M, Lifchez S, et al. Cosmetic Surgery Training in Plastic Surgery Residency Programs. Plast Reconstr Surg Glob Open. 2017 Sep 26; 5 (9): e1491. doi: 10.1097/GOX.0000000000001491
16. Jewell ML. Medical Errors and Aesthetic Plastic Surgery. Aesthet Surg J. 2003 Mar; 23 (2): 108–9. doi: 10.1067/maj.2003.27
17. Seretis K, Goulis D, Demiri EC, Lykoudis EG. Prevention of Seroma Formation Following Abdominoplasty: A Systematic Review and Meta-Analysis. Aesthet Surg J. 2017 Mar 1; 37 (3): 316–23. doi: 10.1093/asj/sjw192
18. Allert S, Flechtner C, Vogt PM, Herold C. [What went wrong? Analysis of Medical Malpractice Arbitration Proceedings Conducted by a German Arbitration Board after Breast Reductions]. Handchir Mikrochir Plast Chir. 2016 Apr; 48 (2): 101–7. doi: 10.1055/s-0042-103586. German.
19. Prikaz Minzdrava Rossii ot 02.06.2016 N 334n “Ob utverzhdenii Polozheniya ob akkreditatsii spetsialistov”. Order of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation. Russian.

РАК МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ: АНАЛИЗ СПЕКТРА СОМАТИЧЕСКИХ ДРАЙВЕРНЫХ МУТАЦИЙ С ПРИМЕНЕНИЕМ ВЫСОКОПРОИЗВОДИТЕЛЬНОГО СЕКВЕНИРОВАНИЯ

К. Ю. Цуканов[1], А. Ю. Красненко[1], Д. О. Коростин[1], А. В. Чуров[2], И. Ф. Стеценко[1], Н. А. Плотников[1], С. А. Зарубина[3], В. А. Белова[3], А. В. Ковыршина[3], И. К. Воротников[4], А. А. Мещеряков[4], В. В. Ильинский[5,3,1] ✉

[1] ООО «Генотек», Москва

[2] Карельский научный центр Российской академии наук, Петрозаводск

[3] Институт общей генетики имени Н. И. Вавилова РАН, Москва

[4] Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н. Н. Блохина, Москва

[5] Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В. Н. Ореховича, Москва

Рак молочной железы (РМЖ) представляет собой одну из наиболее распространенных форм злокачественных опухолей. Развитие новых подходов к скринингу генетических изменений у больных с опухолями молочной железы поможет значительно снизить общую высокую смертность от рака этого типа и повысить эффективность противоопухолевой терапии. Целью настоящей работы являлось выявление методом высокопроизводительного секвенирования спектра мутаций в составе ключевых онкогенов при РМЖ оценка их патогенности с применением ранее разработанного биоинформатического алгоритма, а также оценка взаимосвязи некоторых мутаций с особенностями клинического проявления заболевания. В исследовании принялие участие 16 пациенток с РМЖ (средний возраст — 50,7 ± 11,3 года). Было обнаружено 58 мутаций в онокгенах *BRCA1*, *BRCA2*, *ATM*, *CDH1*, *CHEK2* и *TP53*. Среди выявленных генетических вариантов с применением биоинформатических подходов найдено 14 мутаций, оказывающих влияние на последовательность кодируемого белка. Большая часть патогенных мутаций идентифицирована в генах *BRCA1/2*, *ATM* и *TP53*.

Ключевые слова: рак молочной железы, высокопроизводительное секвенирование, соматическая мутация, онкогены, *BRCA1*, *BRCA2*, *TP53*

Финансирование: работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки РФ (идентификатор соглашения RFMEFI60716X0152).

✉ **Для корреспонденции:** Ильинский Валерий Владимирович
Наставнический пер., д. 17, стр. 1, под. 14, 15, г. Москва, 105120; info@genotek.ru

Статья получена: 14.12.2017 **Статья принята к печати:** 22.12.2017

BREAST CANCER: ANALYSIS OF DRIVER SOMATIC MUTATIONS DETECTED BY NEXT-GENERATION SEQUENCING

Tsukanov KYu[1], Krasnenko AYu[1], Korostin DO[1], Churov AV[2], Stetsenko IF[1], Plotnikov NA[1], Zarubina SA[3], Belova VA[3], Kovyrshina AV[3], Vorotnikov IK[4], Mescheryakov AA[4], Ilyinsky VV[5,3,1] ✉

[1] Genotek Ltd., Moscow, Russia

[2] Karelian Research Centre of the Russian Academy of Sciences, Petrozavodsk, Russia

[3] Vavilov Institute of General Genetics of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

[4] N. N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Moscow, Russia

[5] Institute of Biomedical Chemistry, Moscow, Russia

Breast cancer (BC) is one of the most common malignancies. There is a need for novel approaches to screening for genetic mutations in patients with BC that will help to reduce high mortality rates caused by this disease and improve treatment outcomes. In this study we employed next generation sequencing to screen a few key genes associated with the risk of breast cancer for mutations. We also evaluated their pathogenicity using the previously proposed bioinformatics-based algorithm and analyzed the associations between some of the detected mutations and the clinical manifestations of the disease. Our study recruited 16 female patients with BC (mean age was 50.7 ± 11.3 years). A total of 58 mutations were detected in the oncogenes *BRCA1*, *BRCA2*, *ATM*, *CDH1*, *CHEK2* and *TP53*. Bioinformatic analysis of the sequencing data revealed 14 mutations that affect the sequence of the encoded proteins. Most deleterious mutations were harbored by the genes *BRCA1/2*, *ATM* and *TP53*.

Keywords: breast cancer, next-generation sequencing, somatic mutation, oncogenes, *BRCA1*, *BRCA2*, *TP53*

Funding: this work was supported by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation (Project ID RFMEFI60716X0152).

✉ **Correspondence should be addressed:** Valery Ilyinsky
Nastavnichesky per., d.17, str. 1, pod. 14, 15, Moscow, 105120; info@genotek.ru

Received: 14.12.2017 **Accepted:** 22.12.2017

Рак молочной железы (РМЖ) является вторым по распространенности типом рака в мире, занимает первое место в структуре онкологической заболеваемости и второе — в структуре смертности среди женщин [1]. Заболеваемость РМЖ увеличивается с возрастом и особенно велика среди женщин 60–65 лет, при этом патология зачастую диагностируется на поздних стадиях, что и определяет высокий уровень смертности от нее. Наибольшую опасность представляет собой метастазирующий РМЖ, который крайне трудно поддается лечению, несмотря на применение комбинированных схем, включающих химио- и гормонотерапию, а также использование таргетных противоопухолевых препаратов. Общий уровень 5-летней выживаемости пациентов при РМЖ составляет 55 %. В этой связи представляется актуальной разработка подходов для более эффективного скрининга РМЖ и выбора средств для таргетной терапии, учитывающих молекулярно-генетические особенности опухолей.

Стремительное развитие технологий высокопроизводительного секвенирования (next-generation sequencing, NGS) привело к получению большого количества данных о генетических вариантах [2]. Идентифицировано множество мутаций, связанных с развитием РМЖ, в том числе соматические и герминальные мутации в генах *PIK3CA*, *STK11/LKB1*, *CDH1*, *ATM*, *CHEK2*, *BRIP1*, *PALB2*, а также мутации в высокопенетрантных генах *TP53*, *PTEN*, *MLH1*, *BRCA1*, *BRCA2*, ассоциированных с наследственными формами РМЖ [3].

Большинство мутаций, возникающих в опухолях, являются соматическими и играют важную роль в патогенезе онкологических заболеваний и развитии *de novo* резистентности к лекарственным препаратам. Поэтому многие исследования направлены на профилирование вариантов в образцах опухолей с применением NGS. В результате было идентифицировано значительное количество вариантов с неизвестной функцией. Для их описания необходимы математические алгоритмы, позволяющие обрабатывать большие массивы данных в автоматическом режиме, предсказывать потенциально патогенные мутации и отличать их от нейтральных изменений генома опухолевых клеток. Результаты подобных исследований могут быть использованы для разработки скрининговых и диагностических инструментов (включая технологии жидкостной биопсии), а также инструментов подбора таргетных противоопухолевых препаратов.

В настоящей работе представлены результаты анализа спектра мутаций в составе ключевых онкогенов при РМЖ с применением метода высокопроизводительного секвенирования и ранее разработанного биоинформатического алгоритма для функциональной аннотации мутаций и оценки их патогенности.

ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Для проведения исследования были получены образцы опухолей от 16 пациенток со злокачественными новообразованиями молочной железы в возрасте от 27 до 76 лет (средний возраст — 50,7 ± 11,3 года), проходивших комплексное обследование и получавших комбинированное лечение в Национальном медицинском исследовательском центре онкологии имени Н. Н. Блохина (Москва). Критериями включения в исследование были: возраст 18–70 лет, женский пол, наличие гистологически и цитологически подтвержденного диагноза «рак молочной железы». Критериями исключения являлись наличие других форм новообразований в анамнезе и беременность.

Стадию опухолевого процесса устанавливали согласно классификации TNM [4]. В исследование были включены пациентки со стадиями T1–3N0–3M0–1.

Работа была выполнена с соблюдением принципов добровольности и конфиденциальности. От всех пациентов были получены письменные информированные согласия на проведение исследования. Клиническая характеристика больных представлена в табл. 1.

Выделение ДНК и контроль качества

Выделение ДНК из образцов опухолевой ткани проводили с применением набора DNeasy Blood and Tissue Kit (Qiagen, США). Измельченные образцы опухолевой ткани после добавления буфера ATL обрабатывали протеиназой K и инкубировали при 56 °C до полного лизиса. Затем обрабатывали ферментом РНКазой A. Далее последовательно добавляли 200 мкл буфера AL и 96 % этанола. Полученную смесь переносили на спин-колонки и центрифугировали при 8 000 g в течение 1 мин. Затем образцы промывали с применением буферов AW1 и AW2 для удаления солей (гуанидина и SDS). Для элюции ДНК колонки обрабатывали буфером 1x Low-TE (дважды, по 30 мкл), затем инкубировали и центрифугировали согласно протоколу производителя. Контроль качества полученной ДНК проводили на флуориметре Qubit 3.0 (Thermo Fisher Scientific, США), а также с помощью электрофореза в 1 % агарозном геле с добавлением бромистого этидия.

Секвенирование таргетной панели онкогенов

Из образцов ДНК опухолей молочной железы готовили библиотеки с применением набора реагентов NEBNext Ultra DNA Library Prep Kit for Illumina (New England Biolabs, США). Двойное баркодирование библиотек проводили с помощью ПЦР с применением наборов реагентов NEBNext Ultra DNA Library Prep Kit for Illumina и NEBNext Multiplex Oligos for Illumina (Dual Index Primers Set 1, New England Biolabs). Контроль качества полученных библиотек фрагментов ДНК проводили на приборе Agilent Bioanalyzer 2100 (Agilent Technologies, США) с помощью набора реагентов этого же производителя High Sensitivity Kit в соответствии с протоколом производителя.

Для таргетного обогащения кодирующих регионов геномов опухолей использовали набор MYbaits Onconome KL v1.5 Panel (MYcroarray, США). Анализ проводили с применением системы высокопроизводительного секвенирования HiSeq 2500 (Illumina, США) методом парных прочтений длиной 100 нуклеотидов. Подготовку образцов и запуск секвенирования осуществляли согласно стандартным протоколам Illumina.

Биоинформатическая обработка данных

Для биоинформатической обработки полученных при секвенировании NGS-данных применяли ранее разработанный алгоритм [5]. На начальном этапе проводили оценку качества прочтений, полученных при секвенировании ДНК опухолей: последовательности, имевшие качество прочтения ниже 10, удаляли с помощью программного обеспечения Cutadapt [6]. После этого прочтения картировали на

Таблица 1. Клиническая характеристика больных раком молочной железы (n = 16)

Характеристика	Значение, абс. (%)
Возраст, лет	50,7 ± 11,3
Операция:	
проводилась	16 (100)
не проводилась	0 (0)
Т-стадия опухоли (согласно TNM):	
T1	10 (62,5)
T2	5 (31,3)
T3	1 (6,2)
Наличие метастазов в лимфоузлах:	
без метастазов, M0	10 (62,5)
с метастазами, M1	6 (37,5)
Экспресссия рецепторов эстрогена (ER):	
ER+	11 (68,8)
ER–	5 (31,2)
Экспресссия рецепторов прогестерона (PR):	
PR+	10 (62,5)
PR–	6 (37,5)
Экспрессия HER2/neu:	
Her2+	9 (56,3)
Her2–	7 (43,7)
Экспрессия Ki-67:	
низкая (< 14 %)	13 (81,3)
высокая (≥ 14 %)	3 (18,7)
Адъювантная химиотерапия:	
проводилась	10 (62,5)
не проводилась	6 (37,5)
Адъювантная гормональная терапия:	
проводилась	9 (56,3)
не проводилась	7 (43,7)
Лучевая терапия:	
проводилась	0 (0)
не проводилась	16 (100)

референсный геном hg19 (GRCh37.p13) с помощью алгоритма BWA (Burrows–Wheeler Aligner) [7]. ПЦР-дубликаты удаляли специализированной командой rmdup в составе программной платформы SAMtools [8].

Для поиска мутаций применяли инструмент MuTect [9]. В качестве значимых вариантов, рассматривали последовательности ДНК, число покрытий которых в результате секвенирования составило не менее 12.

Для оценки функционального эффекта обнаруженных мутаций проводили их аннотирование и предсказание их влияния на кодируемый белок на основе анализа геномных координат фрагментов с помощью программы SnpEff [10].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

С применением метода высокопроизводительного секвенирования на платформе Illumina мы провели скрининг образцов 16 опухолей молочной железы на наличие мутаций. Среди онкогенов в составе таргетной панели были исследованы *BRCA1*, *BRCA2*, *ATM*, *CDH1*, *CHEK2*, *MRE11A*, *NBN*, *PALB2*, *PTEN*, *RAD50*, *RAD51C*, *TP53*, *SEC23B*. В результате применения биоинформатического алгоритма для анализа данных были обнаружены 58 точечных мутаций в генах *BRCA1*, *BRCA2*, *ATM*, *CDH1*, *CHEK2* и *TP53*, среди них — 19 гомозигот и 39 гетерозигот. Список уникальных мутаций представлен в табл. 2.

На рисунке представлено распределение частот встречаемости мутаций в генах, в которых их было обнаружено больше всего: *ATM*, *TP53* и *BRCA1*. Наиболее часто встречающиеся мутации — c.376-283T>C (*TP53*), c.3994-193T>C и c.8010+186C>T (*ATM*), а также c.5215+66G>A (*BRCA1*).

Среди обнаруженных нами генетических вариантов по результатам биоинформатической обработки данных и аннотирования мутаций с применением баз данных были отобраны мутации с потенциально значимым влиянием на регуляторную или белковую последовательность. Для оценки патогенности и консервативности выявляемых генетических вариантов использовали данные, которые извлекали из таких источников, как COSMIC (Catalogue of Somatic Mutations In Cancer) [11] и dbNSFP [12]. Дополнительно для предсказания патогенности обнаруженных вариантов, оценки их эффекта на функцию кодируемого белка применяли утилиты SIFT (Sorting Intolerant From

Таблица 2. Однонуклеотидные варианты (мутации), идентифицированные у пациенток с раком молочной железы (n = 16)

Образец	Представленность мутаций в образце, %	Мутация	Ген	Геномная локализация
1	18,7	c.4828G>A	*BRCA2*	Chr13:32913320
		c.3994-193T>C	*ATM*	Chr11:108158134
		c.-73G>A	*CHEK2*	Chr22:29137870
2	25,5	c.5215+66G>A	*BRCA1*	Chr17:41215825
		c.3994-193T>C	*ATM*	Chr11:108158134
		c.8010+186C>T	*ATM*	Chr11:108204881
		c.524G>A	*TP53*	Chr17:7578406
		c.376-283T>C	*TP53*	Chr17:7578837
3	29,4	c.8755-272A>G	*BRCA2*	Chr13:32953182
		c.376-283T>C	*TP53*	Chr17:7578837
4	26,5	c.3994-193T>C	*ATM*	Chr11:108158134
		c.8010+186C>T	*ATM*	Chr11:108204881
		c.376-283T>C	*TP53*	Chr17:7578837
5	26,5	c.5215+66G>A	*BRCA1*	Chr17:41215825
		c.3994-193T>C	*ATM*	Chr11:108158134
		c.8010+186C>T	*ATM*	Chr11:108204881
		c.1289C>T	*CHEK2*	Chr22:29091797
		c.376-283T>C	*TP53*	Chr17:7578837
6	20,6	c.5215+66G>A	*BRCA1*	Chr17:41215825
		c.3994-193T>C	*ATM*	Chr11:108158134
		c.8010+186C>T	*ATM*	Chr11:108204881
7	25,5	c.146C>G	*ATM*	Chr11:108098576
		c.376-283T>C	*TP53*	Chr17:7578837
8	25,5	c.3994-193T>C	*ATM*	Chr11:108158134
		c.790C>T	*CDH1*	Chr16:68844202
		c.376-283T>C	*TP53*	Chr17:7578837
9	28,5	c.5070A>C	*BRCA2*	Chr13:32913562
		c.-73G>A	*CHEK2*	Chr22:29137870
		c.469G>T	*TP53*	Chr17:7578461
10	37,3	c.5215+66G>A	*BRCA1*	Chr17:41215825
		c.4258C>T	*ATM*	Chr11:108160350
		c.376-283T>C	*TP53*	Chr17:7578837
11	26,5	c.5215+66G>A	*BRCA1*	Chr17:41215825
		c.1865C>T	*BRCA1*	Chr17:41245683
		c.384G>A	*BRCA1*	Chr17:41256196
		c.54G>T	*BRCA1*	Chr17:41276060
		c.3994-193T>C	*ATM*	Chr11:108158134
		c.-73G>A	*CHEK2*	Chr22:29137870
		c.743G>A	*TP53*	Chr17:7577538
		c.376-283T>C	*TP53*	Chr17:7578837
12	28,5	c.5215+66G>A	*BRCA1*	Chr17:41215825
		c.3994-193T>C	*ATM*	Chr11:108158134
		c.8010+186C>T	*ATM*	Chr11:108204881
		c.376-283T>C	*TP53*	Chr17:7578837
13	22,6	c.5215+66G>A	*BRCA1*	Chr17:41215825
		c.1192G>C	*ATM*	Chr11:108119786
		c.3994-193T>C	*ATM*	Chr11:108158134
		c.8010+186C>T	*ATM*	Chr11:108204881
		c.1342C>T	*CDH1*	Chr16:68849439
		c.376-283T>C	*TP53*	Chr17:7578837
14	22,6	c.5215+66G>A	*BRCA1*	Chr17:41215825
		c.376-283T>C	*TP53*	Chr17:7578837
15	26,5	c.5215+66G>A	*BRCA1*	Chr17:41215825
		c.560-1G>C	*TP53*	Chr17:7578290
		c.376-283T>C	*TP53*	Chr17:7578837
16	28,5	c.3994-193T>C	*ATM*	Chr11:108158134
		c.8010+186C>T	*ATM*	Chr11:108204881
		c.376-283T>C	*TP53*	Chr17:7578837

Tolerant) и PolyPhen2 [13, 14]. Информацию о частоте мутаций получали на основе данных проекта 1000 Genomes и консорциума ExAC [15, 16].

Всего в результате проведенного анализа отобрали 14 мутаций, влияющих на белковую последовательность: *BRCA2* — c.4828G>A (p.Val1610Met), c.5070A>C (p.Lys1690Asn); *TP53* — c.524G>A (p.Arg175His), c.469G>T (p.Val157Phe); *CHEK2* — c.1289C>T (p.Thr430Ile); *ATM* — c.146C>G (p.Ser49Cys), c.4258C>T (p.Leu1420Phe), c.1192G>C (p.Asp398His); *CDH1* — c.790C>T (p.Gln264), c.1342C>T (p.Gln448); *BRCA1* — c.1865C>T (p.Ala622Val), c.384G>A (p.Met128Ile), c.54G>T (p.Met18Ile).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

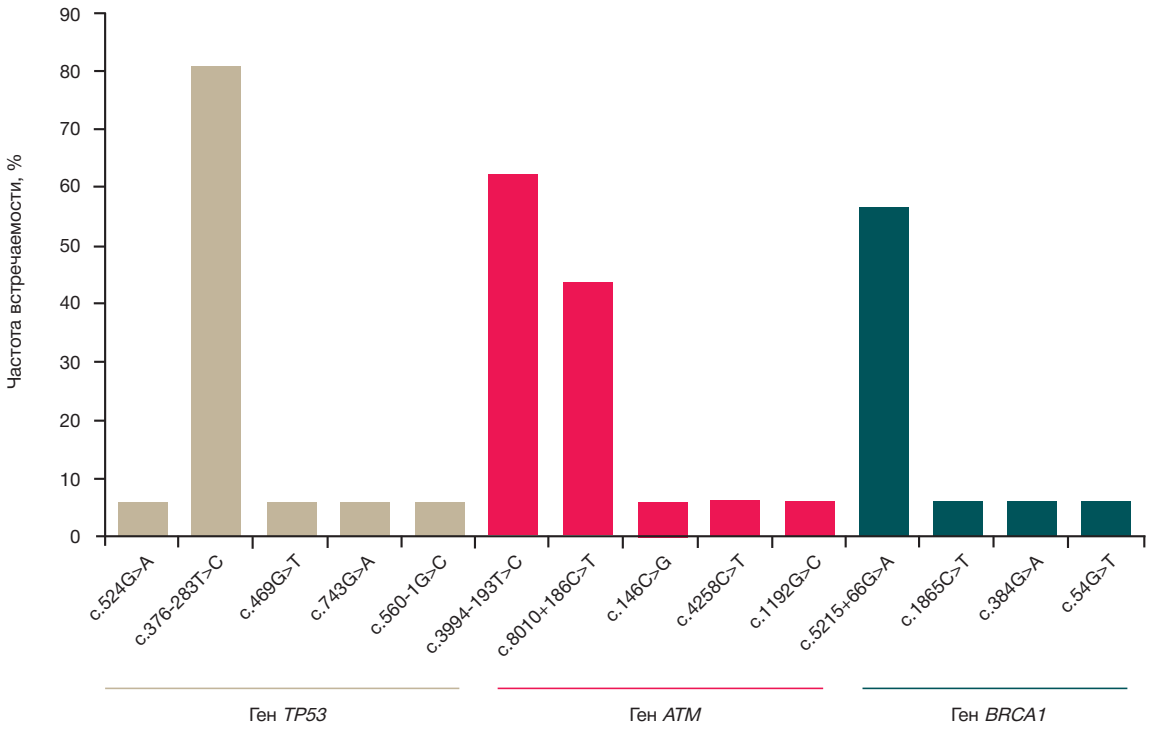
Для детекции известных мутаций в генах, связанных с риском развития РМЖ, в России получили наибольшее распространение методы, основанные на полимеразной цепной реакции. Однако на современном этапе развития методов генетической диагностики одной из наиболее перспективных технологий выявления генетических вариантов в клетках злокачественных опухолей является высокопроизводительное секвенирование. При этом наиболее актуально его применение для изучения вариабельности исследуемых участков геномов опухолей, характеризуемых высокой генетической гетерогенностью. В данной работе нами был исследован методом высокопроизводительного секвенирования спектр мутаций ключевых онкогенов при РМЖ и проведено тестирование разработанного ранее алгоритма для биоинфоматической обработки NGS-данных.

