

# ВЕСТНИК РОССИЙСКОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО МЕДИЦИНСКОГО УНИВЕРСИТЕТА

НАУЧНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ ЖУРНАЛ РНИМУ ИМ. Н. И. ПИРОГОВА

**ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР** Денис Ребриков, д. б. н., профессор

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

**РЕДАКТОРЫ** Валентина Гейдебрект, Лилия Егорова

**ТЕХНИЧЕСКИЙ РЕДАКТОР** Нина Тюрина

**ПЕРЕВОДЧИКИ** Екатерина Третьякова, Вячеслав Витюк

**ДИЗАЙН И ВЕРСТКА** Марина Доронина

## РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

**В. И. Аверин**, д. м. н., профессор (Минск, Белоруссия)  
**Н. Н. Алипов**, д. м. н., профессор (Москва, Россия)  
**В. В. Белоусов**, д. б. н., профессор (Москва, Россия)  
**М. Р. Богомилский**, член-корр. РАН, д. м. н., профессор (Москва, Россия)  
**В. К. Божено**, 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)  
**Г. Е. Гендлин**, д. м. н., профессор (Москва, Россия)  
**Е. К. Гинтер**, академик РАН, д. б. н. (Москва, Россия)  
**Л. Р. Горбачева**, д. б. н., профессор (Москва, Россия)  
**И. Г. Гордеев**, д. м. н., профессор (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)  
**Т. В. Зарубина**, д. м. н., профессор (Москва, Россия)  
**И. И. Затевахин**, академик РАН, д. м. н., профессор (Москва, Россия)  
**В. Е. Каган**, профессор (Питтсбург, США)  
**Ю. Г. Кжышковска**, д. б. н., профессор (Гейдельберг, Германия)  
**Б. А. Кобринский**, д. м. н., профессор (Москва, Россия)  
**А. В. Козлов**, MD PhD (Вена, Австрия)  
**Ю. В. Котелевцев**, к. х. н. (Москва, Россия)  
**М. А. Лебедев**, PhD (Дарем, США)  
**Н. Е. Мантурова**, д. м. н. (Москва, Россия)  
**О. Ю. Милушкина**, д. м. н., доцент (Москва, Россия)  
**З. Б. Митупов**, д. м. н., профессор (Москва, Россия)  
**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)  
**Ю. П. Пивоваров**, д. м. н., академик РАН, профессор (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)  
**А. Ю. Разумовский**, член-корр., профессор (Москва, Россия)  
**О. Ю. Реброва**, д. м. н. (Москва, Россия)  
**А. С. Рудой**, д. м. н., профессор (Минск, Белоруссия)  
**А. К. Рылова**, 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)  
**Н. А. Скоблина**, д. м. н., профессор (Москва, Россия)  
**Т. А. Славянская**, д. м. н., профессор (Москва, Россия)  
**В. М. Смирнов**, д. б. н., профессор (Москва, Россия)  
**А. Спаллоне**, д. м. н., профессор (Рим, Италия)  
**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. (Новосибирск, Россия)  
**Р. Н. Хазипов**, д. м. н. (Марсель, Франция)  
**М. А. Чундокова**, д. м. н., профессор (Москва, Россия)  
**Н. Л. Шимановский**, член-корр. РАН, д. м. н., профессор (Москва, Россия)  
**Л. Н. Шишкина**, д. б. н. (Новосибирск, Россия)  
**Р. И. Якубовская**, д. б. н., профессор (Москва, Россия)

**ПОДАЧА РУКОПИСЕЙ** <http://vestnikrgmu.ru/login>

**ПЕРЕПИСКА С РЕДАКЦИЕЙ** [editor@vestnikrgmu.ru](mailto:editor@vestnikrgmu.ru)

**СОТРУДНИЧЕСТВО** [manager@vestnikrgmu.ru](mailto:manager@vestnikrgmu.ru)

**АДРЕС РЕДАКЦИИ** ул. Островитянова, д. 1, г. Москва, 117997

Журнал включен в Scopus. CiteScoreTracker: 0,15

Журнал включен в WoS с 2018 г.

Индекс Хирша (h<sup>2</sup>) журнала по оценке Google Scholar: 3

**Scopus**<sup>®</sup>

**WEB OF SCIENCE**<sup>™</sup>

**Google**  
scholar

Журнал включен в РИНЦ. IF 2017: 0,326

Журнал включен в Перечень 27.01.2016 (№ 1760)

Здесь находится открытый архив журнала

**НАУЧНАЯ ЭЛЕКТРОННАЯ  
БИБЛИОТЕКА  
LIBRARY.RU**



**ВЫСШАЯ  
АТТЕСТАЦИОННАЯ  
КОМИССИЯ (ВАК)**

**CYBERLENINKA**

DOI выпуска: 10.24075/vrgmu.2019-02

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](http://www.creativecommons.org)

© Фото на обложке: Kerstin Joensson



Подписано в печать 30.04.2019

Тираж 100 экз. Отпечатано в типографии Print.Formula  
[www.print-formula.ru](http://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, professor