Одним из наиболее детально изученных генов, играющих важную роль в патогенезе РМЖ, является *TP53*, регулирующий клеточный цикл, процессы апоптоза и репарации ДНК. Мутации в этом гене приводят к нарушению вышеуказанных процессов и способствуют развитию злокачественных новообразований. *TP53* представляет собой онкосупрессор, мутации в нем обнаруживаются примерно в половине всех случаев онкологических заболеваний и более чем в 30 % случаев РМЖ. Что касается спорадического РМЖ, то при нем частота мутаций в гене *TP53* варьирует от 25 до 86 % — в зависимости от стадии опухолевого процесса и методов детекции. Прогностическая значимость мутаций в *TP53* при РМЖ была подробно изучена [17]. Среди мутаций, выявленных нами, чаще всего встречалась мутация c.376-283T>C: у 13 из 16 пациенток (81 %).

При РМЖ отмечена относительно высокая частота возникновения мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2*, в особенности для некоторых форм РМЖ. Эти гены участвуют в регуляции многих клеточных процессов, обеспечивая прежде всего поддержание стабильности генома, гомологичную рекомбинацию при репарации разрывов двуцепочечной ДНК. Мутации в этих генах часто приводят к нарушению нормального протекания вышеуказанных процессов и являются этиологическим фактором развития наследственного РМЖ, значительно увеличивают индивидуальный риск развития рака. Примерно четверть всех случаев наследственного РМЖ ассоциирована с мутациями в *BRCA1/2* [17].

В России распространены мутации в *BRCA1*, составляющие порядка 80 % всех мутаций в этих двух генах при РМЖ. К примеру, одной из наиболее часто встречающихся является мутация 5382insC (*rs80357906*), приводящая к сдвигу рамки считывания и потере функции кодируемым белком. Значительную долю обнаруженных нами вариантов также составили мутации в генах *BRCA1* и *BRCA2*, при этом чаще всего встречалась мутация c.5215+66G>A (*rs3092994*) в гене *BRCA1*, обнаруженная у 9 из 16 пациенток (52,9 %).

Результаты общего анализа спектра мутаций в генах *ATM*, *TP53* и *BRCA1* в целом согласуются с данными литературы, в соответствии с которыми при РМЖ к наиболее часто встречающимся мутациям относятся изменения в гене *TP53* [17]. Сопоставимы с известными данными и



Распределение частот встречаемости мутаций в генах *ATM*, *TP53* и *BRCA1* у пациенток с раком молочной железы

результаты оценки разнообразия генетических вариантов в генах *BRCA1/2*. Важно, что мутации в этих генах ассоциированы с неблагоприятным прогнозом и развитием инфильтративного протокового РМЖ. Наличие таких мутаций также учитывается при оценке объема хирургического вмешательства [17]. По нашим данным, из 12 пациенток с РМЖ и мутациями в генах *BRCA1* и *BRCA2* у 8 был диагностирован именно инфильтративный протоковый РМЖ. При этом наиболее часто (у 6 пациенток из 8) встречалась мутация c.5215+66G>A (*BRCA1*).

В результате биоинформатического анализа данных, полученных в ходе высокопроизводительного секвенирования, нами было обнаружено множество мутаций-драйверов в образцах злокачественных опухолей молочной железы. С применением различных баз данных были отобраны и аннотированы мутации со значимым функциональным эффектом. Всего нами было обнаружено 14 патогенных мутаций, оказывающих влияние на аминокислотную последовательность кодируемых белков. В каждом из исследованных образцов была обнаружена минимум одна такая мутация. Разработанный нами протокол для биоинформатического анализа NGS-данных позволяет обрабатывать их в автоматическом режиме.

ВЫВОДЫ

Высокопроизводительное секвенирование в комбинации с современными алгоритмами для биоинформатической обработки данных позволяет проводить поиск генетических вариантов и оценку функционального эффекта выявляемых мутаций в опухолях, что представляет интерес для применения данных технологий в медицинских целях. На сегодняшний день уровень развития методов NGS позволяет проводить молекулярную классификацию опухолей при РМЖ, определять подтипы опухолей в зависимости от спектра выявляемых мутаций и профиля экспрессии генов, подбирать на основе этих данных наиболее подходящие противоопухолевые препараты. Одной из главных текущих задач в сфере онкогенетики является поиск и разработка инструментов для идентификации биомаркеров РМЖ, удобных для клиницистов при постановке диагноза и назначении адекватной терапии. Следующим этапом в развитии данной области исследований должно стать совершенствование биоинформатических подходов, переход к системам автоматического анализа генетического профиля опухолей и внедрение технологий NGS в клиническую практику.

Литература

1. DeSantis CE, Ma J, Goding Sauer A, Newman LA, Jemal A. Breast Cancer Statistics, 2017, Racial Disparity in Mortality by State. CA Cancer J Clin. 2017 Nov; 67 (6): 439–48. DOI: 10.3322/caac.21412.
2. Yohe S, Thyagarajan B. Review of Clinical Next-Generation Sequencing. Arch Pathol Lab Med. 2017 Nov; 141 (11): 1544–57. DOI: 10.5858/arpa.2016-0501-RA.
3. Melchor L, Benítez J. The complex genetic landscape of familial breast cancer. Hum Geneti. 2013 Aug; 132 (8): 845–63. DOI: 10.1007/s00439-013-1299-y.
4. Giuliano AE, Connolly JL, Edge SB, Mittendorf EA, Rugo HS, Solin LJ et al. Breast Cancer-Major changes in the American Joint Committee on Cancer eighth edition cancer staging manual. CA Cancer J Clin. 2017 Jul 8; 67 (4): 290–303. DOI: 10.3322/caac.21393.
5. Цуканов К. Ю., Красненко А. Ю., Плахина Д. А., Коростин Д. О., Чуров А. В., Дружиловская О. С. и др. Биоинформатический протокол для обработки NGS-данных и идентификации мутаций в солидных опухолях человека. Биомедицинская химия. 2017; 63 (5): 413–7. DOI: 10.18097/PBMC20176305413.
6. Martin M. Cutadapt Removes Adapter Sequences from High-Throughput Sequencing Reads. EMBnet.journal. 2011; 17: 10–2.
7. Li H, Durbin R. Fast and accurate short read alignment with Burrows–Wheeler transform. Bioinformatics. 2009 Jul 15; 25 (14): 1754–60. DOI: 10.1093/bioinformatics/btp324.
8. Li H, Handsaker B, Wysoker A, Fennell T, Ruan J, Homer N et al. 1000 Genome Project Data Processing Subgroup. The Sequence Alignment/Map format and SAMtools. Bioinformatics. 2009 Aug 15; 25 (16): 2078–9. DOI: 10.1093/bioinformatics/btp352.
9. Cibulskis K, Lawrence MS, Carter SL, Sivachenko A, Jaffe D, Sougnez C et al. Sensitive detection of somatic point mutations in impure and heterogeneous cancer samples. Nat Biotechnol. 2013 Mar; 31 (3) :213–9. DOI: 10.1038/nbt.2514.
10. Cingolani P, Platts A, Wang le L, Coon M, Nguyen T, Wang L et al. A program for annotating and predicting the effects of single nucleotide polymorphisms, SnpEff: SNPs in the genome of Drosophila melanogaster strain w1118; iso-2; iso-3. Fly (Austin). 2012 Apr-Jun; 6 (2): 80–92. DOI: 10.4161/fly.19695.
11. Forbes SA, Beare D, Bindal N, Bamford S, Ward S, Cole CG et al. COSMIC: High-Resolution Cancer Genetics Using the Catalogue of Somatic Mutations in Cancer. Curr Protoc Hum Genet. 2016 Oct 11; 91: 10.11.1-10.11.37. DOI: 10.1002/cphg.21.
12. Liu X, Wu C, Li C, Boerwinkle E. dbNSFP v3.0: A One-Stop Database of Functional Predictions and Annotations for Human Nonsynonymous and Splice-Site SNVs. Hum Mutat. 2016 Mar; 37 (3): 235–41. DOI: 10.1002/humu.22932.
13. Ng PC, Henikoff S. SIFT: Predicting amino acid changes that affect protein function. Nucleic Acids Res. 2003 Jul 1; 31 (13): 3812–4.
14. Adzhubei I, Jordan DM, Sunyaev SR. Predicting functional effect of human missense mutations using PolyPhen-2. Curr Protoc Hum Genet. 2013 Jan; Chapter 7: Unit7.20. DOI: 10.1002/0471142905.hg0720s76.
15. 1000 Genomes Project Consortium, Auton A, Brooks LD, Durbin RM, Garrison EP, Kang HM, Korbel JO et al. A global reference for human genetic variation. Nature. 2015 Oct 1; 526 (7571): 68–74. DOI: 10.1038/nature15393.
16. Lek M, Karczewski KJ, Minikel EV, Samocha KE, Banks E, Fennell T et al. Analysis of protein-coding genetic variation in 60,706 humans. Nature. 2016 Aug 18; 536 (7616): 285–91. DOI: 10.1038/nature19057.
17. Гришина К. А., Музаффарова Т. А., Хайленко В. А., Карпухин А. В. Молекулярно-генетические маркеры молочной железы. Опухоли женской репродуктивной системы. 2016; 12 (3): 36–42. DOI: 10.17650/1994-4098-2016-12-3-26-42.

References

1. DeSantis CE, Ma J, Goding Sauer A, Newman LA, Jemal A. Breast Cancer Statistics, 2017, Racial Disparity in Mortality by State. CA Cancer J Clin. 2017 Nov; 67 (6): 439–48. DOI: 10.3322/caac.21412.
2. Yohe S, Thyagarajan B. Review of Clinical Next-Generation Sequencing. Arch Pathol Lab Med. 2017 Nov; 141 (11): 1544–57. DOI: 10.5858/arpa.2016-0501-RA.
3. Melchor L, Benítez J. The complex genetic landscape of familial breast cancer. Hum Geneti. 2013 Aug; 132 (8): 845–63. DOI: 10.1007/s00439-013-1299-y.

4. Giuliano AE, Connolly JL, Edge SB, Mittendorf EA, Rugo HS, Solin LJ et al. Breast Cancer-Major changes in the American Joint Committee on Cancer eighth edition cancer staging manual. CA Cancer J Clin. 2017 Jul 8; 67 (4): 290–303. DOI: 10.3322/caac.21393.
5. Tsukanov KYu, Krasnenko AYu, Plakhina DA, Korostin DO, Churov AV, Druzhilovskaya OS et al. A bioinformatic pipeline for NGS data analysis and mutation calling in human solid tumors. Biomed Khim. 2017; 63 (5): 413–7.
6. Martin M. Cutadapt Removes Adapter Sequences from High-Throughput Sequencing Reads. EMBnet.journal. 2011; 17: 10–2.
7. Li H, Durbin R. Fast and accurate short read alignment with Burrows–Wheeler transform. Bioinformatics. 2009 Jul 15; 25 (14): 1754–60. DOI: 10.1093/bioinformatics/btp324.
8. Li H, Handsaker B, Wysoker A, Fennell T, Ruan J, Homer N et al. 1000 Genome Project Data Processing Subgroup. The Sequence Alignment/Map format and SAMtools. Bioinformatics. 2009 Aug 15; 25 (16): 2078–9. DOI: 10.1093/bioinformatics/btp352.
9. Cibulskis K, Lawrence MS, Carter SL, Sivachenko A, Jaffe D, Sougnez C et al. Sensitive detection of somatic point mutations in impure and heterogeneous cancer samples. Nat Biotechnol. 2013 Mar; 31 (3) :213–9. DOI: 10.1038/nbt.2514.
10. Cingolani P, Platts A, Wang le L, Coon M, Nguyen T, Wang L et al. A program for annotating and predicting the effects of single nucleotide polymorphisms, SnpEff: SNPs in the genome of Drosophila melanogaster strain w1118; iso-2; iso-3. Fly (Austin). 2012 Apr-Jun; 6 (2): 80–92. DOI: 10.4161/fly.19695.
11. Forbes SA, Beare D, Bindal N, Bamford S, Ward S, Cole CG et al. COSMIC: High-Resolution Cancer Genetics Using the Catalogue of Somatic Mutations in Cancer. Curr Protoc Hum Genet. 2016 Oct 11; 91: 10.11.1-10.11.37. DOI: 10.1002/cphg.21.
12. Liu X, Wu C, Li C, Boerwinkle E. dbNSFP v3.0: A One-Stop Database of Functional Predictions and Annotations for Human Nonsynonymous and Splice-Site SNVs. Hum Mutat. 2016 Mar; 37 (3): 235–41. DOI: 10.1002/humu.22932.
13. Ng PC, Henikoff S. SIFT: Predicting amino acid changes that affect protein function. Nucleic Acids Res. 2003 Jul 1; 31 (13): 3812–4.
14. Adzhubei I, Jordan DM, Sunyaev SR. Predicting functional effect of human missense mutations using PolyPhen-2. Curr Protoc Hum Genet. 2013 Jan; Chapter 7: Unit7.20. DOI: 10.1002/0471142905.hg0720s76.
15. 1000 Genomes Project Consortium, Auton A, Brooks LD, Durbin RM, Garrison EP, Kang HM, Korbel JO et al. A global reference for human genetic variation. Nature. 2015 Oct 1; 526 (7571): 68–74. DOI: 10.1038/nature15393.
16. Lek M, Karczewski KJ, Minikel EV, Samocha KE, Banks E, Fennell T et al. Analysis of protein-coding genetic variation in 60,706 humans. Nature. 2016 Aug 18; 536 (7616): 285–91. DOI: 10.1038/nature19057.
17. Grishina KA, Muzaffarova TA, Khaylenko VA, Karpukhin AV. [Molecular genetic markers of breast cancer]. Tumors of female reproductive system. 2016; 12 (3): 36–42. DOI: 10.17650/1994-4098-2016-12-3-26-42. Russian.

АНАЛИЗ ИНДУКЦИИ АПОПТОЗА ЛИМФОЦИТОВ ПЕРИФЕРИЧЕСКОЙ КРОВИ ЧЕЛОВЕКА СВЕРХИНТЕНСИВНЫМ ГАММА-ИЗЛУЧЕНИЕМ *IN VITRO*

Е. В. Грабовский[1], Г. М. Олейник[1], Е. Г. Крастелев[2], В. П. Смирнов[2,3], Е. В. Хмелевский[4], В. К. Боженко[5] ✉, А. М. Шишкин[5], А. В. Иванов[5], Т. М. Кулинич[5]

[1] Троицкий институт инновационных и термоядерных исследований (ТРИНИТИ), ГК «Росатом», Троицк, Москва

[2] Объединенный институт высоких температур РАН, Москва

[3] Научно исследовательский институт технической физики и автоматизации, ГК «Росатом», Москва

[4] Московский научно-исследовательский онкологический институт имени П. А. Герцена — филиал Национального медицинского исследовательского центра радиологии, Москва

[5] Российский научный центр рентгенорадиологии, Москва

Относительная биологическая эффективность ионизирующего излучения определяется рядом параметров, одним из которых является мощность дозы. В терапевтических лучевых установках используется облучение с мощностью дозы до нескольких Гр/мин. Эффект высоких и особенно сверхвысоких (10^8 Гр/мин и выше) мощностей дозы практически не изучен. Целью нашего исследования являлось определение влияния гамма-излучения, имеющего сверхвысокую мощность дозы, на индукцию апоптоза в лимфоцитах периферической крови человека. Лимфоциты получали из крови условно здоровых добровольцев выделением их на градиенте плотности. Образцы суспензии лимфоцитов при низкой мощности дозы облучали на установке «Рокус-АМ» (Россия), при мощности дозы около 10^8 Гр/с — на экспериментальных установках «Ангара-5-1» и «Мир-М» (Россия). Уровень апоптоза регистрировали методом проточной цитофлуориметрии с двойной окраской аннексином V и йодидом пропидия. Установили, что гамма-излучение со сверхвысокой мощностью дозы в диапазоне доз 1–6 Гр индуцирует апоптоз в лимфоцитах периферической крови достоверно выше, чем гамма-излучение с низкой мощностью дозы ($p < 0,05$), одновременно в меньшей степени индуцируя некроз. При этом общий уровень радиационной гибели лимфоцитов для терапетивческой и экспериментальных установок достоверно не различался. Дальнейшие исследования позволят уточнить биологическую и медицинскую значимость полученных результатов.

Ключевые слова: сверхинтенсивное гамма-излучение, сверхинтенсивное рентгеновское излучение, мощность дозы, клеточная гибель, апоптоз, некроз, лимфоциты

Финансирование: работа выполнена при поддержке ГК «Росатом» и Российского научного фонда (грант № 15-10355).

✉ **Для корреспонденции:** Боженко Владимир Константинович
ул. Профсоюзная, д. 86, г. Москва, 117997; vbojenko@mail.ru

Статья получена: 22.11.2017 **Статья принята к печати:** 05.12.2017

ANALYSIS OF THE APOPTOTIC EFFECT OF ULTRAHIGH GAMMA DOSE RATES ON HUMAN PERIPHERAL BLOOD LYMPHOCYTES *IN VITRO*

Grabovsky EV[1], Oleynik GM[1], Krastelev EG[2], Smirnov VP[2,3], Khmelevsky EV[4], Bozhenko VK[5] ✉, Shishkin AM[5], Ivanov AV[5], Kulinich TM[5]

[1] Troitsk Institute for Innovation and Fusion Research (TRINITI), Rosatom State Atomic Energy Corporation, Troitsk, Moscow, Russia

[2] Joint Institute for High Temperatures, Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

[3] Research Institute of Technical Physics and Automation, Rosatom State Atomic Energy Corporation, Moscow, Russia

[4] Hertzen Moscow Cancer Research Institute (affiliated branch of the National Medical Research Radiology Center), Moscow, Russia

[5] Russian Scientific Center of Roentgenoradiology, Moscow, Russia

Relative biological effectiveness of ionizing radiation is determined by a number of factors, including a dose rate. Radiotherapy equipment employs low dose rates of up to a few Gy per minute. But very little is known about the biological effect of high and ultrahigh ($\geq 10^8$ Gy/min) dose rate radiation. Our study aimed to investigate the apoptotic effect of ultrahigh gamma dose rates on human peripheral blood lymphocytes. Blood samples were collected from seemingly healthy donors. Lymphocytes were isolated by density gradient separation. Lymphocyte suspensions were irradiated with low-rate doses on the Rokus-AM gamma-ray machine for clinical use (Russia) and with 10^8 Gy/s doses on the experimental pulse generators Angara-5-1 and Mir-M (Russia). Apoptosis was measured by flow cytometry using annexin V and propidium iodide double staining. We established that in comparison with low dose rates, ultrahigh gamma dose rates (with doses ranging from 1 to 6 Gy) induced significantly more pronounced apoptosis in peripheral blood lymphocytes ($p < 0.05$) with fewer necrotic cells. Total radiation-induced cell death did not differ significantly between the therapeutic gamma machine and the experimental pulse generators. Further research is needed to assess biological and medical significance of our findings.

Keywords: ultrahigh dose rate gamma radiation, ultrahigh intensity X-rays, dose rate, cell death, apoptosis, necrosis, lymphocytes

Funding: this work was supported by Rosatom and the Russian Science Foundation (Grant no. 15-10355).

✉ **Correspondence should be addressed:** Vladimir Bozhenko
ul. Profsoyuznaya, d. 86, Moscow, Russia, 117997; vbojenko@mail.ru

Received: 22.11.2017 **Accepted:** 05.12.2017

Действенность радиологических методов лечения злокачественных опухолей основана на ряде биологических эффектов, в том числе гибели клеток вследствие лучевого воздействия. Ионизирующее излучение вызывает молекулярные повреждения в органеллах и компартментах клеток, наиболее опасными среди которых являются нарушения структуры ДНК. Их результатом является или гибель клеток, или репарация повреждений ДНК и восстановление нормального жизненного статуса клеток, или возникновение мутаций и индукция канцерогенеза, если изменения происходят в системе репарации ДНК [1].

Существует несколько типов гибели клеток под воздействием ионизирующего излучения [2, 3], из которых наибольший интерес в контексте радиотерапии представляет апоптоз — запрограммированная гибель клеток, усиливаемая излучением, не оказывающая при этом губительного воздействия на окружающие ткани и не вызывающая воспаления [4]. Некоторые типы клеток устойчивы к индуцируемому радиацией апоптозу, другие — могут изменять свою чувствительность в зависимости от стадии клеточного цикла и микроокружения [5]. В настоящее время ведется достаточно большое количество исследований по поиску путей контроля апоптотической активности некоторых типов клеток в ответ на радио- или химиотерапию злокачественных опухолей [6, 7].

Доказано, что многие противоопухолевые препараты способствуют росту апоптотической активности в новообразованиях, но не обладают избирательным действием и, следовательно, повреждают и нормальные ткани [8]. Недостатки лучевой терапии — образование некрозов в опухоли, а также губительное воздействие радиации на окружающие здоровые клетки. Имеются данные, что ионизирующее излучение стимулирует апоптоз тимоцитов, лимфоцитов, многих клеток-предшественников. Зрелые дифференцированные клетки редко уходят в апоптоз под действием излучения, но есть данные о вызванном радиацией апоптозе клеток молочной железы, кишечных крипт и миндалин у человека. В эксперименте был также индуцирован апоптоз мышиных яйцеклеток и клеток гепатоцеллюлярной карциномы [9].

Сильноточные импульсные ускорители электронов, работающие в режиме генерации высокоинтенсивного тормозного излучения, в настоящее время являются инструментами научных исследований, направленных на разработку новых радиационных технологий. В испытаниях были определены некоторые их недостатки, ограничивающие использование в медицине, например нестабильность параметров от импульса к импульсу. В то же время более узкий пучок излучения должен минимизировать влияние на окружающие ткани, а высокая интенсивность воздействия — увеличить повреждающий эффект на зону облучения [10]. Применяемые в клинической практике гамма-установки при терапевтической мощности дозы 1,5–2 Гр/мин обеспечивают поглощение клеткой размером ~10 мкм в среднем 100 квантов/с с энергией около 1 МэВ. Паузы между актами лучевого воздействия составляют 1–10 мс, в то время как репарационные процессы в клетке идут быстрее и устраняют повреждения. Значительное увеличение интенсивности облучения, достижимое на современных сильноточных ускорителях пучков релятивистских электронов мощностью 1–100 ГВт, способно сократить время между актами облучения на 6–7 порядков, что должно (или может) привести к изменению реакции клетки на облучение. Опубликованные работы в области исследования влияния высокоинтенсивного радиационного излучения на биологические объекты противоречивы [11–15].

Целью исследования являлось определение биологических эффектов, вызываемых воздействием излучения высокой мощности экспериментальных установок «Ангара-5-1» и «Мир-М» на лимфоциты периферической крови человека, и их сравнение с эффектами, вызываемыми излучением низкой мощности терапевтической установки «Рокус-АМ».

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование включало следующие этапы:

1) приготовление суспензии мононуклеарных клеток крови человека,

2) облучение полученных образцов с использованием терапевтического аппарата «Рокус-АМ» и установок высокоинтенсивного тормозного излучения «Ангара-5-1» и «Мир-М»,

3) определение в образцах доли клеток, вступивших в апоптоз, методом проточной цитофлуориметрии.

Приготовление суспензии мононуклеарных клеток крови человека

Использовали суспензии нормальных лимфоцитов, выделенных из крови условно здоровых доноров. Кровь, отобранную в объеме 2,6 мл в пробирки с натриевой солью ЭДТА в качестве антикоагулянта, разводили фосфатно-солевым буфером (ФСБ) в соотношении 1 : 2 и наслаивали на фиколл плотностью 1,077 («ПанЭко», Россия). Образцы центрифугировали в течение 40 мин при 400 g. Слой мононуклеаров, содержавший 70–90 % лимфоцитов, отбирали с поверхности раздела, дважды отмывали ФСБ в течение 5 мин при 200 g и переводили в среду RPMI 1640, содержавшую 10 % эмбриональной телячьей сыворотки.

Полученную суспензию мононуклеаров крови делили на аликвоты для последующего облучения. Всего каждый образец делили на 12 проб: 2 пробы являлись контрольными, необлученными, а 10 подвергали облучению 5 различными дозами, попарно. Далее облученные образцы инкубировали в CO_2-инкубаторе при 37 ºС и 5 % CO_2. Для одного образца из каждой пары время инкубации составляло 24 ч, для другого — 48 ч. Выбранные временные интервалы позволяют объективно определить уровень радиоиндуцированного апоптоза. С момента получения крови и до помещения образцов в CO_2-инкубатор все работы проводили при комнатной температуре в течение 3,5–4 ч.

Облучение образцов на установке «Ангара-5-1»

Источником высокоинтенсивного тормозного излучения в этой установке служат 8 независимых генераторов сверхвысокой электрической мощности [8]. Все модули срабатывают одновременно: среднеквадратичное отклонение по параметру составляет всего 10 нс. Максимальное напряжение на согласованной нагрузке — 1,5 мВ. Форма импульса напряжения представляет собой полусинусоиду с длительностью импульса на полувысоте амплитуды 40–70 нс. Анодом служит танталовая фольга толщиной 50 мкм (рис. 1).

Анализ спектрального состава тормозного излучения показал, что основная энергия квантов находится в диапазоне 200–600 кэВ. Анализ проводили по профилям сигналов алмазных рентгеновских дозиметров типа АДЗ (ВНИИА, Россия) с различными фильтрами.

Непосредственно дозиметрию осуществляли термолюминесцентными дозиметрами (ТЛД) типа ДПГ-03 (НПП «Доза», Россия), в состав которого входят 3 поликристаллических детектора на основе бората магния. Величину дозы определяли прибором КДТ-02М («Концерн-Электрон», Украина). По результатам прямой дозиметрии была экспериментально оценена зависимость дозы от расстояния объекта до диодов, на основании которой была рассчитана неоднородность дозы в зависимости от положения облучаемого образца. Расчеты показали, что на 1 см образца доза падает приблизительно на 10 % в вертикальном направлении и на 9 % — в горизонтальном относительно центра передней поверхности объекта. Были определены желательные места расположения образцов на фланце установки. Образцы помещали в цилиндрический дюралевый контейнер с толщиной дна и стенок 7 мм. Дно контейнера располагалось на расстоянии 57 мм от танталовой фольги.

Подведение различных доз к образцам достигалось расположением их на разном расстоянии от источников облучения. Максимальная доза варьировала от выстрела к выстрелу, поэтому рядом с образцами устанавливали дозиметры ТЛД. Одновременно с величиной дозы варьировала и ее мощность, т. к. продолжительность импульса при этом не менялась. При максимальной дозе (порядка 10 Гр) ее мощность превышала 100 МГр/с, при минимальной (менее 1 Гр) составляла около 10 МГр/с.

Для облучения образцы суспензии мононуклеаров помещали в пластиковые пробирки, располагаемые перпендикулярно относительно пучка излучения (рис. 2, В). Толщина слоя жидкости в пробирках составляла около 4 мм. После облучения образцы переносили в культуральные чашки и помещали в CO_2-инкубатор, как было описано выше.

Облучение образцов на установке «Мир-М»

Установка «Мир-М» — экспериментальная установка, сильноточный наносекундный ускоритель электронов. Выходная энергия — до 800 кВ, длительность импульса — 40–60 нс на полувысоте. Мишень анодного узла представляет собой танталовую фольгу толщиной 50–100 мкм. Непосредственно за фольгой установлен дополнительный фильтр — углеродный композит Graflex толщиной 0,5–1 мм для поглощения прошедших через фольгу электронов. Фланец выпускного окна выполнен из алюминия толщиной 1 мм. Мощность доз совпадала с той, что получали при использовании установки «Ангара-5-1».

Дозиметрические измерения производили двумя способами.

Для оперативной дозиметрии использовали термолюминесцентные дозиметры ДТГ-4 (НПП «Доза»), представляющие собой монокристаллическую таблетку из фтористого лития, активированную магнием и титаном. Измерения облученных ТЛД производили на комплексе «ДОЗА-ТЛД» (НПП «Доза») с помощью программного обеспечения DVG того же производителя. Предел допустимой основной относительной погрешности системы ТЛД–комплекс «ДОЗА-ТЛД» (при доверительной вероятности 0,95) фотонного излучения составляет ± 30 %. Поэтому для повышения точности измерений дозиметры были дополнительно откалиброваны путем облучения на установке «Рокус-АМ» с источником излучения кобальт-60 в дозе 7 Гр с последующим измерением и учетом индивидуальных особенностей каждой таблетки ТЛД.

Для более точной дозиметрии использовали дозиметрические пленки Gafchromic EBT 2 (Ashland, США). Для обработки пленок использовали программу DoseLab 6.5 (Moebius Medical Systems, США). Ввиду того, что градиент дозы по оси пучка для установки «Мир-М» значителен и наблюдалось снижение дозы в 1,5–2 раза при прохождении 1 см объекта, в зависимости от используемого катода, при облучении стремились максимально уменьшить линейные размеры образца.

Образцы представляли собой 0,6 мл перемешанной суспензии мононуклеаров, герметизированной в гнезде диаметром 16 мм и глубиной 2 мм. Суспензия занимала весь объем гнезда, т. е. во время облучения лейкоциты были равномерно распределены в нем.

Пакет для облучения одного образца имел следующий состав: разделитель толщиной 5 мм из 2 пластиковых пластин толщиной 1 мм и промежутком между ними в 3 мм; слой пенополиуретана толщиной 2 мм с гнездом, содержащим образец; подложка в виде пластиковой

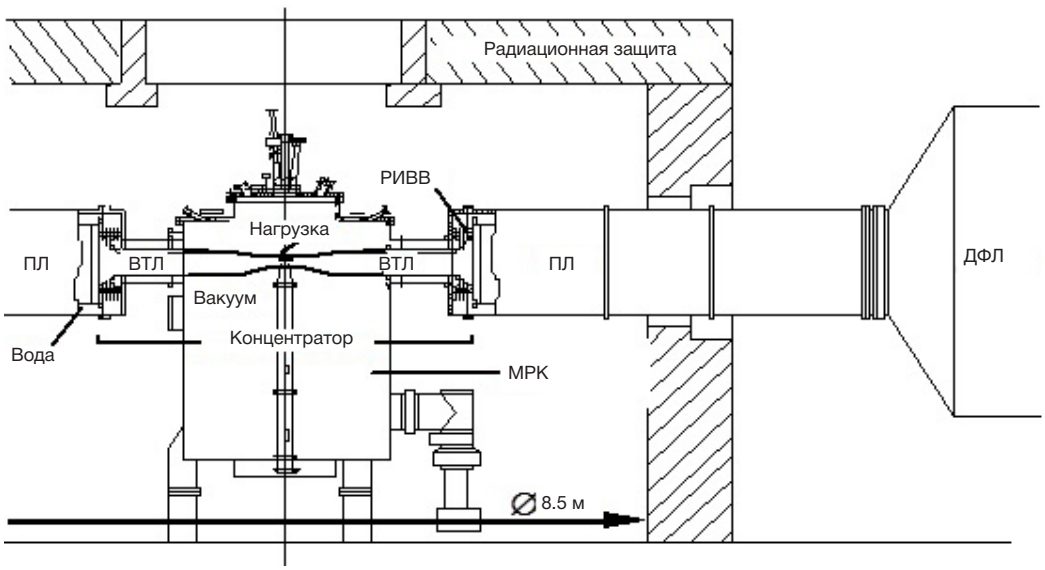


Рис. 1. Схема формирования и транспортировки электромагнитного импульса от модуля генератора установки «Ангара-5-1» к нагрузке, помещенной в вакуумную камеру. ДФЛ — водяная двойная формирующая линия; ПЛ — водяная передающая линия; РИВВ — разделительный изолятор интерфейса вода–вакуум; ВТЛ — вакуумная транспортирующая линия с магнитной самоизоляцией; МРК — вакуумная камера с концентратором электромагнитной мощности

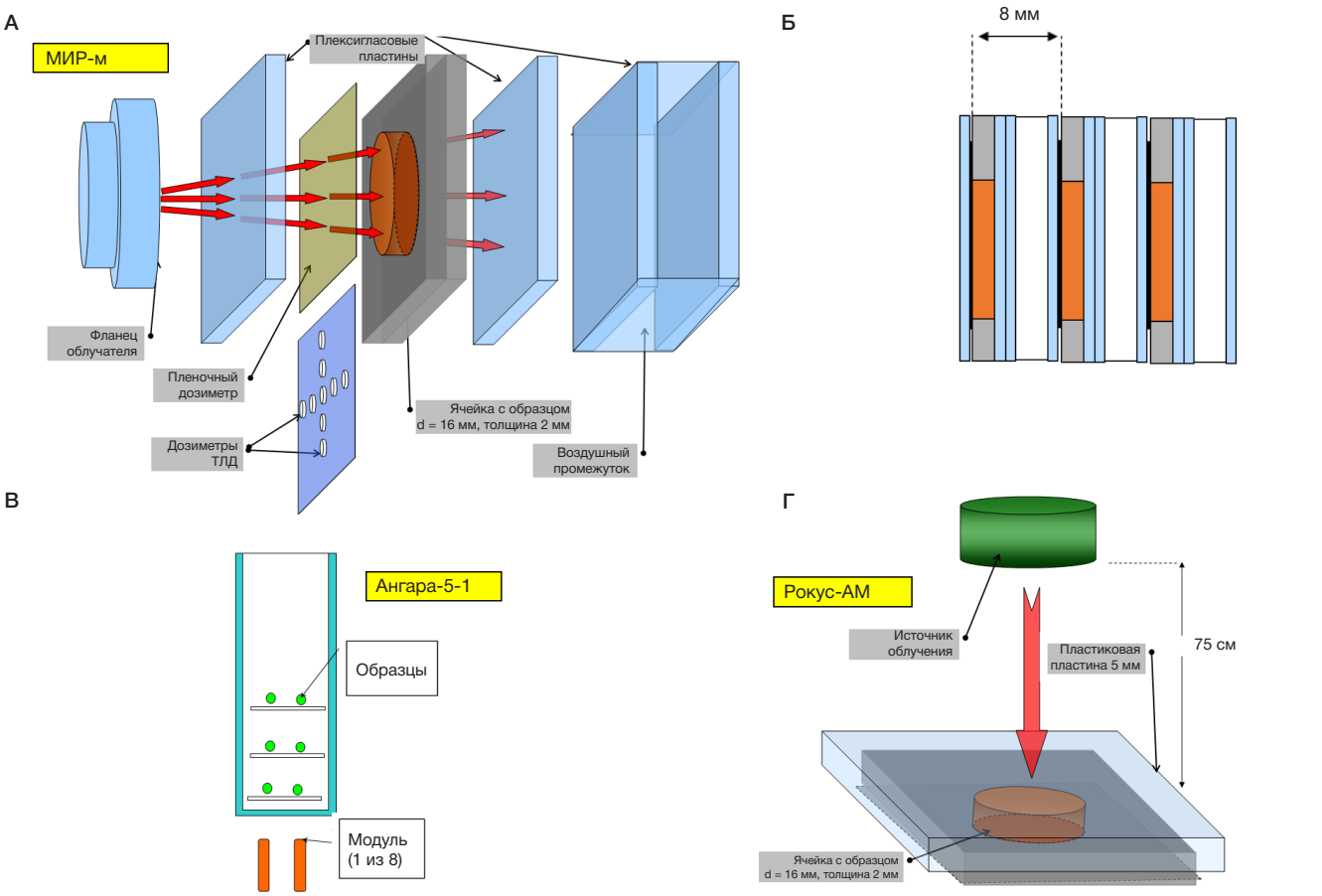


Рис. 2. Размещение образцов при облучении на установках «Мир-М» **(А, Б)**, «Ангара-5-1» **(В)** и «Рокус-АМ» **(Г)**

пластины толщиной 1 мм. Пакеты размещались по одной оси так, что гнезда с образцами находились строго друг за другом. Таким образом, расстояние между образцами, если считать от центра, составило 8 мм. Расстояние от фланца установки до фронтальной границы первого образца составило около 1 см. Дозиметры располагали после разделителя, прилегая непосредственно к передней поверхности гнезда с образцом (рис. 2, А, Б).

Облучение образцов на терапевтической гамма-установке «Рокус-АМ»

«Рокус-АМ» представляет собой терапевтическую гамма-установку. Источником излучения служит кобальт-60. В исследовании ее использовали для сравнения эффективности излучения малой мощности и высокоинтенсивного гамма-излучения. Мощность дозы применявшейся установки составляла 0,9 Гр/мин (15 МГр/с), т. е. в 10^9–10^{10} раз уступала мощности наносекундных ускорителей.

Для облучения использовали ту же клеточную суспензию, что и на установках высокоинтенсивного гамма-излучения. Это позволило нивелировать различия, связанные с индивидуальными особенностями образцов.

Облучение проводили в одиночном гнезде из набора, использованного при облучении на установке «Мир-М». Горизонтальное расположение образца позволило использовать открытый тонкостенный пластиковый контейнер, занимавший весь объем гнезда и имевший высоту стенок 2 мм (рис. 2, Г). В связи с необходимостью достижения расчетной дозы установления электронного равновесия в зоне образца сверху помещали пластиковую пластину толщиной 5 мм, а под образцом — плексигласовую пластину толщиной 15 мм.

Параметры облучения: расстояние источник–поверхность — 75 см, поле — 10 × 10 см. Облучение производили со смещением по времени в 1–1,5 ч относительно времени облучения на установках высокоинтенсивного гамма-излучения.

Исследование уровня апоптоза в образцах

По завершении инкубации исследовали уровень апоптоза в образцах клеточной суспензии методом проточной цитофлуориметрии. Использовали две методики: окраску нативных образцов с помощью набора Annexin V-FITC Kit (Beckman Coulter, США), содержащим аннексин V и йодид пропидия, и окраску фиксированных образцов йодидом пропидия.

В первом случае после облучения и инкубации образцы отмывали в ФСБ и проводили окрашивание 100 мкл клеточной суспезии, содержавшей 10^6 клеток, согласно инструкции к набору Annexin V-FITC Kit. Данная методика окраски позволяет определить количество клеток, вступивших в апоптоз (аннексин V-положительные частицы); количество клеток, погибших/гибнущих по пути некроза (частицы, положительные по йодиду пропидия); оценить «ранний» апоптоз (частицы, положительные только по аннексину V) и «поздний» апоптоз (частицы, положительные и по аннексину V, и по йодиду пропидия).

Окраска фиксированных образцов йодидом пропидия выявляет апоптоз в виде «субдиплоидного» пика на однопараметрической гистограмме и отражает количество апоптотических телец в образце. Фиксацию проводили в 70 %

ледяном этаноле после инкубации облученных образцов в течение 24 или 48 ч. Время фиксации составляло 72 ч. Далее клетки дважды отмывали в 1 мл ФСБ и ресуспендировали 100 мкл ФСБ. Для предотвращения связывания йодида пропидия с РНК исследуемую клеточную суспензию инкубировали с 20 мкл РНКазы А (R4875, Sigma-Aldrich, США) при 37 °С в течение 30 мин. По окончании инкубации суспензию окрашивали 20 мкл йодида пропидия в течение 40 мин при комнатной температуре в защищенном от света месте. Перед анализом на проточном цитофлуориметре в образец вносили 1 мл ФСБ. Конечная концентрация клеток составляла не менее 10^6 клеток.

Анализ проводили на проточном цитофлуориметре Cytomics FC 500 (Beckman Coulter). Измеряли отношение субдиплоидного пика к общему количеству клеток.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При облучении лимфоцитов с помощью терапевтического гамма-аппарата «Рокус-АМ» установили, что зависимость уровня апоптоза от дозы облучения (в исследованном диапазоне доз) имеет линейный характер. При этом уровень апоптоза возрастает при увеличении времени инкубации после облучения: если через 24 ч инкубации уровень апоптоза под воздействием дозы в 5 Гр увеличивался примерно на 8,0 ± 2,2 % относительно условного 0 % в необлученных образцах, то через 48 ч инкубации наблюдалось увеличение уровня спонтанного апоптоза на 10,0 ± 2,6 %, а уровня апоптоза под воздействием дозы в 5 Гр — на 27,0 ± 3,8 % (p = 0,004) (рис. 3).

При облучении лимфоцитов с помощью установки «Ангара-5-1» уровень апоптоза также имел линейную зависимость от дозы, однако наклон прямой был существенно выше по сравнению с наклоном прямой, построенной для результатов облучения на аппарате «Рокус-АМ» (рис. 3). Так, если при воздействии дозой в 3 Гр на «Рокус-АМ» уровень апоптоза через 48 ч инкубации составил 23,0 ± 3,1 %, то при воздействии высокоинтенсивным излучением в дозе, сопоставимой с 3 Гр, уровень апоптоза в образце того же донора приближался к 31,0 ± 3,8 % (p = 0,050). Таким образом, высокоинтенсивное тормозное излучение оказывает больший проапоптотический эффект, чем гамма-излучение в дозах «терапевтической» мощности.

Поскольку различия, полученные при сравнительном исследовании влияния излучения двух типов на индукцию апоптоза лимфоцитов периферической крови, оказались достоверными мы продолжили работу на экспериментальной установке «Мир-М», разработанной специально для проведения медико-биологических экспериментов, для более глубокого понимания влияния высокоинтенсивного излучения на индукцию апоптоза. Для этого использовали маркеры раннего и позднего апоптоза и выделили фракцию некротических клеток, ранее не исследованную, т. к. эти клетки при регистрации субдиплоидного пика попадают во фракцию неповрежденных клеток.

На рис. 4 показаны изменения уровня апоптоза (ранний — рис. 4, А и поздний — рис. 4, Б) и уровня некроза в облученных образцах (рис. 4, В), а также суммарная клеточная гибель (рис. 4, Г) в зависимости от дозы облучения и мощности установки. Провели сравнение воздействия гамма-излучения терапевтической установки «Рокус-АМ» и высокоинтенсивного излучения экспериментальной установки «Мир-М» (только для продолжительности инкубации образцов лимфоцитов в 48 ч).

Показано, что суммарная клеточная гибель примерно одинакова при работе с обеими установками, а при дозе облучения более 5 Гр наблюдается тенденция к увеличению клеточной гибели при облучении на установке «Рокус-АМ» (рис. 4, Г). Однако при сравнении типов клеточной гибели уровень апоптоза (количество аннексин V-положительных клеток) достоверно выше (p < 0,05) при воздействии на периферические лимфоциты высокоинтенсивного излучения установки «Мир-М» в дозах от 4 Гр. Уровень некроза при воздействии установкой «Мир-М» не превышал 12,0 ± 2,2 % (доза 6 Гр), а при воздействии гамма-установкой «Рокус-АМ» — 44,0 ± 8,1 % (доза 6 Гр) (p = 0,0029).

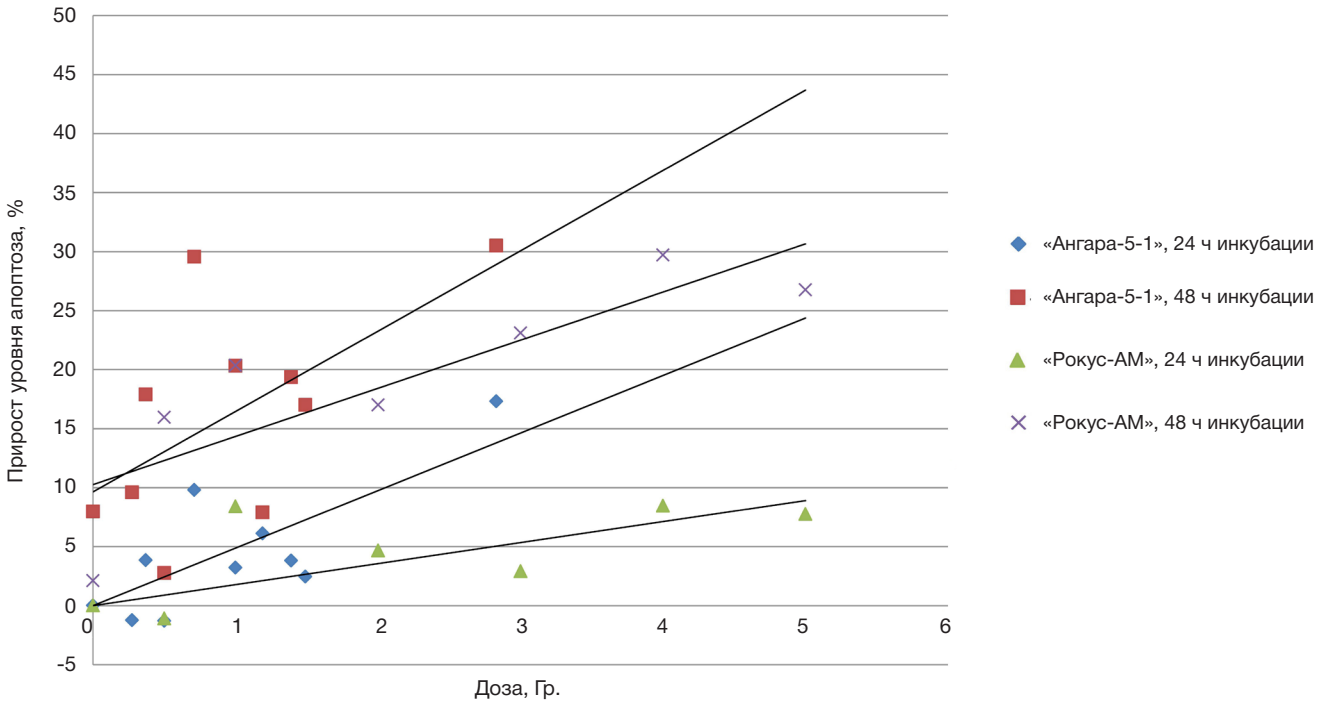


Рис. 3. Изменение уровня апоптоза при облучении образцов суспензии лимфоцитов периферической крови человека на установках «Рокус-АМ» и «Ангара-5-1» в дозах от 0 до 5 Гр

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В силу того, что экспериментальные установки «Ангара-5-1» и «Мир-М» являются уникальными, не имеющими аналогов в мире, сравнение результатов данного исследования с результатами других авторов затруднено. Есть несколько работ, посвященных исследованию биологических эффектов при использовании фотонного пучка ультравысокой мощности [6, 7, 16], и в этих работах не анализируются варианты гибели клеток при воздействии гамма-излучением сверхвысокой мощности, а только приводятся данные об общей гибели клеток или сопоставляется противоопухолевая активность на животных.