**DEPUTY EDITOR-IN-CHIEF** Alexander Oettinger, DSc, professor

**EDITORS** Valentina Geidebrekht, Liliya Egorova

**TECHNICAL EDITOR** Nina Tyurina

**TRANSLATORS** Ekaterina Tretiyakova, Vyacheslav Vityuk

**DESIGN AND LAYOUT** Marina Doronina

## EDITORIAL BOARD

**Averin VI**, DSc, professor (Minsk, Belarus)

**Alipov NN**, DSc, professor (Moscow, Russia)

**Belousov VV**, DSc, professor (Moscow, Russia)

**Bogomilskiy MR**, corr. member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)

**Bozhenko VK**, DSc, CSc, professor (Moscow, Russia)

**Bylova NA**, CSc, docent (Moscow, Russia)

**Gainetdinov RR**, CSc (Saint-Petersburg, Russia)

**Gendlin GYe**, DSc, professor (Moscow, Russia)

**Ginter EK**, member of RAS, DSc (Moscow, Russia)

**Gorbacheva LR**, DSc, professor (Moscow, Russia)

**Gordeev IG**, DSc, professor (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)

**Zarubina TV**, DSc, professor (Moscow, Russia)

**Zatevakhin II**, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)

**Kagan VE**, professor (Pittsburgh, USA)

**Kzyshkowska YuG**, DSc, professor (Heidelberg, Germany)

**Kobriniskii BA**, DSc, professor (Moscow, Russia)

**Kozlov AV**, MD PhD, (Vienna, Austria)

**Kotelevtsev YuV**, CSc (Moscow, Russia)

**Lebedev MA**, PhD (Darem, USA)

**Manturova NE**, DSc (Moscow, Russia)

**Milushkina OYu**, DSc, professor (Moscow, Russia)

**Mitupov ZB**, DSc, professor (Moscow, Russia)

**Moshkovskii SA**, DSc, professor (Moscow, Russia)

**Munblit DB**, MSc, PhD (London, Great Britain)

**Negrebetsky VV**, DSc, professor (Moscow, Russia)

**Novikov AA**, DSc (Moscow, Russia)

**Pivovarov YuP**, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)

**Polunina NV**, corr. member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)

**Poryadin GV**, corr. member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)

**Razumovskii AYU**, corr. member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)

**Rebrova OYu**, DSc (Moscow, Russia)

**Rudoy AS**, DSc, professor (Minsk, Belarus)

**Rylova AK**, DSc, professor (Moscow, Russia)

**Savelieva GM**, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)

**Semiglazov VF**, corr. member of RAS, DSc, professor (Saint-Petersburg, Russia)

**Skoblina NA**, DSc, professor (Moscow, Russia)

**Slavyanskaya TA**, DSc, professor (Moscow, Russia)

**Smirnov VM**, DSc, professor (Moscow, Russia)

**Spallone A**, DSc, professor (Rome, Italy)

**Starodubov VI**, member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)

**Stepanov VA**, corr. member of RAS, DSc, professor (Tomsk, Russia)

**Suchkov SV**, DSc, professor (Moscow, Russia)

**Takhchidi KhP**, corr. member of RAS, DSc (medicine), 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)

**Chundukova MA**, DSc, professor (Moscow, Russia)

**Shimanovskii NL**, corr. member of RAS, DSc, professor (Moscow, Russia)

**Shishkina LN**, DSc, senior researcher (Novosibirsk, Russia)

**Yakubovskaya RI**, DSc, professor (Moscow, Russia)

**SUBMISSION** <http://vestnikrgmu.ru/login?lang=en>

**CORRESPONDENCE** [editor@vestnikrgmu.ru](mailto:editor@vestnikrgmu.ru)

**COLLABORATION** [manager@vestnikrgmu.ru](mailto:manager@vestnikrgmu.ru)

**ADDRESS** ul. Ostrovityanova, d. 1, Moscow, Russia, 117997

Indexed in Scopus. CiteScoreTracker: 0.15

**Scopus**

Indexed in WoS since 2018

**WEB OF SCIENCE**

Five-year h-index is 3

**Google**  
scholar

Indexed in RSCI. IF 2017: 0.326

**НАУЧНАЯ ЭЛЕКТРОННАЯ  
БИБЛИОТЕКА  
LIBRARY.RU**

Listed in HAC 27.01.2016 (no. 1760)



**ВЫСШАЯ  
АТТЕСТАЦИОННАЯ  
КОМИССИЯ (ВАК)**

Open access to archive

**CYBERLENINKA**

Issue DOI: 10.24075/brsmu.2019-02

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](http://www.creativecommons.org)

© Photo by Kerstin Joensson



Approved for print 30.04.2019

Circulation: 100 copies. Printed by Print.Formula  
[www.print-formula.ru](http://www.print-formula.ru)

**ОБЗОР**

5

**Прецизионная медицина в онкологии: миф или реальность?**

Т. А. Славянская, С. В. Сальникова

**Precision oncology: myth or reality?**

Slavyanskaya TA, Salnikova SV

**ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ**

17

**Клинические и молекулярно-генетические характеристики пациентов с морфологической картиной врожденной стержневой миопатии**

А. А. Козина, П. А. Шаталов, Т. И. Баранич, С. Б. Артемьева, А. Г. Куприянова, Н. В. Барышникова, А. Ю. Красненко, В. В. Ильинский, В. С. Сухоруков

**Clinical and molecular-genetic profiles of patients with morphological indications of congenital multicore myopathy**

Kozina AA, Shatalov PA, Baranich TI, Artemieva SB, Kupriyanova AG, Baryshnikova NV, Krasnenko AY, Ilinsky VV, Sukhorukov VS

**МНЕНИЕ**

25

**Природное редактирование РНК с заменой аденозина на инозин может участвовать в патогенезе болезней человека**

А. А. Ключникова, С. А. Мошковский

**Adenosine-to-inosine RNA editing may be implicated in human pathogenesis**

Kliuchnikova AA, Moshkovskii SA

**ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ**

29

**Высокоскоростной коммуникационный интерфейс мозг-компьютер на основе кодированных зрительных вызванных потенциалов**

Р. К. Григорян, Д. Б. Филатов, А. Я. Каплан

**High-speed brain-computer communication interface based on code-modulated visual evoked potentials**

Grigoryan RK, Filatov DB, Kaplan AY

**ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ**

36

**Адаптация технологии интерфейсов мозг-компьютер на волне P300 для оценивания состояния больных нервной анорексией**

И. П. Ганин, Е. А. Косиченко, А. В. Соколов, О. М. Иоаннисянц, И. М. Арефьев, А. Я. Басова, А. Я. Каплан

**Adapting the P300 brain-computer interface technology to assess condition of anorexia nervosa patients**

Ganin IP, Kosichenko EA, Sokolov AV, Ioannisyanc OM, Arefev IM, Basova AY, Kaplan AY

**ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ**

44

**Влияние технологии протезирования зубов на динамику ранних предикторов воспалительно-деструктивного процесса в перимплантантной зоне**

В. П. Тлустенко, И. М. Байриков, Д. А. Трунин, О. А. Гусьякова, С. С. Комлев

**Influence of dental prosthetics technology on the dynamics of early predictors of destructive inflammatory process in the periimplant zone**