Исследование зависимости индукции апоптоза лимфоцитов периферической крови здоровых доноров с использованием высокоинтенсивного тормозного излучения на установках «Ангара-5-1» и «Мир-М» в сравнении с гамма-излучением установки «Рокус-АМ» показало, что использование высокоинтенсивного излучения приводит к усилению индукции апоптоза. При этом рост уровня апоптоза линейный в диапазоне доз до 6 Гр и зависит от продолжительности инкубации после облучения (24 или 48 ч). В то же время имеются данные об отсутствии различий по уровню апоптоза при облучении дозами разной мощности [16]. Так, в работе Kotenko и соавт. показано, что при увеличении мощности дозы происходит рост числа двунитевых разрывов ДНК и нарушение механизмов репарации ДНК, но уровень апоптоза при этом не меняется. Аналогичные результаты получены в работе [17]. Но, хотя в этих исследованиях и изучали терапевтические диапазоны доз, возникает вопрос: почему нарушения репарации ДНК в сочетании с высоким уровнем двунитевых разрывов не приводили к усилению апоптотических процессов? Возможно, различия между нашим исследованием и этими работами объясняются особенностями биологических моделей. Так, если мы облучали мононуклеары периферической крови, то в исследованиях [16, 17] облучали фибробласты человека. К тому же облучение на установках «Ангара-5-1» и «Мир-М» отличается максимально высокой мощностью, порядка 100 МГр/с, что также может существенно влиять на результаты. И, возможно, при достижении таких мощностей доз перестают работать дополнительные системы репарации ДНК, которые проявляют активность при дозах 1–400 мГр/мин (0,017–6,7 МГр/с) [17]. Можно предположить, что в этом случае двунитевые разрывы ДНК имеют такую пространственную конфигурацию, что работа систем репарации оказывается затруднена (например, увеличивается «плотность» двойных разрывов). Следует также подчеркнуть, что радиочувствительность клетки зависит от фазы клеточного цикла и она минимальна для неделящихся клеток, к которым относятся мононуклеары периферической крови, большая часть которых — это лимфоциты. Именно неделящиеся клетки опухоли образуют наиболее радиорезистентную клеточную

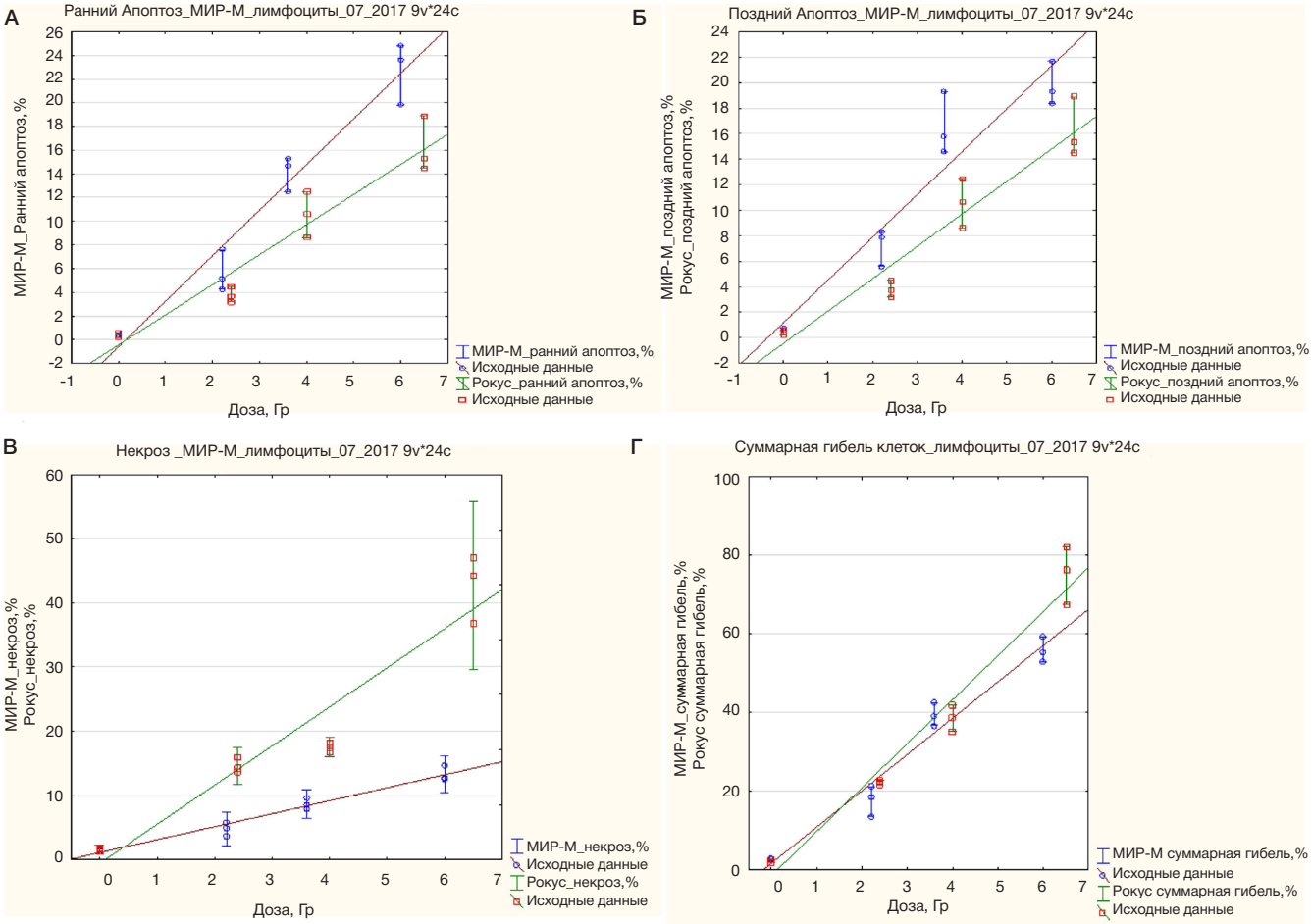


Рис. 4. Сравнение эффектов воздействия облучением экспериментальной установки «Мир-М», представляющей собой сильноточный наносекундный ускоритель электронов, и гамма-терапевтической установки «Рокус-АМ» на образцы суспензии лимфоцитов периферической крови человека в дозах от 0 до 6 Гр. **(А)** Изменение уровня раннего апоптоза (Annexin V+/PI–); **(Б)** изменение уровня позднего апоптоза (Annexin V+/PI+); **(В)** изменение уровня некроза (Annexin V–/PI+); **(Г)** суммарная клеточная гибель. Annexin V — аннексин V, PI — йодид пропидия. Знаками + и – указано присутствие или отсутствие окрашивания

фракцию опухолевой клеточной популяции. Поэтому полученные нами результаты могут представлять определенный интерес для разработки методов лучевой терапии с использованием гамма-излучения, имеющего сверхвысокую мощность дозы.

Мы также обнаружили, что уровень некроза, индуцируемого высокоинтенсивным излучением, достоверно ниже такового, регистрируемого при использовании «терапевтического» гамма-излучения. При этом в диапазоне доз до 6 Гр уровень некроза возрастает пропорционально увеличению дозы. Анализ суммарной гибели клеток (лимфоцитов периферической крови) показал, что при использовании 2 мощностей дозы при однократном облучении в диапазоне доз до 6 Гр значение этого показателя примерно одинаково для установок разных типов. Перечисленные результаты согласуются с тем, что наблюдали другие исследователи. Например, в работе Brüchne и соавт. [9] эффект задержки роста опухолевого узла КНТ-С фибросаркомы мышей был сопоставим при облучении на терапевтической гамма-установке и экспериментальной установке лазерного высокоинтенсивного излучения.

ВЫВОДЫ

В диапазоне доз до 6 Гр уровень суммарной клеточной гибели при воздействии высокоинтенсивным гамма-излучением сопоставим с таковым при воздействии гамма-излучением терапевтической установки. При этом высокоинтенсивное излучение индуцирует клеточную гибель по пути апоптоза, в то время как низкоинтенсивное — по пути некроза.

Полученные нами результаты позволяют предположить, что высокоинтенсивное излучение может быть предпочтительнее низкоинтенсивного в клинической (онкологической) практике, т. к. индукция гибели значительной доли клеток по пути именно апоптоза более «физиологична» и должна реже приводить к осложнениям, связанным с массовой некротической гибелью клеток (распад тканей, интоксикация, повреждение нормальных тканей и др.). Необходимы эксперименты по исследованию механизмов активации апоптоза в неделящихся (интерфазных) клетках при использовании сверхвысоких мощностей дозы, в том числе в сравнении с клетками, находящихся в других фазах клеточного цикла

Литература

1. Mendelsohn J, Howley PM, Israel MA, Liotta LA et al, editors. The molecular Basis of Cancer. 2nd ed. Philadelphia: Saunders; 2001. p. 423–5.
2. Bessler H, Bergman M, Salman H, Cohen AM, Fenig E, Djaldetti M. Factor(s) released from irradiated B-CLL cells induce apoptosis in leukemia lymphocytes. Cancer Lett. 2002 May 8; 179 (1): 103–8.
3. Ward JF. DNA damage produced by ionizing radiation in mammalian cells: identities, mechanisms of formation, and reparability. Prog Nucleic Acid Res Mol Biol. 1988; 35: 95–125.
4. Thompson CB. Apoptosis in patogenesis and treatment of disease. Science. 1995 Mar 10; 267 (5203): 1456–62.
5. Голдобенко Г. В., Костылев В. А. Актуальные проблемы радиационной онкологии и пути их решения. М.: АМФ-Пресс; 1994. с. 37.
6. Kroemer G, Reed JC. Mitochondrial control of cell death. Nat Med. 2000 May; 6 (5): 513–9.
7. Волкова М. А., Ширин А. Д., Османов Д. Ш., Френкель М. А. Возможности современной терапии острого промиелоцитарного лейкоза. Современная онкология. 2001; 3 (2): 1–9.
8. Альбиков З. А., Велихов Е. П., Веретенников А. И. и др. Импульсный термоядерный комплекс Ангара-5-1. Атомная энергия. 1990; 68 (1): 26–35.
9. Brüchner K, Beyreuther E, Baumann M, Krause M, Oppelt M, Pawelke J. Establishment of a small animal tumour model for in vivo studies with low energy laser accelerated particles. Radiat Oncol. 2014; 9: 57. DOI: 10.1186/1748-717X-9-57.
10. Konopacka M, Rogoliński J, Sochanik A, Slosarek K. Can high dose rates used in cancer radiotherapy change therapeutic effectiveness? Contemp Oncol (Pozn). 2016; 20 (6): 449–52. DOI: 10.5114/wo.2016.65603.
11. Ślosarek K, Konopacka M, Rogoliński J, Latocha M, Sochanik A. Effect of depth on radiation-induced cell damage in a water phantom. Rep Pract Oncol Radiother. 2005; 10 (1): 37–41. DOI: 10.1016/S1507-1367(05)71080-4.
12. Ślosarek K, Konopacka M, Rogoliński J, Sochanik A. Effect of dose-rate and irradiation geometry on the biological response of normal cells and cancer cells under radiotherapeutic conditions. Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen. 2014 Oct; 773: 14–22. DOI: 10.1016/j.mrgentox.2014.07.005.
13. Wang Z, Zhao Z, Lu J, Chen Z, Mao A, Teng G et al. A comparison of the biological effect of 125J seeds continuous low-dose-rate radiation and 60Co high-dose-rate gamma radiation on non-small cell lung cancer cells. PLoS One. 2015; 10 (8): e0133728. DOI: 10.1371/journal.pone.0133728.
14. Brehwens K, Bajinskis A, Haghdoost S, Wojcik A. Micronucleus frequencies and clonogenic cell survival in TK6 cells exposed to changing dose rates under controlled temperature conditions. Int J Radiat Biol. 2014 Mar; 90 (3): 241–7. DOI: 10.3109/09553002.2014.873831.
15. Zlobinskaya O, Siebenwirth C, Greubel C, Hable V, Hertenberger R, Humble N et al. The Effects of Ultra-High Dose Rate Proton Irradiation on Growth Delay in the Treatment of Human Tumor Xenografts in Nude Mice. Radiat Res. 2014 Feb; 181 (2): 177–83. DOI: 10.1667/RR13464.1.
16. Kotenko KV, Bushmanov AY, Ozerov IV, Guryev DV, Anchishkina NA, Smetanina NM et al. Changes in the number of double-strand DNA breaks in chinese Hamster V79 cells exposed to gamma-radiation with different dose rates. Int J Mol Sci. 2013 Jul 1; 14 (7): 13719–26. DOI: 10.3390/ijms140713719.
17. Озеров И. В., Осипов А. Н. Кинетическая модель репарации двунитевых разрывов ДНК в первичных фибробластах человека при действии редкоионизирующего излучения с различной мощностью дозы. Компьютерные исследования и моделирование. 2015; 7 (1): 159–176.
18. Кулинич Т. М., Боженко В. К., Сергеев И. Е., Сотников В. М., Хмелевский Е. В., Шишкин А. М. Изучение краткосрочных эффектов воздействия ионизирующего излучения на лимфоциты периферической крови больных неходжкинскими лимфомами in vitro. Вестник Российского университета дружбы народов. Серия: Медицина. 2005; (1): 34–40.
19. Быков Ю. А., Крастелев Е. Г., Попов Г. В., Седин А. А., Федущак В. Ф. Субмикросекундный линейный импульсный трансформатор на напряжение 800 КВ с модульной малоиндуктивной системой первичного электропитания. Ядерная физика и инжиниринг. 2015; 6 (11–12): 579–86. DOI: 10.1134/S2079562915060068.

References

1. Mendelsohn J, Howley PM, Israel MA, Liotta LA et al, editors. The molecular Basis of Cancer. 2nd ed. Philadelphia: Saunders; 2001. p. 423–5.
2. Bessler H, Bergman M, Salman H, Cohen AM, Fenig E, Djaldetti M.

Factor(s) released from irradiated B-CLL cells induce apoptosis in leukemia lymphocytes. Cancer Lett. 2002 May 8; 179 (1): 103–8.
3. Ward JF. DNA damage produced by ionizing radiation in mammalian cells: identities, mechanisms of formation, and reparability. Prog Nucleic Acid Res Mol Biol. 1988; 35: 95–125.
4. Thompson CB. Apoptosis in patogenesis and treatment of disease. Science. 1995 Mar 10; 267 (5203): 1456–62.
5. Goldobenko GV, Kostylev VA. Aktual'nye problemy radiatsionnoy onkologii i puti ikh resheniya. Moscow: AMF-Press; 1994. p. 37. Russian.
6. Kroemer G, Reed JC. Mitochondrial control of cell death. Nat Med. 2000 May; 6 (5): 513–9.
7. Volkova MA, Shirin AD, Osmanov DSh, Frenkel MA. Vozmozhnosti sovremennoy terapii ostrogo promielotsitarnogo leykoza. Sovremennaya onkologiya. 2001; 3 (2): 1–9. Russian.
8. Albikov ZA, Velikhov EP, Veretennikov AI et al. Impul'snyy termoyadernyy kompleks Angara-5-1. Atomnaya energiya. 1990; 68 (1): 26–35. Russian.
9. Brüchner K, Beyreuther E, Baumann M, Krause M, Oppelt M, Pawelke J. Establishment of a small animal tumour model for in vivo studies with low energy laser accelerated particles. Radiat Oncol. 2014; 9: 57. DOI: 10.1186/1748-717X-9-57.
10. Konopacka M, Rogoliński J, Sochanik A, Slosarek K. Can high dose rates used in cancer radiotherapy change therapeutic effectiveness? Contemp Oncol (Pozn). 2016; 20 (6): 449–52. DOI: 10.5114/wo.2016.65603.
11. Ślosarek K, Konopacka M, Rogoliński J, Latocha M, Sochanik A. Effect of depth on radiation-induced cell damage in a water phantom. Rep Pract Oncol Radiother. 2005; 10 (1): 37–41. DOI: 10.1016/S1507-1367(05)71080-4.
12. Ślosarek K, Konopacka M, Rogoliński J, Sochanik A. Effect of dose-rate and irradiation geometry on the biological response of normal cells and cancer cells under radiotherapeutic conditions. Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen. 2014 Oct; 773: 14–22. DOI: 10.1016/j.mrgentox.2014.07.005.
13. Wang Z, Zhao Z, Lu J, Chen Z, Mao A, Teng G et al. A comparison of the biological effect of 125J seeds continuous low-dose-rate radiation and 60Co high-dose-rate gamma radiation on non-small cell lung cancer cells. PLoS One. 2015; 10 (8): e0133728. DOI: 10.1371/journal.pone.0133728.
14. Brehwens K, Bajinskis A, Haghdoost S, Wojcik A. Micronucleus frequencies and clonogenic cell survival in TK6 cells exposed to changing dose rates under controlled temperature conditions. Int J Radiat Biol. 2014 Mar; 90 (3): 241–7. DOI: 10.3109/09553002.2014.873831.
15. Zlobinskaya O, Siebenwirth C, Greubel C, Hable V, Hertenberger R, Humble N et al. The Effects of Ultra-High Dose Rate Proton Irradiation on Growth Delay in the Treatment of Human Tumor Xenografts in Nude Mice. Radiat Res. 2014 Feb; 181 (2): 177–83. DOI: 10.1667/RR13464.1.
16. Kotenko KV, Bushmanov AY, Ozerov IV, Guryev DV, Anchishkina NA, Smetanina NM et al. Changes in the number of double-strand DNA breaks in chinese Hamster V79 cells exposed to gamma-radiation with different dose rates. Int J Mol Sci. 2013 Jul 1; 14 (7): 13719–26. DOI: 10.3390/ijms140713719.
17. Ozerov IV, Osipov AN. [Kinetic model of DNA double-strand break repair in primary human fibroblasts exposed to low-LET irradiation with various dose rates]. Computer Research and Modeling. 2015; 7 (1): 159–76. Russian.
18. Kulinich TM, Bozhenko VK, Sergeev IE, Sotnikov VM, Khmelevsky EV, Shishkin AM. [Investigation of short term effects of y-irradiation on peripheral blood lymphocytes of non-hodgkin malignant lymphoma patients]. RUDN Journal of Medicine. 2005; (1): 34–40. Russian.
19. Bykov YuA, Krastelev EG, Popov GV, Sedin AA, Fedushchak VF. Submikrosekundnyy lineynyy impul'snyy transformator na napryazhenie 800 KV s modul'noy maloinduktivnoy sistemoy pervichnogo elektropitaniya. Yadernaya fizika i inzhiniring. 2015; 6 (11–12): 579–86. DOI: 10.1134/S2079562915060068. Russian.

ВЛИЯНИЕ ТИПА АНЕСТЕЗИИ И УСЛОВИЙ ПРОКРАШИВАНИЯ ТКАНЕЙ МОЗГА КРАСИТЕЛЕМ 2,3,5-ТРИФЕНИЛТЕТРАЗОЛИЕМ ХЛОРИСТЫМ (ТТХ) НА ОЦЕНКУ ИШЕМИЧЕСКОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ МОЗГА КРЫС НА РАННИХ СТАДИЯХ ПАТОГЕНЕЗА

Д. С. Билан[1,2], И. В. Кельмансон[1], В. В. Белоусов[1,2] ✉

[1] Лаборатория молекулярных технологий,
Институт биоорганической химии имени академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН, Москва

[2] Отдел нейро-компьютерных интерфейсов, НИИ трансляционной медицины,
Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва

Изучение ишемического повреждения головного мозга является важным направлением современных медико-биологических исследований. К настоящему моменту разработано множество моделей ишемического инсульта, а также предложены различные способы визуализации поврежденных тканей мозга. В данной работе мы исследовали, как различные условия проведения эксперимента, моделирующего ишемический инсульт у крыс, влияют на интерпретацию результатов в острой фазе заболевания (5 ч с момента окклюзии средней мозговой артерии крыс). Мы показали, что на ранней стадии развития патологии существенное влияние оказывает выбор используемой анестезии животных. В наибольшей степени повреждение мозга было выражено при использовании для анестезии смеси хлоралгидрат/Рометар, в наименьшей — при использовании изофлурана. Для визуализации повреждения мозга животных мы использовали наиболее популярный краситель 2,3,5-трифенилтетразолий хлористый (ТТХ). Мы установили, что температура и время инкубации срезов мозга в растворе ТТХ также значительно влияют на интерпретацию результатов при оценке ишемического повреждения в острой фазе патологии. Оптимальными условиями окрашивания срезов мозга в растворе ТТХ являются 30-минутная инкубация срезов при 37 °С.

Ключевые слова: инсульт, ишемическое повреждение, срезы мозга, 2,3,5-трифенилтетразолий хлористый, окрашивание, анестезия, крысы

Финансирование: работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, грант № 17-15-01175

✉ **Для корреспонденции:** Белоусов Всеволод Вадимович
ул. Миклухо-Маклая, д. 16/10, г. Москва, 117997; belousov@ibch.ru

Статья получена: 29.11.2017 **Статья принята к печати:** 10.12.2017

THE CHOICE OF ANESTHETIC TYPE AND CONDITIONS FOR 2,3,5-TRIPHENYLTETRAZOLIUM CHLORIDE STAINING OF BRAIN SLICES IS IMPORTANT IN THE ASSESSMENT OF ISCHEMIC INJURY IN RATS IN THE EARLY STAGES OF PATHOLOGY

Bilan DS[1,2], Kelmanson IV[1], Belousov VV[1,2] ✉

[1] Laboratory for Molecular Technologies,
Shemyakin and Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

[2] Department of Brain-Computer Interfaces, Research Institute for Translational Medicine,
Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

Studies of ischemic brain injury are an important area of modern biomedical research. So far, a lot of ischemic stroke models have been proposed, along with different imaging and staining modalities aimed to visualize the damaged tissue. In this work we use a rat model to investigate how the experimental setup affects the interpretation of experimental data obtained in the acute phase of ischemic stroke (5 hours after the occlusion of the middle cerebral artery). We show the association between the choice of the type of anesthesia and the severity of ischemic injury: in our experiments brain damage was the most pronounced in the animals anesthetized with a combination of chloral hydrate and Rometar; the least damage was observed for isoflurane. Staining was performed using the popular dye 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride (TTC). We demonstrate that parameters of brain slices incubation in TTC also need to be accounted for when interpreting the results obtained during the acute phase of stroke, the optimum incubation time being 30 min and temperature 37 °C.

Keywords: stroke, ischemic injury, brain slices, 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride, staining, anesthesia, rats

Funding: this work was supported by the Russian Science Foundation (Grant 17-15-01175)

✉ **Correspondence should be addressed:** Vsevolod Belousov
ul. Miklukho-Maklaya, d. 16/10, Moscow, Russia, 117997; belousov@ibch.ru

Received: 29.11.2017 **Accepted:** 10.12.2017

Ишемический инсульт головного мозга является одним из наиболее серьезных неврологических нарушений, занимающим второе место после сердечно-сосудистых заболеваний в структуре причин смертности и инвалидизации населения по всему миру [1–4]. На сегодняшний день не существует эффективной стратегии лечения этого заболевания, малоизученным остается и его патогенез.

К настоящему времени разработано несколько разных моделей ишемического инсульта [5–12], однако окклюзия средней мозговой артерии с помощью введения внутрь сосуда окклюдера (монофиламента) является наиболее популярной. Впервые эту модель описали Koizumi и соавт. [13], но с тех пор она была усовершенствована и сейчас адаптирована для различных лабораторных животных, например, для крыс [14] и мышей [15].

Помимо разных животных и разных моделей ишемического инсульта используют также разные способы визуализации поврежденной области мозга. Инфаркт можно выявить на срезах мозга, используя гистологические красители: самым распространенным подходом является окраска гематоксилин-эозином [16, 17], применяют и различные модификации окраски по методу Ниссля [18, 19]. Также существует способ импрегнации нервных тканей серебром. В некоторых работах отмечено, что такой подход позволяет зафиксировать дегенеративные процессы на более ранних стадиях патогенеза [20, 21]. Альтернативным подходом может быть использование флуоресцентных красок Fluoro-Jade [22–24], однако точный механизм действия этих красок пока неизвестен. Одним из самых простых способов визуализации поврежденной ткани на срезах мозга является ее окрашивание с помощью 2,3,5-трифенилтетразолия хлористого (ТТХ) [25]. В живых клетках ферменты с дегидрогеназной активностью восстанавливают это соединение до производного формазана, который дает стабильное красное окрашивание здоровой ткани. В поврежденных областях, в которых нет функциональной активности митохондрий, окрашивания не происходит. Еще один подход основан на применении методов иммуногистохимии, которые позволяют визуализировать, например, апоптотические клетки в зоне поражения [26, 27]. К неинвазивным методам регистрации инсульта относятся магнитно-резонансная томография [28], позитронно-эмиссионная томография [29] и однофотонная эмиссионная компьютерная томография [30]. Это далеко не весь перечень подходов, с помощью которых можно визуализировать ишемический очаг повреждения, более подробная информация представлена в тематических обзорах [31].