Tlustenko VP, Bayrikov IM, Trunin DA, Gusyaykova OA, Komlev SS

**ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ**

48

**Прогностическая модель для оценки хронического генерализованного пародонтита у пациентов с метаболическим синдромом**

Н. Б. Петрухина, О. А. Зорина, Е. В. Ших, Е. В. Картышева, А. В. Кудрявцев

**A prognostic model for the prediction of generalized chronic periodontitis in patients with metabolic syndrome**

Petrukhina NB, Zorina OA, Shikh EV, Kartysheva EV, Kudryavtsev AV

**ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ**

53

**Анализ угловых отклонений между осями денальных имплантатов, установленных по классической методике**

А. В. Иващенко, А. Е. Яблоков, И. М. Федяев, В. П. Тлустенко, Н. Е. Ротин, В. В. Тугушев

**Analysis of divergence between the axes of dental implants installed using a classic freehand technique**

Ivaschenko AV, Yablokov AE, Fedyaev IM, Tlustenko VP, Rotin NE, Tugushev VV

**ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ**

58

**Влияние различных видов съемных конструкций и денальных имплантатов на микробиоценоз полости рта при ортопедическом лечении**

В. П. Тлустенко, И. М. Байриков, Д. А. Трунин, С. С. Комлев, А. В. Жестков, А. В. Лямин

**Effect of various types of removable appliances and dental implants on the oral microbiocenosis during orthopedic treatment**

Tlustenko VP, Bairikov IM, Trunin DA, Komlev SS, Zhestkov AV, Lyamin AV

<b>ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ</b>	<b>64</b>
<hr/>	
Изучение типа противомикробного действия новых соединений, синтезированных на основе замещенных бензамининдолов И. С. Степаненко, С. А. Ямашкин, Ю. А. Костина, Е. Д. Слостников, А. А. Батаршева <b>A study of the type of antimicrobial action of novel compounds synthesized from substituted benzaminoindoles</b> Stepanenko IS, Yamashkin SA, Kostina YuA, Slastnikov ED, Batarshcheva AA	
<b>ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ</b>	<b>72</b>
<hr/>	
Динамика показателей гемостаза и эндотелиальной дисфункции при термической травме В. В. Моррисон, А. Ю. Божедомов <b>Dynamics of hemostasis parameters and endothelial dysfunction markers in patients with thermal injury</b> Morrison VV, Bozhedomov AYU	
<b>ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ</b>	<b>77</b>
<hr/>	
Остеоартроз коленного сустава у пожилых — всегда ли оправдано эндопротезирование? А. В. Лычагин, А. В. Гаркави, В. А. Мещеряков, В. С. Кайков <b>Osteoarthritis of the knee in the elderly: is knee replacement always justified?</b> Lyachagin AV, Garkavi AV, Meshcheryakov VA, Kaykov VS	
<b>КЛИНИЧЕСКИЙ СЛУЧАЙ</b>	<b>83</b>
<hr/>	
Новый способ тампонады таза при продолжающемся внутритазовом кровотечении К. А. Егиазарян, Д. И. Гордиенко, Д. А. Старчик, А. М. Лыско <b>The new method of pelvic packing against continuing intrapelvic bleeding resulting from the unstable pelvic ring fractures</b> Egjazaryan KA, Gordienko DI, Starchik DA, Lysko AM	
<b>ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ</b>	<b>89</b>
<hr/>	
Взаимосвязь немедикаментозной коррекции климактерических расстройств и функционирования гипофизарно-тиреоидной системы у женщин с метаболическим синдромом Р. Р. Бериханова, И. А. Миненко <b>Interrelation of non-drug correction of menopausal disorders and functioning of the pituitary-thyroid system in women with metabolic syndrome</b> Berihanova RR, Minenko IA	
<b>ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ</b>	<b>97</b>
<hr/>	
Научное обоснование применения результатов антропометрических исследований и биоимпедансного анализа в качестве критериев оценки эффективности оздоровления детей в летних лагерях М. Ю. Гаврюшин, О. В. Сазонова, Д. О. Горбачев, Л. М. Бородина, О. В. Фролова, Д. С. Тупкиова <b>A rationale for the use of anthropometric measurements and bioelectrical impedance analysis as efficacy criteria for summer camp healthcare</b> Gavryushin MYu, Sazonova OV, Gorbachev DO, Borodina LM, Frolova OV, Tupikova DS	
<b>МЕТОД</b>	<b>105</b>
<hr/>	
Технология комбинированного лазерного лечения эпиретинального фиброза: физико-математическая модель Х. П. Тахчиди, Г. И. Желтов, Г. Ф. Качалина, Т. А. Касмынина, Е. П. Тебина <b>Combination laser therapy for epiretinal membrane: a physico-mathematical model</b> Takhchidi KP, Zheltov GI, Kachalina GF, Kasminina TA, Tebina EP	
<b>МЕТОД</b>	<b>112</b>
<hr/>	
Клиническая оценка разработанной технологии комбинированного лазерного лечения при начальных стадиях идиопатической эпиретинальной мембраны Х. П. Тахчиди, Г. Ф. Качалина, Т. А. Касмынина, Е. П. Тебина <b>Combined laser treatment of early idiopathic epiretinal membrane: clinical evaluation of the developed technique</b> Takhchidi KP, Kachalina GF, Kasminina TA, Tebina EP	

## ПРЕЦИЗИОННАЯ МЕДИЦИНА В ОНКОЛОГИИ: МИФ ИЛИ РЕАЛЬНОСТЬ?

Т. А. Славянская<sup>1,2</sup> ✉, С. В. Сальникова<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Российский университет дружбы народов, Москва, Россия

<sup>2</sup> Институт иммунофизиологии, Москва, Россия

Бурный рост числа онкологических заболеваний во всем мире диктует необходимость разработки новых, инновационных и персонализированных подходов к их лечению. Отсутствие клинических проявлений на ранних стадиях болезни не позволяет своевременно назначить адекватную терапию. Традиционные методы лечения, не всегда обладающие удовлетворительной эффективностью, не предотвращают рецидивирование, не обеспечивают достаточную ремиссию и продолжительность жизни больного. Значительные трудности представляет собой лечение инвазивного, метастатического рака. В статье представлен краткий обзор иммунологических механизмов развития злокачественных новообразований, современных традиционных и инновационных методов лечения рака, а также анализ литературных данных по использованию методов таргетной, генной терапии, специфической иммунотерапии и других подходов, лежащих в основе прецизионной медицины в онкологии.

**Ключевые слова:** рак, неспецифическая иммунотерапия, цитокинотерапия, таргетная терапия, моноклональные антитела, иммунные чек-пойнты, противоопухолевые вакцины, генная терапия, нанотехнологии, прецизионная медицина

**Информация о вкладе авторов:** Т. А. Славянская — идея и план написания обзора, сбор и анализ литературы, интерпретация данных, рецензирование статьи, подбор рисунков, написание выводов; С. В. Сальникова — сбор и анализ литературы, подготовка черновика рукописи.

✉ **Для корреспонденции:** Татьяна Александровна Славянская  
ул. Миклухо-Маклая, д. 6, г. Москва, 117198; tslavyanskaya@gmail.com

**Статья получена:** 24.08.2018 **Статья принята к печати:** 25.03.2019 **Опубликована онлайн:** 31.03.2019

**DOI:** 10.24075/vrgmu.2019.018

## PRECISION ONCOLOGY: MYTH OR REALITY?

Slavyanskaya TA<sup>1,2</sup> ✉, Salnikova SV<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia

<sup>2</sup> Institute of Immunophysiology, Moscow, Russia

Cancer incidence rates are growing at an alarming pace pressing for the development of innovative personalized approaches to treating this disease. The absence of clinical symptoms in the early stages delays the onset of adequate treatment. Traditional therapies are not always as effective as they should be and do not guarantee long-lasting relapse-free survival. Metastatic cancers pose a particular challenge to healthcare professionals. This review touches upon the immunologic mechanisms underlying the development of malignancies, talks about conventional and innovative therapeutic modalities, such as targeted, gene or specific immunotherapies, and analyzes the literature on the use of different approaches that form a basis for precision oncology.

**Keywords:** cancer, nonspecific immunotherapy, cytokine therapy, targeted therapy, monoclonal antibodies, immune checkpoints, cancer vaccines, gene therapy, nanotechnologies, precision medicine

**Author contribution:** Slavyanskaya TA conceived and planned this review, collected, analyzed and interpreted literature data, reviewed the manuscript, provided images, and wrote conclusions. Salnikova SV collected and analyzed literature data and prepared the draft of the manuscript.

✉ **Correspondence should be addressed:** Tatiana A. Slavyanskaya  
Miklouho-Maclay 6, Moscow, 117198; tslavyanskaya@gmail.com

**Received:** 24.08.2018 **Accepted:** 25.03.2019 **Published online:** 31.03.2019

**DOI:** 10.24075/brsmu.2019.018

Проблема борьбы с онкологическими заболеваниями остается приоритетной во всем мире. В последние десятилетия достигнуты несомненные успехи в лечении различных заболеваний [1–3], в том числе злокачественных [4–10]. Достижения в области молекулярной биологии, генетики и иммунологии способствовали выявлению иммуногенетических и иммунобиологических особенностей различных опухолей, пониманию роли врожденного и адаптивного иммунитета в противоопухолевой защите. Результаты проведенных работ убедительно показали, что эффективность иммунотерапии зависит от иммунологической составляющей опухоли. Новые исследования, направленные на понимание иммунных механизмов развития рака и процессов, происходящих в микроокружении опухоли [11], позволили изменить подходы к терапии злокачественных новообразований, поменять стратегию лечения [12–14]. Комплексный подход к терапии, поиск новых мишеней, разработка инновационных методов и способов

персонифицированной терапии могут способствовать успешному и результативному лечению рака различной локализации [4, 5, 15, 16].

### Роль врожденного и адаптивного иммунитета в противоопухолевой защите

Реакция иммунной системы при развитии рака (цикл рак–иммунитет) характеризуется быстрой пролиферацией раковых клеток, что прежде всего связано с нарушением иммунологической противоопухолевой защиты и «ускользанием» опухоли от иммунологического надзора. Три фазы опухолевого процесса — устранение, равновесие и побег — либо контролируют рак, либо поддерживают его прогрессирование. Устранение включает эффективный ответ Т-клеток, направленный на разрушение опухоли. Локальное развитие опухоли происходит в равновесной фазе, в течение которой неполный контроль иммунной

системой позволяет злокачественным клеткам сохраняться, расти и подвергаться значительным мутациям. Ингибирующая энергия Т-клеток приводит к фазе побега: локальному прогрессированию и метастазированию [17–19].

#### Врожденный иммунитет

В элиминации опухолевых клеток принимают участие натуральные киллеры (NK), натуральные киллеры с Т-клеточным рецептором (NKT), гамма-дельта-Т-клетки ( $\gamma\delta$ -Т), макрофаги и гранулоциты.

Ключевую роль в неспецифической элиминации опухолевых клеток играют NK-клетки. Регуляция их функций осуществляется за счет цитокинов (IL2, IL15), костимулирующих молекул (CD40, CD70, CD80, CD86, ICOS), активирующих рецепторов (NKp30, NKp44, NKp46, NKp80), которые наряду с продукцией IFN $\gamma$  и перфоринов реализуют эффекторные функции NK и ингибирующих рецепторов (KIR, CD94) [18, 19].

NKT-клетки представляют собой субпопуляцию лимфоцитов, экспрессирующих как маркеры NK-клеток, так и Т-клеточные дифференцировочные антигены. Для реализации их эффекторных функций требуется присутствие гранулоцитарно-макрофагального колониестимулирующего фактора (GM-CSF) и IL12 [20]. NKT-клетки служат важнейшими регуляторами иммунного ответа, способствуя защите организма от возникновения, роста и метастазирования опухолей.

Интеграцию врожденного и адаптивного иммунитета осуществляют  $\gamma\delta$ -Т-клетки, локализующиеся в эпителии кожи, желудочно-кишечного тракта и мочеполовой системы. Они могут играть роль антигенпредставляющих клеток (АПК) [18].

Роль гранулоцитов и макрофагов оценить на ранних стадиях канцерогенеза не представляется возможным. На поздних стадиях макрофаги поддерживают рост опухоли [18].

#### Адаптивный иммунитет

Ключевым моментом в работе адаптивного иммунитета является презентация антигена АПК, в роли которых в абсолютном большинстве случаев выступают дендритные клетки (ДК). Однако презентировать антиген могут также клетки эндотелия, В-лимфоциты и даже сами опухоли [19]. Определенную роль ДК играют также в индукции и поддержании толерантности к собственным антигенам.