Из-за разнообразия подходов к исследованию патогенеза инсульта и разработки методов его терапии в рамках регулярных конференций «Практические и фундаментальные проблемы терапии инсульта» (The Stroke Therapy Academic Industry Roundtable, STAIR) было выпущено множество рекомендаций, касающихся важных аспектов экспериментального моделирования ишемического инсульта [32–35]. Согласно им результат исследования во многом зависит от выбора экспериментальной модели, линии животного, типа анестезии, способа визуализации повреждения мозга и других параметров.

При этом во многих исследованиях даже протоколы стандартных процедур могут существенно различаться. Например, способ визуализации поврежденной ткани на срезах мозга с помощью ТТХ используется в большинстве современных исследований. В оригинальной статье срезы мозга крысы спустя 24 ч с момента начала окклюзии прокрашивали в растворе ТТХ в течение 30 мин при 37 °С [25]. Однако в ряде работ зафиксировать повреждение мозга с помощью этого подхода удалось уже через несколько часов с момента окклюзии [21, 36–43]. Кроме того, в разных работах варьируют длительность инкубации срезов мозга в растворе ТТХ от 5 мин [44] до общепринятых 30 мин [25]. В некоторых протоколах утверждается, что ТТХ нестабилен при нагревании, поэтому окрашивание ткани рекомендуют проводить при комнатной температуре [45]. В большинстве работ окрашивают срезы мозга, но в некоторых случаях животным проводят транскардиальную перфузию раствором ТТХ [38, 46].

В настоящей работе мы показали, что температура и время инкубации срезов мозга в растворе ТТХ значительно влияют на визуализацию поврежденной ткани мозга крыс в острой фазе перманентной ишемии, что может приводить к неверной интерпретации результатов экспериментов. Мы также продемонстрировали, что выбор используемой анестезии животного существенно влияет на степень ишемического повреждения на ранней стадии развития патологии (5 ч после окклюзии), в то время как на более поздних этапах (24 ч после окклюзии) это влияние нивелируется.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты с животными выполняли в соответствии с требованиями Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и совета Европейского союза от 22.09.2010. Протокол исследования был утвержден комиссией ИБХ РАН по контролю за содержанием и использованием животных.

Работу проводили на самцах крыс линии Wistar из питомника лабораторных животных «Пущино» весом от 280 до 330 г. Крыс содержали в виварии ИБХ РАН по 3 особи в пластмассовых клетках со свободным доступом к воде и пище.

Окклюзию средней мозговой артерии проводили по протоколу [14]. В работе использовали три вида анестезии:

1. изофлуран (Аерран, Baxter, США): введение в наркоз — 5 %, поддержание наркоза — 1,5 %;

2. тилетамина гидрохлорид/золазепама гидрохлорид (Золетил, Virbac Sante Animale, Франция; 40 мг/кг) + ксилазина гидрохлорид (Рометар, Bioveta, Чехия; 10 мг/кг) — внутрибрюшинная инъекция;

3. хлоралгидрат («Диаэм», Россия; 400 мг/кг).

Для обезболивания использовали кетопрофен (Ketonal, Sandoz, Швейцария; 5 мг/кг подкожно), местное обезболивание проводили с помощью 2 % новокаина.

В работе использовали готовые окклюдеры фирмы Doccol (США) диаметром 0,185 мм, кат. No 403756PK10Re.

Через заданные промежутки времени крыс декапитировали, мозг вынимали и резали на фронтальные срезы толщиной 2 мм. Срезы помещали в 1 % раствор ТТХ (Sigma-Aldrich, США). Окраску проводили при комнатной температуре (20 °С) и при 37 °С.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для того чтобы оценить, как разные условия прокраски тканей мозга с помощью красителя ТТХ влияют на визуализацию ишемического повреждения, мы использовали модель окклюзии средней мозговой артерии крыс [14]. В работе использовали перманентную окклюзию, т. е. сосуд

перекрывался окклюдером на все время эксперимента. Животных вводили в наркоз внутрибрюшинной инъекцией смесью препаратов Золетил и Рометар. Через 5 ч с момента окклюзии мозг каждого животного извлекали и получали фронтальные срезы толщиной 2 мм. Далее часть срезов помещали в 1 % раствор ТТХ при комнатной температуре, а часть — в заранее подогретый до 37 °С в инкубаторе раствор. Через равные временные промежутки мы фотографировали срезы мозга и оценивали, как температура и длительность инкубации срезов в растворе красителя влияет на визуализацию поврежденной ткани. Через 10 мин при обеих температурах, при которых проводилось окрашивание, можно было визуализировать область повреждения: она отличалась более слабым прокрашиванием по сравнению со здоровыми тканями среза (рис. 1). При дальнейшей инкубации срезов в растворе красителя более интенсивно окраска развивалась при 37 °С, при этом уже через 20 мин инкубации контраст между здоровой и поврежденной тканью существенно снизился, поскольку поврежденная область также прокрашивалась в промежуточный розовый цвет. При комнатной температуре контраст между поврежденной и неповрежденными областями, наоборот, усилился. При более длительной инкубации всех срезов при температуре 37 °С поврежденная область практически полностью прокрасилась (рис. 1). Следует подчеркнуть, что условия прокрашивания срезов мозга с помощью ТТХ наиболее важно контролировать именно при небольших интервалах времени с момента окклюзии сосуда, поскольку в поврежденной ткани еще могут присутствовать живые клетки, влияющие на развитие окрашивания. Через 24 ч после окклюзии область повреждения отчетливо визуализировалась с помощью ТТХ, при этом контраст с окрашенной здоровой тканью в дальнейшем не изменялся даже после двухчасовой инкубации при 37 °С.

Далее мы проверили, как выбор типа анестезии влияет на развитие ишемического повреждения мозга. Повреждение ткани визуализировали с помощью прокрашивания в растворе ТТХ. В этой серии экспериментов также использовали модель перманентной окклюзии средней мозговой артерии у крыс линии Wistar. Животных вводили в наркоз тремя способами: изофлураном (Аерран), внутрибрюшинной инъекцией смеси препаратов Золетил и Рометар и внутрибрюшинной инъекцией смеси хлоралгидрата и Рометар. Через 5 ч после окклюзии мозг каждого животного извлекали и нарезали, срезы красили в 1 % растворе ТТХ при 37 °С в течение 30 мин. При использовании изофлурана область повреждения на срезе мозга была наименьшей, что было подтверждено на 6 животных. Кроме того, на этих срезах был минимально выражен контраст прокраски между поврежденными и здоровыми тканями. Наиболее выраженное повреждение наблюдалось при использовании смеси хлоралгидрат/Рометар, эффект стабильно подтвердился на 5 животных. Промежуточный результат наблюдался при использовании смеси Золетил/Рометар. Из 7 животных лишь у 2 развился выраженный обширный инсульт, в остальных 5 случаях зона повреждения при прокрашивании ТТХ была неконтрастной (рис. 2). Выбор типа анестезии, таким образом, также необходимо учитывать при исследовании острой фазы ишемии. В настоящий момент неясно, чем обусловлен наблюдаемый эффект. Нейропротективный эффект изофлурана уже отмечался в целом ряде работ [47–49], однако механизм его действия до сих пор не известен. Примечательно, что через 24 ч с момента окклюзии средней мозговой артерии крыс в нашем исследовании мы не выявили эффекта влияния типа анестезии на конечный объем повреждения мозга (рис. 3).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В настоящей работе мы анализировали влияние различных факторов на окраску срезов мозга крыс, подвергнутых перманентной ишемии, популярным красителем

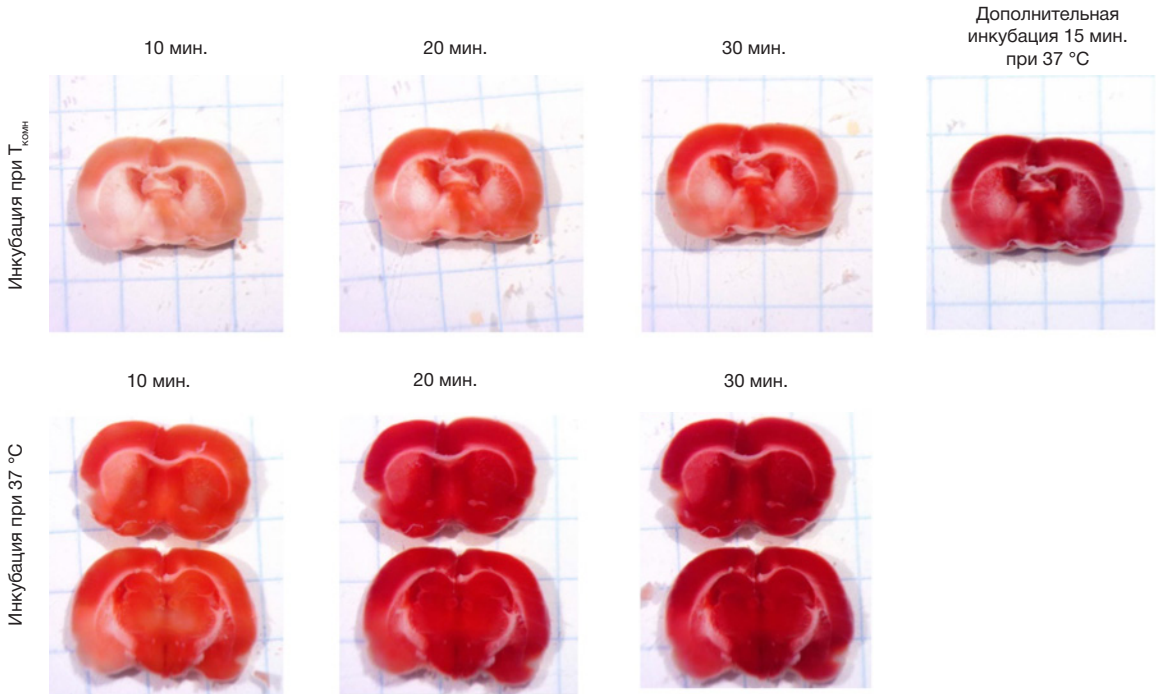


Рис. 1. Влияние температуры и длительности инкубации срезов мозга крысы в 1 % растворе ТТХ на визуализацию ишемического повреждения (5 ч с момента окклюзии). На рисунке представлены срезы мозга одной и той же крысы линии Wistar, подвергнутой окклюзии средней мозговой артерии. Один из срезов прокрашивали при комнатной температуре, два других — при 37 °С. Через указанные промежутки времени срезы фотографировали. Тип анестезии: Золетил/Рометар

ТТХ. Наши исследования показали, что данный метод визуализации поврежденной ткани на ранних стадиях развития патологии (5 ч с момента окклюзии сосуда) существенно зависит от типа используемой анестезии, а также от условий окрашивания ткани (температура, время). Таким образом, окрашивание ТТХ в качестве подхода для оценки объема повреждения мозга не следует проводить на ранних этапах развития ишемического инсульта, несмотря на ряд работ, утверждающих о такой возможности.

Кроме того, окрашивание ткани с помощью ТТХ не позволяет однозначно судить о жизнеспособности клеток в зоне повреждения в острой фазе развития инсульта. Данный краситель является индикатором дегидрогеназной активности митохондрий. Различные исследования подтверждают, что нарушение работы митохондрий действительно является одним из главных клеточных событий при повреждении тканей мозга вследствие ишемии [50, 51]. Однако возникает вопрос об интерпретации результатов в случае промежуточного окрашивания тканей мозга. В норме в живой ткани краситель ферментативным путем восстанавливается с образованием формазана, который окрашивает ткань в красный цвет. В мертвой ткани реакции не происходит, и ткань остается белой. Однако в наших экспериментах в зоне поражения наблюдалось промежуточное розовое окрашивание, при этом интенсивность усиливалась с увеличением длительности инкубации срезов мозга в растворе красителя и при повышении температуры среды. В одной из работ была посчитана доля неповрежденных митохондрий в прокрашиваемых и не прокрашиваемых с помощью ТТХ тканях мозга. Показано, что в не прокрашиваемой зоне неповрежденными остаются около 5 % митохондрий [52]. Окрашивание ткани в промежуточный розовый цвет означает, что в этой области доля активных митохондрий значительно выше.

Известно, что при перманентной окклюзии митохондрии могут оставаться неповрежденными довольно долгое время (несколько часов или даже дней), при этом другие органеллы, например ядро, могут быть уже разрушены [52]. При этом визуализация с помощью ТТХ в этом случае не зафиксирует повреждения ткани, что не отражает реальную картину развития патологии. При ишемии-реперфузии, которую принято считать более травматичной, повреждение митохондрий происходит быстрее. Это также необходимо учитывать при работе с определенными моделями инсульта. Кроме того, использовать ТТХ для визуализации инсульта не рекомендуется после 24 ч с момента окклюзии, поскольку в областях повреждения могут накапливаться клетки воспаления с неповрежденными митохондриями [52].

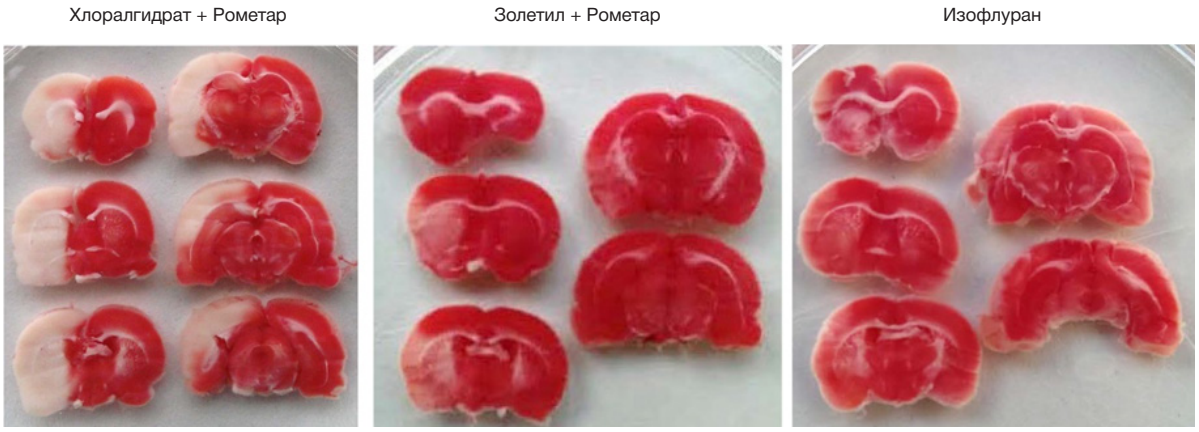


Рис. 2. Влияние типа анестезии на ишемическое повреждение мозга крыс, подвергнутых перманентной окклюзии средней мозговой артерии (5 ч с момента окклюзии). Срезы мозга окрашивали при одинаковых условиях в 1 % растворе ТТХ в течение 30 мин при 37 °С

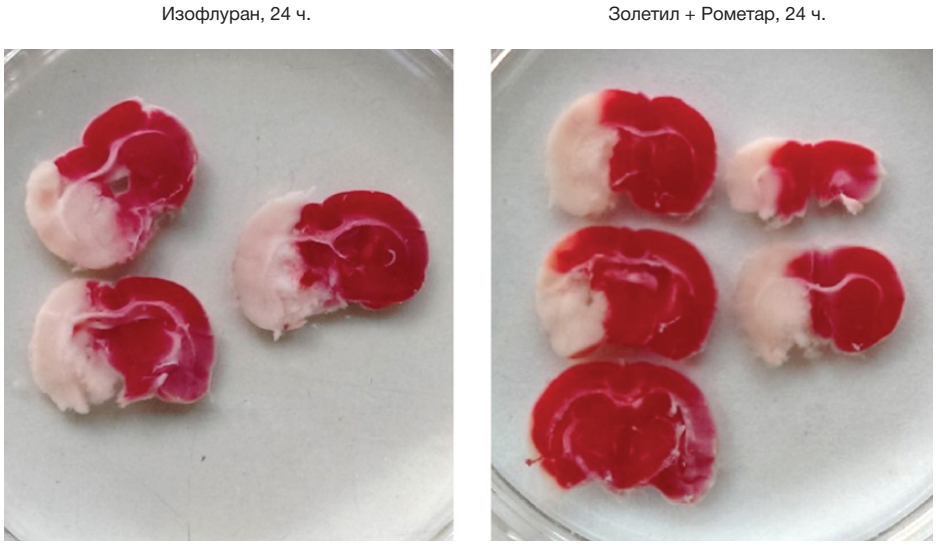


Рис. 3. Срезы мозга крыс после 24 ч перманентной окклюзии средней мозговой артерии с использованием разных типов анестезии во время операции. Срезы мозга окрашивали при одинаковых условиях в 1 % растворе ТТХ в течение 30 мин при 37 °С

ВЫВОДЫ

В настоящей работе мы показали, что различные факторы, такие как тип анестезии и условия окраски ткани с помощью красителя ТТХ, существенно влияют на оценку ишемического повреждения мозга на ранних этапах развития патологии у крыс, подвергнутых перманентной окклюзии средней мозговой артерии. Наименьшее повреждение мозга через 5 ч ишемии зафиксировано при использовании изофлурана, наибольшее — при использовании смеси хлоралгидрат/Рометар. Оптимальными условиями окрашивания срезов мозга в растворе ТТХ являются 30-минутная инкубация срезов при 37 °С. Использование встречающихся во многих публикациях протоколов, в которых используются более короткое время и более низкая температура инкубации, может приводить к некорректным результатам при исследовании ранних стадий развития ишемии. Однако уже через 24 ч с момента окклюзии развивается очаг повреждения, визуализация которого с помощью ТТХ не зависит от перечисленных факторов. Таким образом, данный временной интервал является оптимальным для качественного и количественного анализа ишемического повреждения мозга с помощью красителя ТТХ.

Литература

1. who.int [Internet]. World Health Organisation WHO. The top 10 causes of death; c2016 [cited Jan 2012]. Available from: http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en/.
2. Lloyd-Jones D, Adams R, Carnethon M, De Simone G, Ferguson TB, Flegal K et al. Heart disease and stroke statistics–2009 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Circulation. 2009; 119 (3): e21–181. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.108.191261.
3. Krishnamurthi RV, Feigin VL, Forouzanfar MH, Mensah GA, Connor M, Bennett DA et al. Global and regional burden of first-ever ischaemic and haemorrhagic stroke during 1990-2010: findings from the Global Burden of Disease Study 2010. Lancet Glob Health. 2013 Nov; 1 (5): e259–81. DOI: 10.1016/S2214-109X(13)70089-5.
4. Стаховская Л. В., Ключихина О. А., Богатырева М. Д., Коваленко В. В. Эпидемиология инсульта в России по результатам территориально-популяционного регистра (2009–2010). Журнал невропатологии и психиатрии им. С. С. Корсакова. 2013; 113 (5): 4–10.
5. Papadopoulos SM, Chandler WF, Salamat MS, Topol EJ, Sackellares JC. Recombinant human tissue-type plasminogen activator therapy in acute thromboembolic stroke. J Neurosurg. 1987 Sep; 67 (3): 394–8. DOI: 10.3171/jns.1987.67.3.0394.
6. Busch E, Kruger K, Hossmann KA. Improved model of thromboembolic stroke and rt-PA induced reperfusion in the rat. Brain Res. 1997 Dec 5; 778 (1): 16–24.
7. Roos MW, Ericsson A, Berg M, Sperber GO, Sjoquist M, Meyerson BJ. Functional evaluation of cerebral microembolization in the rat. Brain Res. 2003 Jan 24; 961 (1): 15–21.
8. Watson BD, Dietrich WD, Busto R, Wachtel MS, Ginsberg MD. Induction of reproducible brain infarction by photochemically initiated thrombosis. Ann Neurol. 1985 May; 17 (5): 497–504. DOI: 10.1002/ana.410170513.
9. Sharkey J, Ritchie IM, Kelly PA. Perivascular microapplication of endothelin-1: a new model of focal cerebral ischaemia in the rat. J Cereb Blood Flow Metab. 1993 Sep; 13 (5): 865–71. DOI: 10.1038/jcbfm.1993.108.
10. Tamura A, Graham DI, McCulloch J, Teasdale GM. Focal cerebral ischaemia in the rat: 1. Description of technique and early neuropathological consequences following middle cerebral artery occlusion. J Cereb Blood Flow Metab. 1981; 1 (1): 53–60. DOI: 10.1038/jcbfm.1981.6.
11. Durukan A, Tatlisumak T. Acute ischemic stroke: overview of major experimental rodent models, pathophysiology, and therapy of focal cerebral ischemia. Pharmacol Biochem Behav. 2007 May; 87 (1): 179–97. DOI: 10.1016/j.pbb.2007.04.015.
12. Fluri F, Schuhmann MK, Kleinschnitz C. Animal models of ischemic stroke and their application in clinical research. Drug Des Devel Ther. 2015 Jul 2; 9: 3445–54. DOI: 10.2147/DDDT.S56071.
13. Koizumi J, Yoshida Y, Nakazawa T, Ooneda G. Experimental studies of ischemic brain edema: 1. A new experimental model of cerebral embolism in rats in which recirculation can be introduced in the ischemic area. Jpn Stroke J. 1986; 8: 1–8.
14. Uluc K, Miranpuri A, Kujoth GC, Akture E, Baskaya MK. Focal cerebral ischemia model by endovascular suture occlusion of the middle cerebral artery in the rat. J Vis Exp. 2011 Feb 5; (48). pii: 1978. DOI: 10.3791/1978.
15. Engel O, Kolodziej S, Dirnagl U, Prinz V. Modeling stroke in mice - middle cerebral artery occlusion with the filament model. J Vis Exp. 2011 Jan 6; (47). pii: 2423. DOI: 10.3791/2423.
16. Garcia JH, Yoshida Y, Chen H, Li Y, Zhang ZG, Lian J et al. Progression from ischemic injury to infarct following middle cerebral artery occlusion in the rat. Am J Pathol. 1993 Feb; 142 (2): 623–35.
17. Zhang RL, Chopp M, Jiang N, Tang WX, Prostak J, Manning AM et al. Anti-intercellular adhesion molecule-1 antibody reduces ischemic cell damage after transient but not permanent middle cerebral artery occlusion in the Wistar rat. Stroke. 1995 Aug; 26 (8): 1438–42; discussion 1443.
18. Li H, Zhang N, Lin HY, Yu Y, Cai QY, Ma L et al. Histological, cellular and behavioral assessments of stroke outcomes after photothrombosis-induced ischemia in adult mice. BMC Neurosci. 2014 May 2; 15: 58. DOI: 10.1186/1471-2202-15-58.
19. Rousselet E, Kriz J, Seidah NG. Mouse model of intraluminal MCAO: cerebral infarct evaluation by cresyl violet staining. J Vis Exp. 2012; (69). pii: 4038. DOI: 10.3791/4038.
20. de Olmos JS, Beltramino CA, de Olmos de Lorenzo S. Use of an amino-cupric-silver technique for the detection of early and semiacute neuronal degeneration caused by neurotoxicants, hypoxia, and physical trauma. Neurotoxicol Teratol. 1994 Nov-Dec; 16 (6): 545–61.
21. Vogel J, Mobius C, Kuschinsky W. Early delineation of ischemic tissue in rat brain cryosections by high-contrast staining. Stroke. 1999 May; 30 (5): 1134–41.
22. Schmued LC, Albertson C, Slikker W Jr. Fluoro-Jade: a novel fluorochrome for the sensitive and reliable histochemical localization of neuronal degeneration. Brain Res. 1997 Mar 14; 751 (1): 37–46.
23. Schmued LC, Hopkins KJ. Fluoro-Jade B: a high affinity fluorescent marker for the localization of neuronal degeneration. Brain Res. 2000 Aug 25; 874 (2): 123–30.
24. Schmued LC, Stowers CC, Scallet AC, Xu L. Fluoro-Jade C results in ultra high resolution and contrast labeling of degenerating neurons. Brain Res. 2005 Feb 21; 1035 (1): 24–31. DOI: 10.1016/j.brainres.2004.11.054.
25. Bederson JB, Pitts LH, Germano SM, Nishimura MC, Davis RL, et al. Evaluation of 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride as a stain for detection and quantification of experimental cerebral infarction in rats. Stroke. 1986 Nov-Dec; 17 (6): 1304–8.
26. Linnik MD, Miller JA, Sprinkle-Cavallo J, Mason PJ, Thompson FY, Montgomery LR et al. Apoptotic DNA fragmentation in the rat cerebral cortex induced by permanent middle cerebral artery occlusion. Brain Res Mol Brain Res. 1995; 32 (1): 116–24. DOI: 10.1016/0169-328X(95)00069-5.
27. Xu XH, Zhang SM, Yan WM, Li XR, Zhang HY, Zheng XX. Development of cerebral infarction, apoptotic cell death and expression of X-chromosome-linked inhibitor of apoptosis protein