В норме для адекватного иммунного ответа необходимо контактное и дистантное взаимодействие ДК и Т-хелперов (Th). Контактное взаимодействие осуществляется группой молекул на мембране Т-клетки. В частности, происходит последовательное взаимодействие CD2, главного комплекса гистосовместимости класса II (MHC II) в комплексе с антигеном, CD40, ICAM I, CD 80/86, CD 83 на поверхности АПК с соответствующими им молекулами на поверхности Th: CD58, TCR, CD154, CD11a/CD18, CD28, CD152.

Передачу сигнала внутрь клетки осуществляет группа вторичных мессенджеров, среди которых наиболее изучены система инозитол-3-фосфата, кальмодулин-кальциевая система, а также группа киназ, связанных с Т-клеточными рецепторами. В результате прямого и опосредованного взаимодействий происходит активация Th1 и Th2 и соответственно клеточного и гуморального звеньев иммунитета.

С точки зрения противоопухолевой защиты более важно клеточное звено иммунитета. Т-лимфоциты

экспрессируют большое количество рецепторов, которые известны тем, что стимулируют или ингибируют активацию этих клеток (рис. 1). Относительное вовлечение данных рецепторов определяет конечный результат такой активации. Эти коингибиторные рецепторы Т-клеток, а также моноклональные антитела (MкАТ), блокирующие ингибиторные молекулы на иммунокомпетентных и опухолевых клетках, стали объектом исследования многих ученых с целью повышения эффективности противоопухолевого иммунного ответа.

Однако в некоторых работах *in vivo* показано, что антителозависимая клеточная цитотоксичность также вносит определенный вклад в деструкцию опухолевых клеток. На более поздних стадиях опухолевой прогрессии гуморальное звено иммунитета препятствует деструкции опухолевых клеток [18, 19].

Опухоль, особенно на ранних этапах развития, не является для организма чужеродной и в большинстве случаев не содержит антигенов, которые существенно отличали бы ее от нормальных тканей.

Фаза равновесия характеризуется интенсивным ростом опухоли и активацией процессов ангиогенеза. В микроокружении опухоли появляются ДК и макрофаги. Эта фаза характеризуется образованием опухолевого клона из трансформированных раковых клеток и опухоли. В этот период иммунологические реакции аналогичны таковым в фазе надзора, однако процессы канцерогенеза преобладают над защитными механизмами, в связи с чем наблюдается постепенное увеличение объема опухолевой массы.

Фаза ускользания характеризуется сдвигом цитокиновой регуляции в сторону иммуносупрессии, дисбалансом между эффекторными и супрессорными иммунокомпетентными клетками, наличием молекулярных дефектов на стадиях распознавания, презентации антигена и трансдукции сигнала внутрь клетки [19].

Цитокины — регуляторные пептиды, продуцируемые клетками организма. Трансформирующий ростовой фактор бета TGF- $\beta$  (TGF- $\beta_{1,2,3}$ ) — регуляторный пептид, участвующий во многих биологических процессах, включая канцерогенез, заживление ран и поддержание иммунологического гомеостаза. TGF- $\beta_{1,2}$  реализует свои биологические функции посредством серин-треониновых рецепторов I и II типов (TGF- $\beta$ RI, TGF- $\beta$ RII). Участие этого цитокина в формировании иммунологической толерантности обусловлено его влиянием на CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>-лимфоциты и NK-клетки. TGF- $\beta$  способствует сдвигу направления дифференцировки CD4<sup>+</sup> в сторону преобладания иммунорегуляторных клеток (CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Т-регуляторных клеток или естественных Treg), подавляет экспрессию перфоринов, гранзима В и FAS-лиганда в CD8<sup>+</sup>-лимфоцитах, блокирует IL12-индуцированную экспрессию IFN- $\gamma$  NK [20–22].

Интерлейкин IL10 реализует свои функции посредством рецепторов двух типов IL10R1 и IL10R2, локализованных на ДК и Th. Он блокирует продукцию IL12, костимулирующих молекул, экспрессию антигенов MHC II на ДК, нарушая их созревание, а также синтез цитокинов CD4<sup>+</sup>-клетками [19]. Гетеродимер IL23 состоит из двух субъединиц, одна из которых (p40) аналогична таковой у IL12. Как IL23, так и IL12 продуцируются клетками, относящимися к системе врожденного иммунитета, но регулируют функционирование компонентов адаптивного иммунитета. IL12 способствует созреванию Т-лимфоцитов и индуцирует продукцию IL6, IL15, IL18, TNF $\beta$ , GM-CSF, в то время как IL23 способствует дифференцировке незрелых клеток

в Th17 и синтезу IL17, IL17F, IL6, TNF $\alpha$ . Кроме того, в ряде работ показано, что IL23 способствует стимуляции ангиогенеза за счет увеличения экспрессии матриксной металлопротеиназы 9-го типа (MMP9) [18, 19, 22].

Наиболее важным проангиогенным фактором, продуцируемым как опухолью, так и иммунокомпетентными клетками, служит сосудистый эндотелиальный фактор роста (VEGF). В настоящее время известно семь изоформ, из которых VEGF- $\alpha$  наиболее значим для процессов ангиогенеза и иммуномодуляции. VEGF подавляет созревание ДК, а также способствует генерации незрелых миелоидных клеток (iMC), которые в свою очередь подавляют Т-клеточную активность [19].

Главное «поле битвы» иммунной системы и опухоли — ее микроокружение. В фазе ускользания отмечается увеличение доли незрелых ДК и супрессорных Т-регуляторов (Treg) в общей популяции. Зрелые ДК экспрессируют на своей поверхности CD40, CD80, CD83, CD86 и характеризуются высоким уровнем продукции IL12. Под действием VEGF, IL6, TGF- $\beta$ , IL10, COX-2, PGE2, ганглиозидов, находящихся в микроокружении опухоли, блокируются дифференцировка и созревание ДК, что делает невозможным формирование адекватного иммунного ответа [19].

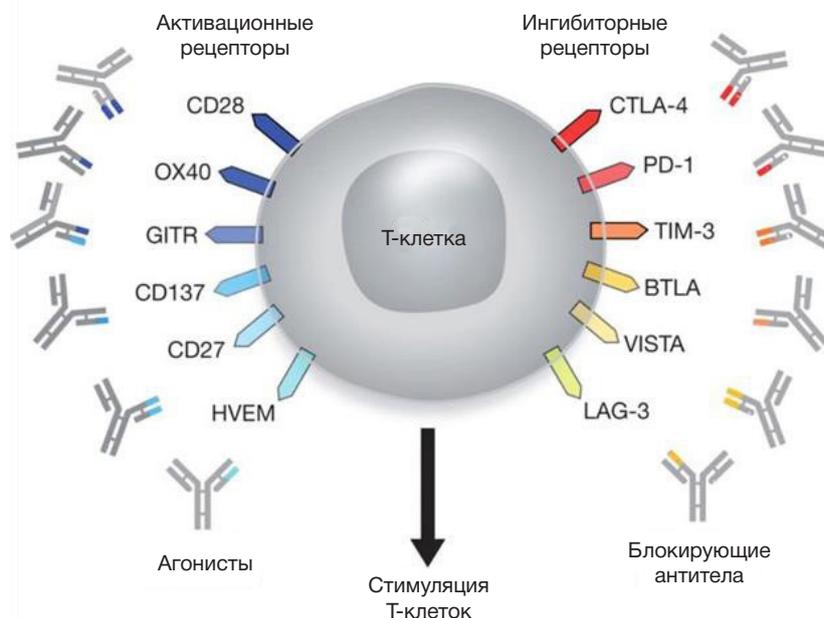
Регуляторные Т-клетки относятся к системе адаптивного иммунитета и созревают из незрелых Т-клеток. Они подавляют иммунный ответ путем регуляции функций эффекторных клеток. В настоящее время выделяют три типа Treg: CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> и две разновидности индуцированных Treg: Treg1 и Treg2 (последние обозначали ранее как Th3). Кроме того, имеются супрессорные клетки с фенотипом CD8<sup>+</sup>, однако их функция не до конца понятна. Наибольшую роль в иммуносупрессии у онкологических больных играют CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Treg-

клетки, берущие свое начало в костном мозге. Их высокую концентрацию выявляют у больных раком молочной железы, колоректальным раком, раком легкого, поджелудочной железы. Образуются они из тех же клетко-предшественниц, что и Th, под влиянием избыточных концентраций TGF- $\beta$ , IL10 и VEGF. Механизм супрессивного действия CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Treg-клеток связан с секрецией супрессорных цитокинов (TGF- $\beta$ , IL10), с «конкуренцией» в отношении лигандов (IL2), индукцией толерантности ДК и в ряде случаев с их прямым лизисом [23].

Третьей характерной особенностью фазы ускользания является наличие молекулярных дефектов ДК и лимфоцитов. В частности, обнаружено снижение уровня экспрессии молекул MHC классов I и II, CD80, CD86, CD154 на поверхности АПК из опухоли, а также  $\xi$ -цепи TCR Th [23].

Кроме нарушений функциональной активности лимфоцитов, выявлены изменения экспрессии и состава интегринов на опухолевых клетках, что может способствовать как уменьшению силы их взаимодействия между собой, так и неоангиогенезу. На поверхности опухолевых клеток нарушен также синтез селектинов (CD44, ELAM-1), что коррелирует с плохим прогнозом заболевания.

Одним из основных факторов, подавляющих функции лимфоцитов, находящихся в микроокружении опухоли, являются ганглиозиды (GD1a, GD2, GD3, GM1, GM2), экспрессирующиеся на поверхности опухолевых клеток и сливающиеся в межклеточное пространство. Они обладают способностью подавлять функции лимфоцитов, инфильтрирующих опухоль (TIL), вмешиваясь в процессы трансдукции сигнала внутрь клетки. Нарушения эффекторной функции лимфоцитов проявляются в виде снижения уровня экспрессии гранзима В и киназ, находящихся в комплексе с TCR-p59fyn и ZAP-70.



**Рис. 1.** Активационные и ингибиторные рецепторы Т-клеток [21]. Т-лимфоциты экспрессируют большое количество рецепторов, которые известны тем, что стимулируют или ингибируют активацию этих клеток. Относительное вовлечение этих рецепторов определяет конечный результат такой активации. *Ингибиторные рецепторы:* CTLA-4, или антиген-4 цитотоксических Т-лимфоцитов, — негативный регулятор активации Т-клеток; PD-1, или рецептор-1 запрограммированной смерти клетки, — играет важную роль в отрицательной регуляции иммунной системы посредством предотвращения активации Т-лимфоцитов, что снижает аутоиммунность и повышает ауто толерантность; TIM — Т-клеточный иммуноглобулин и муциновый белок; BTLA, или В- и Т-лимфоцитарный аттенуатор, — антиген, ослабляющий функции В- и Т-лимфоцитов, участвует в регуляции лимфоцитов во время иммунного ответа. Продукт гена человека BTLA. Экспрессия BTLA индуцируется при активации Т-лимфоцитов и остается на клетках Th1, но не Th2; VISTA — иммуноглобулиновый супрессор активирования Т-клеток V домена; LAG-3 (CD223) — ген активации лимфоцитов. *Активационные рецепторы:* CD28 — костимуляторный рецептор; OX40 — костимуляторный рецептор; GITR — глюкокортикоид-индуцированный рецептор к ФНО; CD137 — костимуляторный рецептор; CD27 — костимуляторный рецептор; HVEM — мембранный белок, рецептор из надсемейства рецепторов факторов некроза опухоли 14 (TNFRSF14), медиатор проникновения вируса герпеса

Среди интегральных показателей функционирования иммунной системы наиболее значимы снижение пролиферативного индекса, экспрессии  $\alpha$ - и  $\beta$ -субъединиц рецептора IL2, степень фосфорилирования белка, кодируемого геном Rb. Все эти изменения характерны как для периферических лимфоцитов, так и для клеток, инфильтрирующих опухоль, однако выражены они в разной степени. Уровень экспрессии рецептора IL2,  $\xi$ -цепи TCR, CD54, а также некоторых других показателей составляет примерно 80% для периферических лимфоцитов (от уровня этих показателей, соответствующих здоровым людям) и 30% для лимфоцитов, инфильтрирующих опухоль. Это подтверждает тот факт, что данные изменения носят вторичный характер по отношению к опухоли [23].