following focal cerebral ischemia in rats. Life Sci. 2006 Jan 11; 78 (7): 704–12. DOI: 10.1016/j.lfs.2005.05.080.
28. Doyle FH, Pennock JM, Orr JS, Gore JC, Bydder GM, Steiner RE, et al. Imaging of the brain by nuclear magnetic resonance. Lancet. 1981; 2 (8237): 53–7.
29. Kuhl DE, Phelps ME, Kowell AP, Metter EJ, Selin C, Winter J. Effects of stroke on local cerebral metabolism and perfusion: mapping by emission computed tomography of 18FDG and 13NH3. Ann Neurol. 1980; 8 (1): 47–60.
30. Lassen NA, Henriksen L, Paulson O. Regional cerebral blood flow in stroke by 133Xenon inhalation and emission tomography. Stroke. 1981; 12 (3): 284–8.
31. Zille M, Farr TD, Przesdzing I, Muller J, Sommer C, Dirnagl U et al. Visualizing cell death in experimental focal cerebral ischemia: promises, problems, and perspectives. J Cereb Blood Flow Metab. 2012 Feb; 32 (2): 213–31. DOI: 10.1038/jcbfm.2011.150.
32. Liu S, Zhen G, Meloni BP, Campbell K, Winn HR. Rodent Stroke Model Guidelines for Preclinical Stroke Trials (1st Edition). J Exp Stroke Transl Med. 2009 Jan 1; 2 (2): 2–27.
33. Stroke Therapy Academic Industry Roundtable II (STAIR-II). Recommendations for clinical trial evaluation of acute stroke therapies. Stroke. 2001 Jul; 32 (7): 1598–606.
34. Fisher M, Albers GW, Donnan GA, Furlan AJ, Grotta JC, Kidwell CS et al. Enhancing the development and approval of acute stroke therapies: Stroke Therapy Academic Industry roundtable. Stroke. 2005; 36 (8): 1808–13.
35. Fisher M, Feuerstein G, Howells DW, Hurn PD, Kent TA, Savitz SI et al. Update of the stroke therapy academic industry roundtable preclinical recommendations. Stroke. 2009 Jun; 40 (6): 2244–50. DOI: 10.1161/STROKEAHA.108.541128.
36. Popp A, Jaenisch N, Witte OW, Frahm C. Identification of ischemic regions in a rat model of stroke. PLoS One. 2009; 4 (3): e4764. DOI: 10.1371/journal.pone.0004764.
37. Liu F, Schafer DP, McCullough LD. TTC, fluoro-Jade B and NeuN staining confirm evolving phases of infarction induced by middle cerebral artery occlusion. J Neurosci Methods. 2009 Apr 30; 179 (1): 1–8. DOI: 10.1016/j.jneumeth.2008.12.028.
38. Benedek A, Moricz K, Juranyi Z, Gigler G, Levay G, Harsing LG et al. Use of TTC staining for the evaluation of tissue injury in the early phases of reperfusion after focal cerebral ischemia in rats. Brain Res. 2006 Oct 20; 1116 (1): 159–65. DOI: 10.1016/j.brainres.2006.07.123.
39. Jiang LJ, Zhang SM, Li CW, Tang JY, Che FY, Lu YC. Roles of the Nrf2/HO-1 pathway in the anti-oxidative stress response to ischemia-reperfusion brain injury in rats. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2017 Apr; 21 (7): 1532–40.
40. Si J, Chen L, Xia Z. Effects of cervical-lymphatic blockade on brain edema and infarction volume in cerebral ischemic rats. Chin J Physiol. 2006 Oct 31; 49 (5): 258–65.
41. Deng YH, He HY, Yang LQ, Zhang PY. Dynamic changes in neuronal autophagy and apoptosis in the ischemic penumbra following permanent ischemic stroke. Neural Regen Res. 2016 Jul; 11 (7): 1108–14. DOI: 10.4103/1673-5374.
42. Morris GP, Wright AL, Tan RP, Gladbach A, Ittner LM, Vissel B. A Comparative study of variables influencing ischemic injury in the longa and Koizumi methods of intraluminal filament middle cerebral artery occlusion in mice. PLoS One. 2016 Feb 12; 11 (2): e0148503. DOI: 10.1371/journal.pone.0148503.
43. Park HS, Han KH, Shin JA, Park JH, Song KY, Kim DH. The neuroprotective effects of carnosine in early stage of focal ischemia rodent model. J Korean Neurosurg Soc. 2014 Mar; 55 (3): 125–30. DOI: 10.3340/jkns.2014.55.3.125.
44. Matsuda F, Sakakima H, Yoshida Y. The effects of early exercise on brain damage and recovery after focal cerebral infarction in rats. Acta Physiol (Oxf). 2011 Feb; 201 (2): 275–87. DOI: 10.1111/j.1748-1708.2010.02174.x.
45. Chiang T, Messing RO, Chou WH. Mouse model of middle cerebral artery occlusion. J Vis Exp. 2011 Feb 13; (48). pii: 2761. DOI: 10.3791/2761.
46. Dettmers C, Hartmann A, Rommel T, Kramer S, Pappata S, Young A, et al. Immersion and perfusion staining with 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride (TTC) compared to mitochondrial enzymes 6 hours after MCA-occlusion in primates. Neurol Res. 1994; 16 (3): 205–8.
47. Zheng S, Zuo Z. Isoflurane preconditioning induces neuroprotection against ischemia via activation of P38 mitogen-activated protein kinases. Mol Pharmacol. 2004 May; 65 (5): 1172–80. DOI: 10.1124/mo;.65.5.1172.
48. Chen F, Long Z, Yin J, Zuo Z, Li H. Isoflurane post-treatment improves outcome after an embolic stroke in rabbits. PLoS One. 2015; 10 (12): e0143931. DOI: 10.1371/journal.pone.0143931.
49. Sun M, Deng B, Zhao X, Gao C, Yang L, Zhao H et al. Isoflurane preconditioning provides neuroprotection against stroke by regulating the expression of the TLR4 signalling pathway to alleviate microglial activation. Sci Rep. 2015 Jun 18; 5: 11445. DOI: 10.1038/srep11445.
50. Christophe M, Nicolas S. Mitochondria: a target for neuroprotective interventions in cerebral ischemia-reperfusion. Curr Pharm Des. 2006; 12 (6): 739–57.
51. Solenski NJ, diPierro CG, Trimmer PA, Kwan AL, Helm GA. Ultrastructural changes of neuronal mitochondria after transient and permanent cerebral ischemia. Stroke. 2002 Mar; 33 (3): 816–24.
52. Liszczak TM, Hedley-Whyte ET, Adams JF, Han DH, Kolluri VS, Vacanti FX, et al. Limitations of tetrazolium salts in delineating infarcted brain. Acta Neuropathol. 1984; 65 (2): 150–7.

References

1. who.int [Internet]. World Health Organisation WHO. The top 10 causes of death; c2016 [cited Jan 2012]. Available from: http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs310/en/.
2. Lloyd-Jones D, Adams R, Carnethon M, De Simone G, Ferguson TB, Flegal K et al. Heart disease and stroke statistics–2009 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. Circulation. 2009; 119 (3): e21–181. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.108.191261.
3. Krishnamurthi RV, Feigin VL, Forouzanfar MH, Mensah GA, Connor M, Bennett DA et al. Global and regional burden of first-ever ischaemic and haemorrhagic stroke during 1990-2010: findings from the Global Burden of Disease Study 2010. Lancet Glob Health. 2013 Nov; 1 (5): e259–81. DOI: 10.1016/S2214-109X(13)70089-5.
4. Stakhovskaia LV, Klochikhina OA, Bogatyreva MD, Kovalenko VV. [Epidemiology of stroke in the Russian Federation: results of territory's population registry]. Zhurnal Nevrologii i Psikhiatrii Im. S. S. Korsakova. 2013; 113 (5): 4–10. Russian.
5. Papadopoulos SM, Chandler WF, Salamat MS, Topol EJ, Sackellares JC. Recombinant human tissue-type plasminogen activator therapy in acute thromboembolic stroke. J Neurosurg. 1987 Sep; 67 (3): 394–8. DOI: 10.3171/jns.1987.67.3.0394.
6. Busch E, Kruger K, Hossmann KA. Improved model of thromboembolic stroke and rt-PA induced reperfusion in the rat. Brain Res. 1997 Dec 5; 778 (1): 16–24.
7. Roos MW, Ericsson A, Berg M, Sperber GO, Sjoquist M, Meyerson BJ. Functional evaluation of cerebral microembolization in the rat. Brain Res. 2003 Jan 24; 961 (1): 15–21.
8. Watson BD, Dietrich WD, Busto R, Wachtel MS, Ginsberg MD. Induction of reproducible brain infarction by photochemically initiated thrombosis. Ann Neurol. 1985 May; 17 (5): 497–504. DOI: 10.1002/ana.410170513.
9. Sharkey J, Ritchie IM, Kelly PA. Perivascular microapplication of endothelin-1: a new model of focal cerebral ischaemia in the rat. J Cereb Blood Flow Metab. 1993 Sep; 13 (5): 865–71. DOI:

10.1038/jcbfm.1993.108.
10. Tamura A, Graham DI, McCulloch J, Teasdale GM. Focal cerebral ischaemia in the rat: 1. Description of technique and early neuropathological consequences following middle cerebral artery occlusion. J Cereb Blood Flow Metab. 1981; 1 (1): 53–60. DOI: 10.1038/jcbfm.1981.6.
11. Durukan A, Tatlisumak T. Acute ischemic stroke: overview of major experimental rodent models, pathophysiology, and therapy of focal cerebral ischemia. Pharmacol Biochem Behav. 2007 May; 87 (1): 179–97. DOI: 10.1016/j.pbb.2007.04.015.
12. Fluri F, Schuhmann MK, Kleinschnitz C. Animal models of ischemic stroke and their application in clinical research. Drug Des Devel Ther. 2015 Jul 2; 9: 3445–54. DOI: 10.2147/DDDT.S56071.
13. Koizumi J, Yoshida Y, Nakazawa T, Ooneda G. Experimental studies of ischemic brain edema: 1. A new experimental model of cerebral embolism in rats in which recirculation can be introduced in the ischemic area. Jpn Stroke J. 1986; 8: 1–8.
14. Uluc K, Miranpuri A, Kujoth GC, Akture E, Baskaya MK. Focal cerebral ischemia model by endovascular suture occlusion of the middle cerebral artery in the rat. J Vis Exp. 2011 Feb 5; (48). pii: 1978. DOI: 10.3791/1978.
15. Engel O, Kolodziej S, Dirnagl U, Prinz V. Modeling stroke in mice - middle cerebral artery occlusion with the filament model. J Vis Exp. 2011 Jan 6; (47). pii: 2423. DOI: 10.3791/2423.
16. Garcia JH, Yoshida Y, Chen H, Li Y, Zhang ZG, Lian J et al. Progression from ischemic injury to infarct following middle cerebral artery occlusion in the rat. Am J Pathol. 1993 Feb; 142 (2): 623–35.
17. Zhang RL, Chopp M, Jiang N, Tang WX, Prostak J, Manning AM et al. Anti-intercellular adhesion molecule-1 antibody reduces ischemic cell damage after transient but not permanent middle cerebral artery occlusion in the Wistar rat. Stroke. 1995 Aug; 26 (8): 1438–42; discussion 1443.
18. Li H, Zhang N, Lin HY, Yu Y, Cai QY, Ma L et al. Histological, cellular and behavioral assessments of stroke outcomes after photothrombosis-induced ischemia in adult mice. BMC Neurosci. 2014 May 2; 15: 58. DOI: 10.1186/1471-2202-15-58.
19. Rousselet E, Kriz J, Seidah NG. Mouse model of intraluminal MCAO: cerebral infarct evaluation by cresyl violet staining. J Vis Exp. 2012; (69). pii: 4038. DOI: 10.3791/4038.
20. de Olmos JS, Beltramino CA, de Olmos de Lorenzo S. Use of an amino-cupric-silver technique for the detection of early and semiacute neuronal degeneration caused by neurotoxicants, hypoxia, and physical trauma. Neurotoxicol Teratol. 1994 Nov-Dec; 16 (6): 545–61.
21. Vogel J, Mobius C, Kuschinsky W. Early delineation of ischemic tissue in rat brain cryosections by high-contrast staining. Stroke. 1999 May; 30 (5): 1134–41.
22. Schmued LC, Albertson C, Slikker W Jr. Fluoro-Jade: a novel fluorochrome for the sensitive and reliable histochemical localization of neuronal degeneration. Brain Res. 1997 Mar 14; 751 (1): 37–46.
23. Schmued LC, Hopkins KJ. Fluoro-Jade B: a high affinity fluorescent marker for the localization of neuronal degeneration. Brain Res. 2000 Aug 25; 874 (2): 123–30.
24. Schmued LC, Stowers CC, Scallet AC, Xu L. Fluoro-Jade C results in ultra high resolution and contrast labeling of degenerating neurons. Brain Res. 2005 Feb 21; 1035 (1): 24–31. DOI: 10.1016/j.brainres.2004.11.054.
25. Bederson JB, Pitts LH, Germano SM, Nishimura MC, Davis RL, et al. Evaluation of 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride as a stain for detection and quantification of experimental cerebral infarction in rats. Stroke. 1986 Nov-Dec; 17 (6): 1304–8.
26. Linnik MD, Miller JA, Sprinkle-Cavallo J, Mason PJ, Thompson FY, Montgomery LR et al. Apoptotic DNA fragmentation in the rat cerebral cortex induced by permanent middle cerebral artery occlusion. Brain Res Mol Brain Res. 1995; 32 (1): 116–24. DOI: 10.1016/0169-328X(95)00069-5.
27. Xu XH, Zhang SM, Yan WM, Li XR, Zhang HY, Zheng XX. Development of cerebral infarction, apoptotic cell death and expression of X-chromosome-linked inhibitor of apoptosis protein following focal cerebral ischemia in rats. Life Sci. 2006 Jan 11; 78 (7): 704–12. DOI: 10.1016/j.lfs.2005.05.080.
28. Doyle FH, Pennock JM, Orr JS, Gore JC, Bydder GM, Steiner RE, et al. Imaging of the brain by nuclear magnetic resonance. Lancet. 1981; 2 (8237): 53–7.
29. Kuhl DE, Phelps ME, Kowell AP, Metter EJ, Selin C, Winter J. Effects of stroke on local cerebral metabolism and perfusion: mapping by emission computed tomography of 18FDG and 13NH3. Ann Neurol. 1980; 8 (1): 47–60.
30. Lassen NA, Henriksen L, Paulson O. Regional cerebral blood flow in stroke by 133Xenon inhalation and emission tomography. Stroke. 1981; 12 (3): 284–8.
31. Zille M, Farr TD, Przesdzing I, Muller J, Sommer C, Dirnagl U et al. Visualizing cell death in experimental focal cerebral ischemia: promises, problems, and perspectives. J Cereb Blood Flow Metab. 2012 Feb; 32 (2): 213–31. DOI: 10.1038/jcbfm.2011.150.
32. Liu S, Zhen G, Meloni BP, Campbell K, Winn HR. Rodent Stroke Model Guidelines for Preclinical Stroke Trials (1st Edition). J Exp Stroke Transl Med. 2009 Jan 1; 2 (2): 2–27.
33. Stroke Therapy Academic Industry Roundtable II (STAIR-II). Recommendations for clinical trial evaluation of acute stroke therapies. Stroke. 2001 Jul; 32 (7): 1598–606.
34. Fisher M, Albers GW, Donnan GA, Furlan AJ, Grotta JC, Kidwell CS et al. Enhancing the development and approval of acute stroke therapies: Stroke Therapy Academic Industry roundtable. Stroke. 2005; 36 (8): 1808–13.
35. Fisher M, Feuerstein G, Howells DW, Hurn PD, Kent TA, Savitz SI et al. Update of the stroke therapy academic industry roundtable preclinical recommendations. Stroke. 2009 Jun; 40 (6): 2244–50. DOI: 10.1161/STROKEAHA.108.541128.
36. Popp A, Jaenisch N, Witte OW, Frahm C. Identification of ischemic regions in a rat model of stroke. PLoS One. 2009; 4 (3): e4764. DOI: 10.1371/journal.pone.0004764.
37. Liu F, Schafer DP, McCullough LD. TTC, fluoro-Jade B and NeuN staining confirm evolving phases of infarction induced by middle cerebral artery occlusion. J Neurosci Methods. 2009 Apr 30; 179 (1): 1–8. DOI: 10.1016/j.jneumeth.2008.12.028.
38. Benedek A, Moricz K, Juranyi Z, Gigler G, Levay G, Harsing LG et al. Use of TTC staining for the evaluation of tissue injury in the early phases of reperfusion after focal cerebral ischemia in rats. Brain Res. 2006 Oct 20; 1116 (1): 159–65. DOI: 10.1016/j.brainres.2006.07.123.
39. Jiang LJ, Zhang SM, Li CW, Tang JY, Che FY, Lu YC. Roles of the Nrf2/HO-1 pathway in the anti-oxidative stress response to ischemia-reperfusion brain injury in rats. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2017 Apr; 21 (7): 1532–40.
40. Si J, Chen L, Xia Z. Effects of cervical-lymphatic blockade on brain edema and infarction volume in cerebral ischemic rats. Chin J Physiol. 2006 Oct 31; 49 (5): 258–65.
41. Deng YH, He HY, Yang LQ, Zhang PY. Dynamic changes in neuronal autophagy and apoptosis in the ischemic penumbra following permanent ischemic stroke. Neural Regen Res. 2016 Jul; 11 (7): 1108–14. DOI: 10.4103/1673-5374.
42. Morris GP, Wright AL, Tan RP, Gladbach A, Ittner LM, Vissel B. A Comparative study of variables influencing ischemic injury in the longa and Koizumi methods of intraluminal filament middle cerebral artery occlusion in mice. PLoS One. 2016 Feb 12; 11 (2): e0148503. DOI: 10.1371/journal.pone.0148503.
43. Park HS, Han KH, Shin JA, Park JH, Song KY, Kim DH. The neuroprotective effects of carnosine in early stage of focal ischemia rodent model. J Korean Neurosurg Soc. 2014 Mar; 55 (3): 125–30. DOI: 10.3340/jkns.2014.55.3.125.
44. Matsuda F, Sakakima H, Yoshida Y. The effects of early exercise on brain damage and recovery after focal cerebral infarction in rats. Acta Physiol (Oxf). 2011 Feb; 201 (2): 275–87. DOI: 10.1111/j.1748-1708.2010.02174.x.
45. Chiang T, Messing RO, Chou WH. Mouse model of middle cerebral artery occlusion. J Vis Exp. 2011 Feb 13; (48). pii: 2761. DOI: 10.3791/2761.
46. Dettmers C, Hartmann A, Rommel T, Kramer S, Pappata S, Young A, et al. Immersion and perfusion staining with 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride (TTC) compared to mitochondrial enzymes 6 hours after MCA-occlusion in primates. Neurol Res. 1994; 16 (3): 205–8.
47. Zheng S, Zuo Z. Isoflurane preconditioning induces

neuroprotection against ischemia via activation of P38 mitogen-activated protein kinases. Mol Pharmacol. 2004 May; 65 (5): 1172–80. DOI: 10.1124/mo;.65.5.1172.
48. Chen F, Long Z, Yin J, Zuo Z, Li H. Isoflurane post-treatment improves outcome after an embolic stroke in rabbits. PLoS One. 2015; 10 (12): e0143931. DOI: 10.1371/journal.pone.0143931.
49. Sun M, Deng B, Zhao X, Gao C, Yang L, Zhao H et al. Isoflurane preconditioning provides neuroprotection against stroke by regulating the expression of the TLR4 signalling pathway to alleviate microglial activation. Sci Rep. 2015 Jun 18; 5: 11445. DOI: 10.1038/srep11445.
50. Christophe M, Nicolas S. Mitochondria: a target for neuroprotective interventions in cerebral ischemia-reperfusion. Curr Pharm Des. 2006; 12 (6): 739–57.
51. Solenski NJ, diPierro CG, Trimmer PA, Kwan AL, Helm GA. Ultrastructural changes of neuronal mitochondria after transient and permanent cerebral ischemia. Stroke. 2002 Mar; 33 (3): 816–24.
52. Liszczak TM, Hedley-Whyte ET, Adams JF, Han DH, Kolluri VS, Vacanti FX, et al. Limitations of tetrazolium salts in delineating infarcted brain. Acta Neuropathol. 1984; 65 (2): 150–7.

ВРЕМЕННАЯ ДИНАМИКА ЦИТОКИНОВ В КРОВИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ АУТОИММУННОМ ЭНЦЕФАЛОМИЕЛИТЕ У КРЫС

Н. В. Позднякова[1], В. И. Туробов[2], Е. Е. Гаранина[3], О. А. Рябая[1], Ю. К. Бирюкова[4], Н. И. Минкевич[2], Е. В. Трубникова[5], А. Б. Шевелев[6], Т. В. Кузнецова[7], А. В. Белякова[4], И. П. Удовиченко[2,8] ✉

[1] Национальный медицинский исследовательский центр онкологии имени Н. Н. Блохина, Москва
[2] Филиал Института биоорганической химии имени академиков М. М. Шемякина и Ю. А. Овчинникова РАН, Пущино
[3] Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань
[4] Федеральный научный центр исследований и разработки иммунобиологических препаратов имени М. П. Чумакова РАН, Москва
[5] Курский государственный университет, Курск
[6] Институт биохимической физики имени Н. М. Эмануэля РАН, Москва
[7] Институт общей генетики имени Н. И. Вавилова РАН, Москва
[8] Пущинский государственный естественнонаучный институт, Пущино

Изучена динамика содержания цитокинов у крыс линии Dark Agouti с индуцированным экспериментальным аутоиммунным энцефаломиелитом (ЭАЭ). В экспериментальную группу включили 11 животных, которым в подушечки задних лап инъецировали гомогенат спинного мозга беспородных крыс, смешанный с неполным адъювантом Фрейнда. В контрольную группу включили 7 животных, которым в подушечки задних лап вводили по 100 мкл физиологического раствора, смешанного с неполным адъювантом Фрейнда. У животных ежедневно с 1 по 7 сутки отбирали по 500 мкл крови. Был выполнен мультиплексный цитокиновый тест с помощью набора реагентов Bio-Plex Pro Rat Cytokine 24-plex Assay на платформе Bio-Plex. Показано, что в контексте цитокинового профиля модель ЭАЭ у крыс отражает течение рассеянного склероза у человека в части динамики содержания системных лимфопролиферативных и гемопоэтических факторов: IL-1b, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6 и IL-7. В части динамики факторов таксиса лимфоцитов, моноцитов и других клеток иммунной системы изученная модель удовлетворительно имитирует динамику содержания IL-17, RANTES (CCL-5) и MCP-1 (CCL-2), но отличается по динамике GRO/KC (CXCL1). В отношении факторов, влияющих на цитотоксические и апоптотические реакции, сходство модели с заболеванием человека было выявлено по таким ключевым факторам, как IFNγ, IL-6 и IL-17, но не по TNFα.

Ключевые слова: рассеянный склероз, экспериментальный аутоиммунный энцефаломиелит, миелин, иммунизация, мультиплексный цитокиновый тест

Благодарности: авторы благодарят Бориса Шевелева за участие в иммунизации животных.

Финансирование: исследование поддержано Министерством образования и науки Российской Федерации (Соглашение о предоставлении субсидии № 14.607.21.0133 от 27.10.2015, уникальный идентификатор RFMEFI60715X0133).

✉ **Для корреспонденции:** Удовиченко Игорь Петрович
Пр-т Науки, д. 6, г. Пущино, Московская обл., 142290; iudovichenko1@yandex.ru

Статья получена: 15.12.2017 **Статья принята к печати:** 20.12.2017

TEMPORAL DYNAMICS OF CYTOKINES IN THE BLOOD OF RATS WITH EXPERIMENTALLY INDUCED AUTOIMMUNE ENCEPHALOMYELITIS

Pozdniakova NV[1], Turobov VI[2], Garanina EE[3], Ryabaya OA[1], Biryukova YuK[4], Minkevich NI[2], Trubnikova EV[5], Shevelev AB[6], Kuznetsova TV[7], Belyakova AV[4], Udovichenko IP[2,8] ✉

[1] Blokhin Russian Cancer Research Center, Moscow, Russia
[2] Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Sciences, Pushchino branch
[3] Kazan Federal University, Kazan, Russia
[4] Chumakov Federal Center for Research and Development of Immunobiological Products, the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia
[5] Kursk State University, Kursk, Russia
[6] Emanuel Institute of Biochemical Physics of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia
[7] Vavilov Institute of General Genetics of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia
[8] Pushchino State Institute of Natural Sciences, Pushchino, Russia

In this work we explore the temporal dynamics of cytokines in Dark Agouti rats with experimentally induced autoimmune encephalomyelitis (EAE). The main group consisted of 11 animals who were injected with 100 μl (per leg) of spinal cord homogenate obtained from random-bred rats and combined with incomplete Freund's adjuvant to the hind footpads. The control group included 7 animals who received 100 μl of normal saline mixed with incomplete Freund's adjuvant. Blood samples (500 μl) were collected daily, starting from day 1 through day 7. We ran a Bio-Plex-based multiplex cytokine assay on the samples using the Bio-Plex Pro Rat Cytokine 24-plex Assay kit. EAE in rats was shown to simulate progression of multiple sclerosis in humans in terms of temporal dynamics of lymphoproliferative and hematopoietic factors IL-1b, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, and IL-7. The studied model satisfactory imitates the dynamics of factors stimulating migration of lymphocytes, monocytes and other immune cells, including IL-17, RANTES (CCL-5) and MCP-1 (CCL-2) but excluding GRO/KC (CXCL1), which shows a different dynamics. The model also resembles patterns of human multiple sclerosis in terms of factors affecting cytotoxic and apoptotic reactions, including IFNγ, IL-6 and IL-17, but excluding TNFα.

Keywords: multiple sclerosis, experimental autoimmune encephalomyelitis, myelin, immunization, multiplex cytokine assay

Acknowledgements: the authors thank Boris Shevelev for help in immunization of the animals.

Funding: this work was supported by the Ministry of Education and Science of the Russian Federation (Grant agreement 14.607.21.0133 dated October 27, 2015, ID RFMEFI60715X0133).

✉ **Correspondence should be addressed:** Igor Udovichenko
Pr-t Nauki, d. 6, Puschino, Moscow oblast, Russia, 142290; iudovichenko1@yandex.ru

Received: 15.12.2017 **Accepted:** 20.12.2017

Рассеянный склероз (РС) представляет собой тяжелое нейродегенеративное заболевание аутоиммунной природы. Актуальность борьбы с ним обусловлена высокой частотой встречаемости, а также тяжестью течения, приводящей к частичной или полной потере подвижности. Большинство пациентов с РС полностью утрачивают подвижность через 25 лет после появления первых симптомов заболевания. Более половины пациентов с РС через 15 лет после начала болезни могут передвигаться только на костылях. До настоящего времени для лечения этой болезни не предложено эффективного этиотропного средства.

Заболевание возникает, как правило, у достаточно молодых людей: у 70–80 % пациентов первые симптомы РС проявляются в возрасте от 20 до 40 лет [1]. Диагностика РС основана на клиническом осмотре невропатологом, магнитно-резонансном исследовании (МРТ) центральной нервной системы, гистологическом анализе материалов биопсии и аутопсии [2]. Болезнь имеет множество различающихся клинических проявлений, затрагивающих функции спинного и головного мозга, черепных нервов, мозжечка, когнитивные функции. При этом не выработано метода клинической диагностики, позволяющего однозначно оценивать тяжесть заболевания. Результаты МРТ, электроэнцефалографии и биохимического анализа пунктатов спинномозговой жидкости, хотя и являются ценными сведениями о состоянии больного, не всегда могут быть интерпретированы однозначно. Многие частные проявления РС могут быть вызваны не связанными с ним причинами: инфекционными заболеваниями, сосудистыми патологиями, аутоиммунными заболеваниями различной природы [3].

Выделяют четыре формы РС: возвратно-ремиттирующую (приступообразную), RRMS — 80–85 % случаев; первичную прогрессирующую, PPMS — 10–15 % случаев; возвратно-прогрессирующую, PRMS — 5 % случаев; вторично-прогрессирующую, SPMS [4, 5]. Около половины пациентов с RRMS приобретают симптомы SPMS через 10 лет после начала заболевания. Свыше 90 % пациентов с RRMS в конечном итоге приобретают симптоматику SPMS [6].

Основным патогностическим признаком РС является демиелинизация оболочек нейронов ЦНС, вызываемая скоплениями на их поверхности Т- и В-лимфоцитов. Для РС также характерно накопление олигоклональных антител в спинномозговой жидкости. Однако ответа на вопрос, где и как происходит первоначальный запуск клональной экспансии лимфоцитов, специфичных к основному белку миелина MBP, протекает ли этот процесс непосредственно в ЦНС при участии миелиновых оболочек или за пределами ЦНС с последующим накоплением в ней аутореактивных клеточных компонентов, нет [7].

Разработка средств лечения РС требует использования животных моделей, максимально точно воспроизводящих течение заболевания у человека. В качестве такой модели часто используют экспериментальный аутоиммунный энцефаломиелит (ЭАЭ) у мышей и крыс. Заболевание вызывают введением суспензии миелина или MBP в неполном адъюванте Фрейнда в подушечки лап [8]. В результате паралич задних конечностей инициируется через 1 мес. после иммунизации и длится в течение 4–6 мес. [9]. У крыс линии Dark Agouti (DA) ЭАЭ характеризуется существенно более быстрой динамикой. Паралич конечностей проявляется на 10–11 сутки и заканчивается на 14 сутки. Наиболее значимым отличием ЭАЭ у мышей от РС у человека является полное клиническое излечение иммунизированных животных, недостижимое на сегодня для пациентов с РС.

В работе [10] приведены данные исследования цитокинового профиля у 19 пациентов с РС, в том числе у 16 — с возвратно-ремиттирующей формой, у 1 — с первично-прогрессирующей и у 2 — с вторично-прогрессирующей формой, в зависимости от длительности заболевания: группа 1 — 4,2 ± 0,8 мес. и группа 2 — 76,6 ± 14,3 мес. с момента постановки первичного диагноза. В работе было показано, что на ранней стадии РС в сравнении с поздней стадией и данными для контрольной группы (люди без РС) в структуре цитокинов преобладают интерферон гамма (IFNγ) и антивоспалительный лимфокин IL-10. На поздней стадии снижается содержание IL-1RA, IL-8, IL-12(p70), CCL-3, CCL-7, CCL-11, CXCL-10, FGF, IFNα, а значительная представленность характерна для IL-1a, IL-1b, IL-2RA, IL-3, IL-4, IL-7, IL-12(p40), IL-18, CCL-5 (RANTES), CCL-27, HGF, MIF, M-CSF и TRAIL. Особое внимание авторы обратили на повышение содержания в крови больных РС IL-17, известного в качестве ключевого фактора развития псориатических повреждений кожи [11], а также IL-22 — у пациентов с RRMS. При анализе динамики цитокинов в спинномозговой жидкости пациентов авторы [10] пришли к выводу о ключевой роли накопления в ней IFNγ и MIF (ключевоого фактора дегенарации суставной сумки при артрозе), а также факторов миграции лимфоцитов, индуцируемых ими: CCL-5 (RANTES), CCL-2 и CCL-27. Для спинномозговой жидкости, но не крови пациентов с РС оказалось характерным накопление проапоптотических факторов TNF-α и TRAIL.

Анализируя эти данные, можно сделать вывод о том, что для РС характерно длительное системное повышение активности факторов гемопоэза, особенно направленных на гранулоцитарный компонент, длительное поддержание Th1-ответа, избыток факторов миграции лимфоцитов и моноцитов при отсутствии выраженной провоспалительной реакции в виде факторов, стимулирующих продукцию и таксис нейтрофилов. Результаты исследования [10] важны для понимания динамики содержания различных цитокинов в крови и спинномозговой жидкости пациентов с РС, но в силу ограничений статистических методов значимость выявленных закономерностей остается под вопросом.

С учетом изложенного в рамках работы мы решали две задачи:

1) исследовать краткосрочную динамику цитокинов в модели ЭАЭ у крыс, для которой характерна высокая скорость патологического процесса;

2) сопоставить данные о содержании цитокинов при РС у человека и ЭАЭ у крыс с целью оценить пригодность этой модели для тестирования кандидатных средств для терапии РС.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Индукция ЭАЭ у крыс

Эксперименты на лабораторных животных были проведены в соответствии с «Правилами работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу Министерства здравоохранения СССР от 12.08.1977 № 755) и с соблюдением принципов, изложенных в Хельсинкской декларации (2013).

Гомогенат спинного мозга беспородных крыс готовили по методике [12]. Далее использовали крыс линии Dark

Agouti массой 220–250 г. В экспериментальную группу включили 11 животных, которым в день 0 вводили в подушечки каждой из двух задних лап заранее приготовленный гомогенат спинного мозга, смешанный с неполным адъювантом Фрейнда в пропорции 1 : 1, общим объемом 100 мкл в каждую лапу. Животным контрольной группы (n = 7) вводили 100 мкл физиологического раствора, смешанного с неполным адъювантом Фрейнда также в пропорции 1 : 1. С 1 по 7 сутки (за исключением 6-х суток) эксперимента у крыс ежедневно отбирали по 500 мкл крови из хвостовой вены. Из отобранной крови немедленно готовили сыворотку по следующей методике: кровь помещали в вакуумные пробирки Vacuette Z serum sepclot activator (для сыворотки) и центрифугировали в течение 15–20 мин при 2500 об./мин и температуре +4 °С. Сыворотку (около 100 мкл) переносили в микроцентрифужные пробирки и замораживали при –20 °С. Крыс ежедневно взвешивали и фиксировали в баллах индекс тяжести клинических проявлений ЭАЭ по следующей шкале: 0 — нет симптомов, 1 — снижение тонуса хвоста, 2 — нарушение установочного рефлекса, 3 — частичный паралич, 4 — полный паралич, 5 — животные погибли или умирают. В сомнительных случаях индекс фиксировали с занижением. Явные признаки ЭАЭ у животных контрольной группы фиксировали с 8 по 14 день с начала эксперимента. Пик заболевания длился 2–3 дня и приходился на 11–14 сутки с начала эксперимента.

Мультиплексный цитокиновый тест

Анализ выполнялся на платформе Bio-Plex (Bio-Rad, США) с помощью набора реагентов Bio-Plex Pro Rat Cytokine 24-plex Assay (Bio-Rad), работа которого основана на использовании магнитных частиц с нанесенными моноклональными антителами к цитокинам крысы, согласно инструкции производителя и в соответствии с ранее опубликованным протоколом [13]. Для анализа использовали аликвоты сыворотки объемом 50 мкл. Среднюю интенсивность флуоресценции каждого образца определяли на приборе Luminex 200 analyzer (Luminex Corporation, США). Для сбора данных использовали программное обеспечение MasterPlex CT и MasterPlex QT analysis software (Hitachi Solutions America, США). Для каждого аналита строили калибровочный график с использованием 7 концентраций, выражая ее в пг/мл сыворотки.

Статистическая обработка данных

Для экспериментальной и контрольной групп для каждого цитокина на каждые сутки эксперимента вычисляли медианное значение содержания для группы и два квартильных значения. После этого проводили сопоставление достоверности различий между группами с помощью непараметрического критерия Манна–Уитни, используя пакет программ Statistica 8.0 для Windows. При p-value > 0,05 различия были недостоверны; также использовали три порога достоверности: первый — ≤ 0,05; второй — ≤ 0,01; третий — ≤ 0,001.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В настоящее время сведений о краткосрочной динамике цитокинов в крови человека и лабораторных животных все еще недостаточно, т. к. мультиплексные тесты дороги, а ежедневный отбор крови у больных и животных сопряжен с техническими и этическими трудностями. Анализ динамики содержания цитокинов в контрольной группе показал, что введение неполного адъюванта Фрейнда в подушечки лап само по себе является фактором, вызывающим значительные волнообразные колебания уровня цитокинов в крови, хотя и не приводит к развитию ЭАЭ. Это обстоятельство снижает достоверность оценки влияния гомогената спинного мозга на развитие экспериментального заболевания и требует использования статистических методов анализа динамики содержания цитокинов.

У всех животных экспериментальной группы наблюдали паралич задних конечностей. Восходящая фаза заболевания пришлась на 11–13 сутки, нисходящая — на 12–17 сутки. К 18 суткам симптомы паралича у всех животных полностью исчезали. Таким образом, отбор крови, который производили в 1–7 сутки, осуществляли на стадии, когда внешние проявления ЭАЭ отсутствовали.

Анализ данных (табл. 1 и 2), показал, что в первые сутки эксперимента содержание 13 из 24 анализируемых цитокинов — IL-1a, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-12(p70), IL-17, IL-18, G-CSF, IFN-γ, RANTES (CCL-5) и MCP-1 (CCL-2) — в экспериментальной группе было существенно выше, чем в контрольной, (например, до 220 % — для IL-4) по второму и третьему порогам достоверности (рис. 1). Во вторые сутки ни по одному цитокину достоверных различий не наблюдали. На третьи сутки были выявлены различия для

Таблица 1. Оценка достоверности различий между экспериментальной и контрольной группами животных с помощью непараметрического критерия Манна–Уитни с поправкой Йейста на непрерывность. Результат проверки гипотезы об отсутствии значимых различий между выборками выражен виде критерия Фишера (p). При p > 0,05 различия были недостоверны; также использовали 3 порога достоверности: первый — ≤ 0,05; второй — ≤ 0,01; третий — ≤ 0,001 (в таблице обозначены цифрами 1, 2 и 3 соответственно)

Цитокин	Сутки эксперимента					
	1	2	3	4	5	7
IL-1a	3	–	–	–	2	2
IL-1b	–	–	1	–	2	-
IL-2	2	–	–	–	–	1
IL-4	3	–	–	–	–	2
IL-5	2	–	–	–	–	2
IL-6	3	–	–	–	–	1
IL-7	2	–	–	–	–	2
IL-10	–	–	–	–	–	2
IL-12	2	–	–	–	–	–
IL-13	–	–	–	–	2	–
IL-17	3	–	–	–	–	2
IL-18	3	–	–	–	–	2
Эритропоэтин EPO	–	–	–	–	1	2
G-CSF	3	–	–	–	–	–
GM-CSF	–	–	–	–	–	3
GRO/KC	–	–	–	–	–	–
IFN-γ	2	–	–	–	–	1
M-CSF	–	–	–	–	–	–
MIP-3a	–	–	–	–	–	–
RANTES	2	–	–	–	–	2
TNFα	–	–	–	–	–	-
VEGF	–	–	1	–	–	–
Лептин	–	–	–	–	–	–
MCP-1	2	–	–	–	–	2

Таблица 2. Описательная статистика изменения содержания цитокинов в экспериментальной и контрольной группах крыс с экспериментальным аутоиммунным энцефаломиелитом

Цитокин	Сутки эксперимента												
	Параметр	1		2		3		4		5		7	
		Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт	Контроль	Опыт
IL-1a	Среднее	195	387	182	206	268	181	193	144	319	138	203	359
	N	6	10	8	12	6	11	7	11	7	11	7	11
	Ст. откл.	87	92	65	61	148	122	113	76	279	75	84	134
	Q25	132	304	133	170	160	68	98	83	182	90	139	218
	Медиана	188	347	175	204	218	200	195	155	184	121	184	411
	Q75	288	487	226	264	396	237	274	210	396	187	269	462
IL-1b	Среднее	433	401	412	274	1033	493	469	265	819	250	319	571
	N	6	10	8	12	6	11	7	11	7	11	7	11
	Ст. откл.	386	382	244	184	427	362	432	157	861	164	180	288
	Q25	251	236	211	148	701	134	119	101	279	151	180	300
	Медиана	315	270	399	222	967	441	412	310	607	214	204	536
	Q75	411	367	550	370	1 477	782	553	409	730	307	504	821
IL-2	Среднее	356	607	366	436	367	500	472	414	579	373	744	1092
	N	6	10	8	12	6	11	7	11	7	11	7	11
	Ст. откл.	103	138	127	207	209	303	292	180	286	215	245	348
	Q25	278	579	285	319	186	311	213	260	396	205	543	776
	Медиана	374	597	345	331	332	432	308	362	557	284	657	1145
	Q75	443	626	463	629	523	608	762	647	668	509	914	1368
IL-4	Среднее	11	36	9	19	9	24	14	18	19	16	41	90
	N	6	10	8	12	6	11	7	11	7	11	7	11
	Ст. откл.	6	16	4	19	8	23	12	16	13	15	27	40
	Q25	6	27	5	5	4	4	4	5	9	4	17	57
	Медиана	11	30	8	8	6	17	8	12	15	14	33	76
	Q75	17	38	12	37	10	32	29	34	33	23	64	128
IL-5	Среднее	77	128	59	69	56	88	69	74	91	68	136	193
	N	6	10	8	12	6	11	7	11	7	11	7	11
	Ст. откл.	25	27	33	51	47	59	62	45	43	49	46	34
	Q25	55	110	26	22	23	26	22	20	43	22	106	174
	Медиана	78	123	63	54	30	83	23	67	88	83	130	193
	Q75	97	147	78	121	113	133	144	106	118	106	176	212
IL-6	Среднее	232	503	351	273	468	1595	515	540	600	316	668	1145
	N	6	10	8	12	6	11	7	11	7	11	7	11
	Ст. откл.	79	204	226	255	404	3960	572	743	284	269	292	496
	Q25	172	379	169	63	170	96	76	85	414	46	456	640
	Медиана	224	444	340	182	349	428	190	240	584	261	521	1240
	Q75	287	463	540	470	758	635	1 132	559	713	556	877	1624
IL-7	Среднее	103	254	68	123	70	178	111	114	125	106	228	612
	N	6	10	8	12	6	11	7	11	7	11	7	11
	Ст. откл.	50	96	62	128	83	169	129	115	77	98	146	236
	Q25	58	181	14	16	12	13	11	16	50	10	119	428
	Медиана	102	226	63	72	23	144	20	64	109	108	161	724
	Q75	145	350	90	246	159	281	239	224	209	165	391	787
IL-10	Среднее	149	240	105	180	121	215	163	157	208	132	403	634
	N	6	10	8	12	6	11	7	11	7	11	7	11
	Ст. откл.	70	80	53	131	93	200	129	99	70	106	160	226
	Q25	91	208	61	57	56	63	56	58	144	44	254	420
	Медиана	142	220	101	183	67	149	88	116	214	116	413	557
	Q75	217	280	129	284	237	277	294	272	287	208	550	821

Продолжение табл. 2

IL-12	Среднее	46	125	35	56	43	81	58	54	68	47	155	288
	N	6	10	8	12	6	11	7	11	7	11	7	11
	Ст. откл.	29	62	35	61	56	102	68	61	50	59	98	143
	Q25	16	88	5	6	5	6	6	6	15	4	81	173
	Медиана	49	99	32	23	10	53	12	29	59	26	125	277
	Q75	74	133	46	123	98	118	135	70	104	81	212	425
IL-13	Среднее	31	32	15	16	20	22	22	13	19	13	33	61
	N	6	10	8	12	6	11	7	11	7	11	7	11
	Ст. откл.	28	31	8	15	8	20	26	11	6	8	21	37
	Q25	18	16	9	6	13	9	7	6	15	6	19	29
	Медиана	21	20	14	9	20	13	13	9	18	11	23	44
	Q75	28	37	22	20	23	28	26	15	22	17	58	95
IL-17	Среднее	24	55	17	25	19	36	26	27	36	25	67	119
	N	6	10	8	12	6	11	7	11	7	11	7	11
	Ст. откл.	12	20	15	28	24	36	32	23	22	24	38	43
	Q25	12	43	3	3	3	3	3	4	16	3	38	84
	Медиана	24	49	16	15	4	34	5	21	35	28	62	108
	Q75	37	56	24	44	50	52	52	42	58	45	102	168
IL-18	Среднее	1110	2360	909	1480	976	2004	1351	1829	1628	1562	2476	4182
	N	6	10	8	12	6	11	7	11	7	11	7	11
	Ст. откл.	340	822	345	828	600	1513	895	1390	455	1557	774	1495
	Q25	846	1671	623	707	591	582	615	779	1494	426	1663	3219
	Медиана	1009	2167	877	1444	609	1677	1064	1157	1616	1152	2334	3808
	Q75	1462	2766	1094	2243	1701	3435	2055	2367	1831	2632	3217	4100
Эритропоэтин EPO	Среднее	202	263	186	242	197	310	238	246	281	175	342	745
	N	6	10	8	12	6	11	7	11	7	11	7	11
	Ст. откл.	68	60	77	141	62	240	71	95	86	91	117	345
	Q25	154	235	127	110	158	127	173	153	209	107	249	504
	Медиана	175	258	179	219	202	272	209	223	247	166	360	585
	Q75	235	287	225	346	241	352	300	346	373	197	415	1060
G-CSF	Среднее	3	6	3	4	3	6	4	4	5	4	9	15
	N	6	10	8	12	6	11	7	11	7	11	7	11
	Ст. откл.	1	3	1	3	2	6	3	2	1	2	6	9
	Q25	3	4	2	2	2	2	2	2	3	2	4	8
	Медиана	3	6	3	3	2	4	2	3	4	3	6	12
	Q75	4	7	3	6	5	8	6	5	6	5	14	24
GM-CSF	Среднее	5	7	5	5	6	9	8	5	6	4	8	2
	N	6	10	8	12	6	11	7	11	7	11	7	11
	Ст. откл.	3	3	3	3	4	10	6	2	4	2	2	1
	Q25	2	6	3	2	3	4	4	3	2	2	7	1
	Медиана	5	7	6	5	6	9	9	5	5	5	8	2
	Q75	6	10	8	8	9	10	10	7	11	5	10	3
GRO/KC	Среднее	161	237	156	165	217	153	201	90	153	116	163	178
	N	6	10	8	12	6	11	7	11	7	11	7	11
	Ст. откл.	93	104	79	65	134	97	115	31	128	43	62	57
	Q25	72	124	101	135	75	64	84	62	82	74	103	153
	Медиана	142	267	140	157	239	133	198	96	90	119	155	170
	Q75	270	331	191	189	341	272	299	116	324	145	184	222
IFNγ	Среднее	36	79	30	42	32	63	61	45	53	40	107	215
	N	6	10	8	12	6	11	7	11	7	11	7	11
	Ст. откл.	14	46	13	40	23	77	62	41	19	35	45	122
	Q25	27	52	20	14	17	14	17	15	36	12	65	87
	Медиана	30	64	27	20	20	43	24	28	52	27	98	206
	Q75	46	74	41	60	56	64	95	66	76	69	148	290