Описанные выше изменения характерны для иммунной системы больных с локально распространенными и диссеминированными формами опухолей.

Таким образом, иммунной системе принадлежит решающая роль в борьбе со злокачественными новообразованиями. Общая иммунодепрессия при онкологических заболеваниях имеет многофакторное происхождение и обычно сочетается со способностью клеток опухолевого клона активно противостоять воздействию эффекторов иммунной системы. Вместе с тем, понимание ключевых патогенетических механизмов, лежащих в основе развития опухоли, ее «ускользания» от иммунобиологического контроля, стали отправной точкой для создания нового направления в онкологии — специфической иммунотерапии, лежащей в основе прецизионного лечения.

### Инновационные методы лечения злокачественных новообразований

Идея использования *неспецифической иммунотерапии* (НИТ) при лечении онкозаболеваний зародилась давно. С целью профилактики рецидивов при неинвазивном уротелиальном раке (УР) на протяжении многих десятилетий применяют *БЦЖ-вакцину* — стандартный метод НИТ (Б-НИТ), либо ее комбинации с IL или анти-IL моноклональными антителами (МкАТ к IL) [6, 24]. Установлено, что Б-НИТ в сочетании с представителями семейства *toll*-подобных рецепторов (TLR2, TLR4, TLR9, TRAIL) приводит к уменьшению количества рецидивов. В клинических испытаниях перспективными были также признаны и агонисты TLR7 и TLR9 [25].

В настоящее время все большее внимание уделяют *адаптивной специфической иммунотерапии* — методу, основанному на введении в организм пациента собственных клеток иммунной системы, активированных *in vitro* [6].

Прорывом в лечении онкологических больных стала *таргетная терапия* с использованием МкАТ. Ее проводят с помощью препаратов, мишенями для которых служат ростовые факторы и рецепторы, экспрессируемые раковыми клетками [26]. Для многих опухолей человека характерны высокие уровни ростовых факторов и их рецепторов, что активно используют в качестве потенциальных терапевтических мишеней для таргетной терапии. Так, в настоящее время изучают противоопухолевое действие препаратов, влияющих на ангиогенез, например VEGF, рецептор эпидермального фактора роста (EGFR) и др. [27].

Повышено внимание при терапии рака к *ингибиторам ангиогенеза*, однако мало что известно об их действии на сосуды опухоли. Результаты исследований по оценке

ингибиторов VEGF (AG013736 и Vegf-Trap) показали, что эти препараты останавливают ангиогенез или вызывают регрессию существующих опухолевых сосудов. Лечение ими вызвало надежные и ранние изменения в эндотелиальных клетках, перicyтах и базальной мембране сосудов при спонтанных опухолях островков РИП-Tag2 трансгенных мышей и при подкожно имплантированных карциномах легких Льюиса. Было отмечено уменьшение сосудистой плотности более чем на 70%, а оставшиеся эндотелиальные клетки приобрели нормальный фенотип, в них уменьшилась экспрессия EGFR [27].

Несомненный интерес для онкологии представляют *интегриновые белки*, облегчающие связь между клетками и их внеклеточной средой и контролирующие клеточную пролиферацию, выживание, миграцию и адгезию [28]. Понимание роли интегринов, значения уровня их экспрессии для иммунного контроля над опухолью, является активной областью исследований иммунотерапии. В настоящее время клинические испытания проходят несколько МкАТ, нацеленных на интегрины, — этаразициумаб, циленгитид [29, 30]. В I фазе клинических испытаний этаразициумаб (МкАТ против интегрин  $\alpha v \beta 3$ ) показал свою эффективность при лечении многих опухолей, однако в исследовании II фазы эффективность препарата не была подтверждена [29]. Циленгитид (МкАТ к интегрин  $\alpha v \beta 3$  и  $\alpha v \beta 5$ ) показал эффективность и хорошую переносимость в I и II фазах клинических испытаний для лечения глиобластом, причем 69% имели безрецидивную выживаемость в течение 6 месяцев [31].

В дополнение к интегринам в качестве терапевтических мишеней исследуют другие молекулы, участвующие в клеточной передаче сигналов, которые подавляют иммунную функцию в микроокружении опухоли. На многих лейкоцитах обнаружен *интегрин-ассоциированный белок CD47* — белок мембранного рецептора клеточной поверхности. Он связывается с бета-3-интегрином, тромбоспондином-1, сигнальным регуляторным белком-альфа (SIRP- $\alpha$ ) и другими сигнальными белками для регулирования активации Т-клеток, миграции клеток, фагоцитоза и других функций иммунных клеток. CD47 экспрессируется не только во многих опухолях, но и в раковых стволовых клетках, что позволяет последним выживать, приводя к позднему рецидиву. Использование CD47 с МкАТ в мышиных моделях оказалось эффективным при лечении острого лимфоцитарного лейкоза, острого миелоидного лейкоза и лейомиосаркомы. В настоящее время проходит I фаза клинических испытаний в нескольких исследованиях с оценкой ингибирования CD47 у пациентов с УР, острым миелоидным лейкозом [32].

*Рецепторы фактора некроза опухолей* (TNF-R), включая индуцированные глюкокортикоидами TNF-R (GITR, CD357), CD27, OX40 (CD134) и 4-1BB (CD137), представляют собой семейство белков, ответственных за трансдуцирование дополнительных костимулирующих сигналов, необходимых для активации Т-лимфоцитов, участвующих в уничтожении опухолевых клеток. Для использования этого важного сигнального каскада были разработаны МкАТ-агонисты и специфические комплексы лигандов, которые могут взаимодействовать с TNF-R и активировать последующие реакции [33]. Завершена I фаза клинических испытаний препарата варлилумаб — агониста IgG1 человека, который направлен против CD27 (aCD27). В экспериментальных исследованиях на мышах было продемонстрировано, что его сочетание с антиPD-1 приводит к 100%-й элиминации опухоли благодаря способности aCD27 стимулировать

цитотоксические Т-лимфоциты (ЦТЛ). Этот ответ намного сильнее, чем результат двойной терапии с помощью aPD-1/aCTLA-4 [33].