Продолжение табл. 2

M-CSF	Среднее	132	174	92	89	91	121	100	79	93	104	113	164
	N	6	10	8	12	6	11	7	11	7	11	7	11
	Ст. откл.	42	44	46	38	70	83	116	49	54	60	55	74
	Q25	99	143	64	55	32	53	32	33	39	41	52	110
	Медиана	124	159	80	88	71	106	40	69	69	105	141	149
	Q75	175	205	122	111	174	183	164	121	147	164	165	234
MIP-3a	Среднее	70	88	55	49	45	88	69	64	76	45	88	128
	N	6	10	8	12	6	11	7	11	7	11	7	11
	Ст. откл.	19	38	44	40	44	95	80	59	45	40	36	44
	Q25	52	47	19	13	12	21	14	13	25	11	65	107
	Медиана	76	94	41	31	21	53	19	51	91	34	83	139
	Q75	86	122	85	83	99	134	161	83	122	90	102	171
RANTES	Среднее	685	1070	342	470	295	696	364	505	574	456	757	1311
	N	6	10	8	12	6	11	7	11	7	11	7	11
	Ст. откл.	230	247	277	422	306	541	403	381	208	389	147	388
	Q25	545	966	80	73	108	60	37	51	437	39	726	814
	Медиана	665	1052	334	387	139	679	57	545	634	660	758	1495
	Q75	805	1129	558	855	481	1212	821	777	687	735	846	1580
TNFα	Среднее	58	39	25	30	29	33	30	28	33	27	54	82
	N	6	10	8	12	6	11	7	11	7	11	7	11
	Ст. откл.	26	10	15	18	18	19	20	14	11	19	26	42
	Q25	42	29	17	16	16	16	17	16	21	14	32	51
	Медиана	57	39	19	21	19	27	23	25	36	24	57	72
	Q75	72	49	26	47	46	44	49	34	39	29	82	106
VEGF	Среднее	130	87	88	55	128	73	107	46	133	65	92	110
	N	6	10	8	12	6	11	7	11	7	11	7	11
	Ст. откл.	110	90	57	79	73	80	78	24	149	49	44	50
	Q25	41	52	42	20	53	37	54	32	33	29	57	57
	Медиана	119	60	88	35	129	44	78	36	97	46	84	100
	Q75	132	74	128	44	178	84	185	58	136	89	146	139
Лептин	Среднее	158	217	59	131	121	264	129	90	231	213	239	460
	N	6	10	8	12	6	11	7	11	7	11	7	11
	Ст. откл.	161	240	77	184	163	255	202	167	219	199	237	358
	Q25	10	1	20	11	11	16	3	4	12	17	0	20
	Медиана	150	137	24	27	21	312	21	20	246	286	324	620
	Q75	301	437	83	273	304	482	375	30	447	419	404	745
MCP-1	Среднее	1979	2662	2277	2317	2428	3097	2071	2468	2117	2254	1910	3300
	N	6	10	8	12	6	11	7	11	7	11	7	11
	Ст. откл.	413	365	949	754	576	1120	830	1141	830	623	557	879
	Q25	1592	2353	1606	1729	2130	2126	1501	1575	1651	1889	1340	2986
	Медиана	2102	2606	2155	2063	2428	3108	1849	2192	2012	2448	1946	3411
	Q75	2317	2864	2909	3047	2904	3762	2369	3021	2189	2750	2405	3846

IL-1b и VEGF (≤ 0,05), но на четвертые сутки вновь ни для одного цитокина достоверных различий не было. На пятые сутки эксперимента в экспериментальной группе достоверно снизилось содержание IL-1a, IL-1b, IL-13 и эритропоэтина (рис. 2).

На седьмые сутки различия между группами были выявлены по 14 цитокинам из 24 исследованных. Это были практически все те же цитокины, различия по которым наблюдали в первые сутки эксперимента, с тем отличием что были зафиксированы статистически значимые изменения по IL-10 и эритропоэтину GM-CSF и не были зафиксированы — по IL-12(p70) и G-CSF (рис. 3). Необходимо отметить, что содержание 13 из 14 цитокинов в экспериментальной группе оказалось выше, чем в контрольной. Исключение составил только GM-CSF, содержание которого снизилось с 8,17 пг/мл до 2,00 пг/мл.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Резкий рост содержания различных цитокинов в первые сутки эксперимента с последующим падением во вторые сутки следует интерпретировать как острый клонально-неспецифичный ответ на появление избытка миелина вне ЦНС. Вероятно, реакция на миелин в виде одновременного выброса нескольких лимфопролиферативных факторов стимулируется гиперпродукцией IL-1b, источником

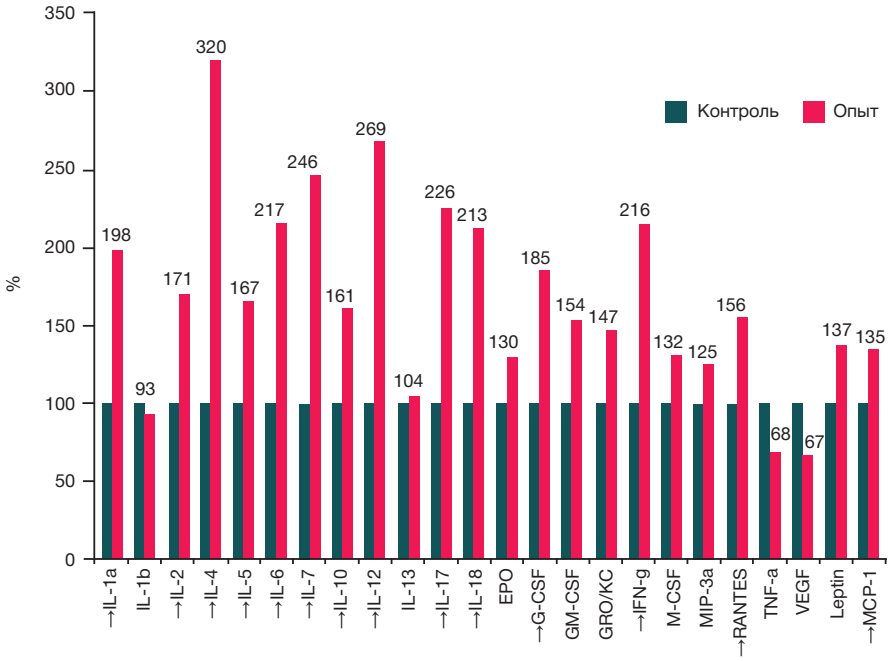


Рис. 1. Изменение содержания цитокинов в сыворотке крови крыс экспериментальной группы по сравнению с крысами контрольной группы через 1 сутки после иммунизации. Содержание цитокинов в крови животных контрольной группы были приняты за 100 %. Достоверные различия показаны стрелками

Рис. 2. Изменение содержания цитокинов в сыворотке крови крыс экспериментальной группы по сравнению с крысами контрольной группы через 5 суток после иммунизации. Содержание цитокинов в крови животных контрольной группы были приняты за 100 %. Достоверные различия показаны стрелками

которого являются макрофаги, дендритные клетки или фибробласты кожи.

Рост уровня продукции цитокинов на пятые и особенно седьмые сутки эксперимента, скорее всего, можно объяснить накоплением в организме животных клонально-специфичных лимфоцитов различных типов, среди которых могут быть лимфоциты с аутологичной реактивностью в отношении миелина. Для системной клональной экспансии Т-лимфоцитов характерна именно такая длительность реакции, после чего возникают внешние проявления физиологической реакции.

Наиболее значимые в абсолютном выражении различия между экспериментальной и контрольной группами на седьмые сутки эксперимента были выявлены для IL-18 — 2475,85/4182,05 пг/мл, RANTES — 756,78/1310,78 пг/мл, MCP-1 (CCL-2) — 1909,68/3300,50 пг/мл и IL-2 — 743,52/1091,57 пг/мл. С учетом того, что для IL-2 доказана способность индуцировать продукцию многих других ростовых и гемопоэтических факторов [14], можно предположить, что именно этот лимфокин является индуктором таких неспецифических для иммунной системы факторов, как VEGF и эритропоэтин, а также IL-13, всплеск продукции которых запаздывал по фазе относительно IL-2. С учетом длительной персистенции высоких уровней продукции IL-2, по данным [10], характерной для пациентов с РС, можно предположить главную роль этого лимфокина в характерной для РС массовой пролиферации лимфоцитов за пределами ЦНС. Повышение уровня продукции IL-4, IL-5, IL-6, IL-7 и IL-13, также представляющих собой лимфопролиферативные и гепомоэтические факторы, на

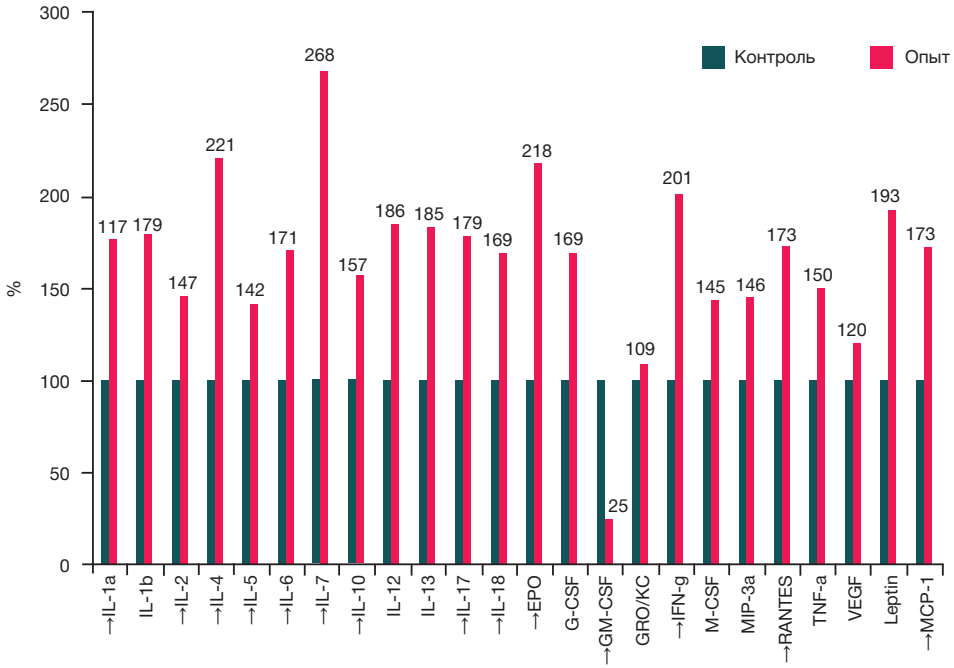


Рис. 3. Изменение содержания цитокинов в сыворотке крови крыс экспериментальной группы по сравнению с крысами контрольной группы через 7 суток после иммунизации. Содержание цитокинов в крови животных контрольной группы были приняты за 100 %. Достоверные различия показаны стрелками

фоне падения уровня продукции GM-CSF, можно рассматривать в качестве каскада, индуцированного при участии IL-2.

Для ЭАЭ у крыс в отличие от РС у человека не характерна продукция проапоптотических факторов, прежде всего TNF-α, несмотря на подъем уровня синтеза его классических индукторов — цитокинов IL12, IL-18 и IFN-γ [14]. Таким образом, рост содержания TNF-α при РС следует рассматривать скорее в качестве результата, а не причины поражения миелиновых оболочек. В то же время TNF-α может вносить существенный вклад в поражение астроцитов и нейронов на поздних стадиях развития РС.

В соответствии с описанной в работе [10] закономерностью, наблюдавшиеся нами подъем и спад продукции IFN-γ и RANTES (CCL-5) у крыс с ЭАЭ, происходившие синхронно, следует рассматривать как процессы, характерные и для РС у человека.

На ранней стадии развития ЭАЭ у крыс нами не было выявлено изменение уровня накопления в крови GRO/KC (CXCL1), ответственного за инфильтрацию лимфоцитов в ЦНС, что отличает модель от течения РС у человека (по данным [10]).

Для ЭАЭ у крыс и РС у человека в равной мере характерна гиперпродукция IL-17, которая может способствовать накоплению специфических лимфоцитов в ЦНС и активации у них цитотоксических функций.

Несмотря на выраженную гиперпродукцию IL-1b, для РС у человека характерно отсутствие участия в патогенетических реакциях нейтрофилов и факторов их таксиса и активации. В случае с моделью наблюдали похожую реакцию системы нейтрофилов. Фактор пролиферации предшественников нейтрофилов M-CSF не изменял своего содержания в процессе моделирования. То же наблюдали для MIP-3a (CCL20) — фактора защиты слизистых от бактериальной инфекции и лептина, отвечающего за повышение температуры при инфекции.

Гиперпродукцию IL-4 и IL-10 при ЭАЭ у крыс, особенно на фоне повышенного содержания IL-5, IL-13 и GM-CSF, следует рассматривать в качестве фактора, стимулирующего пролиферацию В-лимфоцитов. Теоретически этот набор факторов может способствовать появлению олигоклональных антител, однако такой факт до настоящего времени никем не был описан.

Отвечая на вопрос о локализации очага пролиферации миелин-специфичных лимфоцитов — внутри или вне ЦНС, необходимо отметить, что выбранная модель демонстрирует принципиальную возможность запуска этой реакции вне ЦНС. Однако динамика развития заболевания при ЭАЭ у крыс и РС у человека значительно различается. Нельзя исключать, что при развитии РС у человека первым событием является инфильтрация в ЦНС лимфоцитов, не прошедших клональную экспансию, которые затем подвергаются селекции в условиях избытка миелина. На аномальное поведение лимфоцитов в модели может влиять их первоначальная клонально-неспецифическая гиперпролиферация под действием системного или местного избытка лимфопролиферативных факторов и/или возникновение градиента лимфотактических факторов, исходящего из ЦНС. Альтернативой может быть инициация аномально быстрой деградации миелина в ЦНС, приводящая к массовому выходу продуктов его распада в системную циркуляцию. В этом случае модель является наиболее адекватной ранним стадиям РС у человека.

ВЫВОДЫ

Данные о динамике содержания цитокинов при ЭАЭ у крыс, полученные с помощью мультиплексного цитокинового теста, показали, что с точки зрения цитокинового профиля модель соответствует течению рассеянного склероза у человека в части динамики содержания системных лимфопролиферативных и гемопоэтических факторов: IL-1b, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6 и IL-7. В отношении факторов таксиса лимфоцитов, моноцитов и других клеток иммунной системы модель удовлетворительно имитирует поведение IL-17, RANTES (CCL-5) и MCP-1 (CCL-2), но отличается по поведению GRO/KC (CXCL1). Применительно к факторам, влияющим на цитотоксические и апоптотические реакции, модель схожа с течением РС у человека по таким ключевым факторам, как IFNγ, IL-6 и IL-17, но не по TNFα.

Литература

1. Noonan CW, Kathman SJ, White MC. Prevalence estimates for MS in the United States and evidence of an increasing trend for women. Neurology. 2002 Jan 8; 58 (1): 136–8.
2. Lucchinetti C, Brück W, Parisi J, Scheithauer B, Rodriguez M, Lassmann H. Heterogeneity of multiple sclerosis lesions: implications for the pathogenesis of demyelination. Ann Neurol. 2000 Jun; 47 (6): 707–17.
3. McDonald WI, Compston A, Edan G, Goodkin D, Hartung HP, Lublin FD et al. Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the diagnosis of multiple sclerosis. Ann Neurol. 2001 Jul; 50 (1): 121–7.
4. Kremenchutzky M, Cottrell D, Rice G, Hader W, Baskerville J, Koopman W et al. The natural history of multiple sclerosis: a geographically based study. 7. Progressive-relapsing and relapsing-progressive multiple sclerosis: are-evaluation. Brain. 1999 Oct; 122 (Pt 10): 1941–50.
5. Confavreux C, Vukusic S, Moreau T, Adeleine P. Relapses and progression of disability in multiple sclerosis. N Engl J Med. 2000 Nov 16; 343 (20): 1430–8. DOI: 10.1056/NEJM200011163432001.
6. Weinshenker BG, Bass B, Rice GP, Noseworthy J, Carriere W, Baskerville J et al. The natural history of multiple sclerosis: a geographically based study. I. Clinical course and disability. Brain. 1989 Feb; 112 (Pt 1): 133–46.
7. Frischer JM, Bramow S, Dal-Bianco A, Lucchinetti CF, Rauschka H, Schmidbauer M et al. The relation between inflammation and neurodegeneration in multiple sclerosis brains. Brain. 2009 May; 132 (Pt 5): 1175–89. DOI: 10.1093/brain/awp070.
8. Mensah-Brown EP, Shahin A, Garey LJ, Lukic ML. Neuroglial response after induction of experimental allergic encephalomyelitis insusceptible and resistant rat strains. Cell Immunol. 2005 Feb; 233 (2): 140–7. DOI: 10.1016/j.cellimm.2005.04.023.
9. Contarini G, Giusti P, Skaper SD. Active Induction of Experimental Autoimmune Encephalomyelitis in C57BL/6 Mice. Methods Mol Biol. 2018; 1727: 353–60. DOI: 10.1007/978-1-4939-7571-6_26.
10. Khaibullin T, Ivanova V, Martynova E, Cherepnev G, Khabirov F, Granatov E et al. Elevated Levels of Proinflammatory Cytokines in Cerebrospinal Fluid of Multiple Sclerosis Patients. Front Immunol. 2017 May 18; 8: 531. DOI: 10.3389/fimmu.2017.00531.
11. Albanesi C, Scarponi C, Cavani A, Federici M, Nasorri F, Girolomoni G. Interleukin-17 is produced by both Th1 and Th2 lymphocytes, and modulates interferon-gamma- and interleukin-4-induced activation of human keratinocytes. J Invest Dermatol. 2000; 115(1): 81-7.
12. Beeton C, Garcia A, Chandy KG. Induction and clinical scoring of chronic-relapsing experimental autoimmune encephalomyelitis. J Vis Exp. 2007; (5): 224. DOI: 10.3791/224.
13. Повещенко А. Ф., Казаков О. В., Орлов Н. Б., Повещенко О.В., Ким И. И., Бондаренко Н. А. и др. Цитокины сыворотки крови как маркеры онкогенеза и эффективности терапии при экспериментальной опухоли молочной железы крыс Wistar. Фундаментальные исследования. 2015. 1 (ч. 8): 1664–70.
14. Hamblin AS. Lymphokines and interleukins. Immunology. 1988; 64 (Suppl 1): 39–41.

References

1. Noonan CW, Kathman SJ, White MC. Prevalence estimates for MS in the United States and evidence of an increasing trend for women. Neurology. 2002 Jan 8; 58 (1): 136–8.
2. Lucchinetti C, Brück W, Parisi J, Scheithauer B, Rodriguez M, Lassmann H. Heterogeneity of multiple sclerosis lesions: implications for the pathogenesis of demyelination. Ann Neurol. 2000 Jun; 47 (6): 707–17.
3. McDonald WI, Compston A, Edan G, Goodkin D, Hartung HP, Lublin FD et al. Recommended diagnostic criteria for multiple sclerosis: guidelines from the International Panel on the diagnosis of multiple sclerosis. Ann Neurol. 2001 Jul; 50 (1): 121–7.
4. Kremenchutzky M, Cottrell D, Rice G, Hader W, Baskerville J, Koopman W et al. The natural history of multiple sclerosis: a geographically based study. 7. Progressive-relapsing and relapsing-progressive multiple sclerosis: are-evaluation. Brain. 1999 Oct; 122 (Pt 10): 1941–50.
5. Confavreux C, Vukusic S, Moreau T, Adeleine P. Relapses and progression of disability in multiple sclerosis. N Engl J Med. 2000 Nov 16; 343 (20): 1430–8. DOI: 10.1056/NEJM200011163432001.
6. Weinshenker BG, Bass B, Rice GP, Noseworthy J, Carriere W, Baskerville J et al. The natural history of multiple sclerosis: a geographically based study. I. Clinical course and disability. Brain. 1989 Feb; 112 (Pt 1): 133–46.
7. Frischer JM, Bramow S, Dal-Bianco A, Lucchinetti CF, Rauschka H, Schmidbauer M et al. The relation between inflammation and neurodegeneration in multiple sclerosis brains. Brain. 2009 May; 132 (Pt 5): 1175–89. DOI: 10.1093/brain/awp070.
8. Mensah-Brown EP, Shahin A, Garey LJ, Lukic ML. Neuroglial response after induction of experimental allergic encephalomyelitis insusceptible and resistant rat strains. Cell Immunol. 2005 Feb; 233 (2): 140–7. DOI: 10.1016/j.cellimm.2005.04.023.
9. Contarini G, Giusti P, Skaper SD. Active Induction of Experimental Autoimmune Encephalomyelitis in C57BL/6 Mice. Methods Mol Biol. 2018; 1727: 353–60. DOI: 10.1007/978-1-4939-7571-6_26.
10. Khaibullin T, Ivanova V, Martynova E, Cherepnev G, Khabirov F, Granatov E et al. Elevated Levels of Proinflammatory Cytokines in Cerebrospinal Fluid of Multiple Sclerosis Patients. Front Immunol. 2017 May 18; 8: 531. DOI: 10.3389/fimmu.2017.00531.
11. Albanesi C, Scarponi C, Cavani A, Federici M, Nasorri F, Girolomoni G. Interleukin-17 is produced by both Th1 and Th2 lymphocytes, and modulates interferon-gamma- and interleukin-4-induced activation of human keratinocytes. J Invest Dermatol. 2000; 115(1): 81-7.
12. Beeton C, Garcia A, Chandy KG. Induction and clinical scoring of chronic-relapsing experimental autoimmune encephalomyelitis. J Vis Exp. 2007; (5): 224. DOI: 10.3791/224.
13. Poveschenko AF, Kazakov OV, Orlov NB, Poveschenko OV, Kim II, Bondarenko NA et al. Serum cytokines of Wistar rats — markers of carcinogenesisand effectiveness of cancer therapy. Fundamental research. 2015; 1 (Pt 8): 1664–70. Russian.
14. Hamblin AS. Lymphokines and interleukins. Immunology. 1988; 64 (Suppl 1): 39–41.