Определенный интерес представляет *рецептор колониестимулирующего фактора 1 (CSF1R)* — поверхностный клеточный рецептор, экспрессируемый преимущественно макрофагами и моноцитами. Лигирование CSF1R способствует активации макрофагов (M) и трансформации их в сторону фенотипа M2 (участвуют в Т-хелперных иммунных реакциях 2-го типа, стимулируют процессы пролиферации и ангиогенеза), поэтому блокирование CSF1R или истощение клеток, экспрессирующих CSF1R, обуславливает развитие противоопухолевых макрофагов фенотипа M1 (способствуют выработке провоспалительных цитокинов, цитотоксических молекул и помогают реализовать Т-хелперные иммунные реакции 1-го типа). Эффективность методики была показана в исследованиях на животных [34]. В настоящее время проводят I и II фазы клинических испытаний ингибитора малых молекул CSF1R (PLX3397, Плексикон) в сочетании с пембролизумабом у пациентов с прогрессирующими раковыми заболеваниями. Были также получены MkAT, нацеленные на CSF1R (FPA008, Five Prime Therapeutics, Emactuzumab, Hoffmann-La Roche).

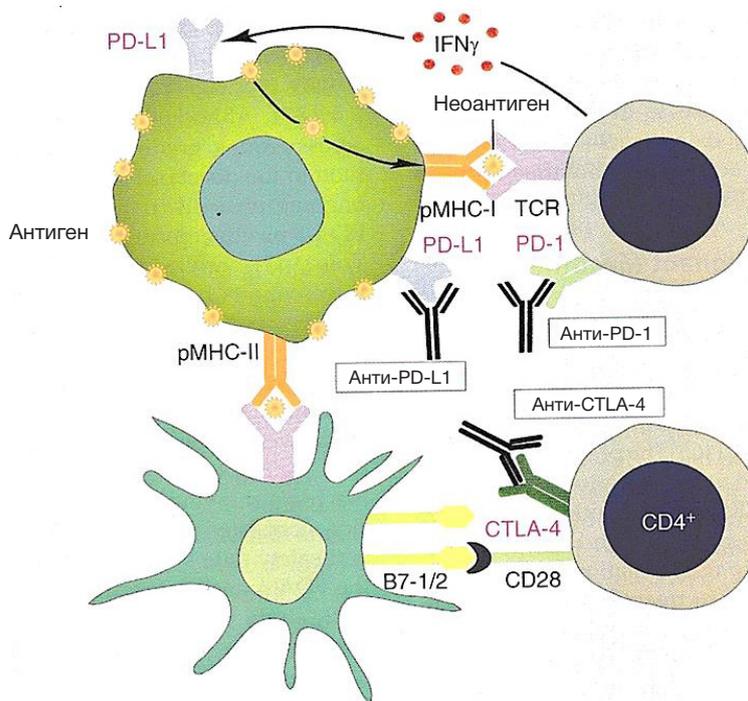
Успешная иммунотерапия невозможна без понимания процессов, происходящих в опухолевом микроокружении, где одним из важных факторов является уровень инфильтрации опухоли Т-клетками. В оценке уровня может помочь изучение связанных с опухолью макрофагов, сосудистых эндотелиальных клеток, фибробластов и иммуносупрессивных метаболитов, например кинуренина [7].

Одним из сильнейших иммуносупрессоров опухолевого микроокружения являются Трег-клетки. Их ингибирование проводили с помощью MkAT и ДК-вакцин [7]. Они накапливаются в крови, асцитической жидкости, метастазах

и первичных опухолях. Клинические исследования даклизумаба, сорафениба, сунитиниба и иматиниба показали снижение количества Трег, что коррелировало с выживаемостью пациентов [7, 8]. Ряд исследователей изучали результаты сочетания Трег с инфильтративными супрессорными клетками, полученными из миелоидов (MDSC), при подавлении противоопухолевого иммунного ответа у пациентов с почечно-клеточным раком и саркомой мягких тканей [8]. В доклиническом исследовании была показана чувствительность MDSC к агонисту TRAIL-рецептора 2 (TRAIL-R2). Результаты I фазы клинических испытаний показали, что использование TRAIL-R2 (DS-8273a) для лечения распространенных форм УР, меланомы, гепатоцеллюлярной карциномы привело к эффективному уменьшению количества MDSC в 50% случаев, не влияло на количество нейтрофилов, моноцитов и других популяций миелоидных и лимфоидных клеток. Уменьшение MDSC обратно коррелировало с продолжительностью жизни пациентов без прогрессирования заболевания [7, 8].

Снижению количества Трег в периферической крови и смещению иммунного баланса к стимулирующей среде способствуют ингибиторы тирозинкиназ (сорафениб). Неоадьювантная терапия сорафенибом привела к значительному снижению процента опухолю-инфильтрирующих Трег в сравнении с пациентами, не получившими сорафениб: в среднем 17,3% против 28,1%, ( $p = 0,046$ ) [35]. В клинических исследованиях отмечено также снижение активности Трег на фоне приема даклизумаба, сорафениба, сунитиниба и иматиниба при лечении рака почки, лейкозов, гастроинтестинальных стромальных опухолей [36, 37].

Исследования, направленные на изучение микроокружения опухоли, показали важную роль молекул межклеточной адгезии. Нарушения межклеточной адгезии характерны для большинства злокачественных опухолей эпителиального



**Рис. 2.** Механизм распознавания неоантигена и блокада контрольных точек [42]. Анти-PD-1, анти-PDL-1 и анти-CTLA-4-антитела работают путем блокирования путей, что приводит к распознаванию неоантигена и активации Т-клеток. CD4<sup>+</sup> — Т-клетки, экспрессирующие антиген кластера дифференцировки 4 (CD4), специфичны антигенам MHC класса II; CD28 — Т-клетки, экспрессирующие антиген кластера дифференцировки 28; CTLA-4 — антиген 4, ассоциированный с цитотоксическими Т-лимфоцитами; IFN — интерферон; PD-L1 — лиганд-1 к рецептору запрограммированной клеточной гибели; PD-1 — рецептор запрограммированной клеточной гибели; pMHC — пептидный рецептор главного комплекса гистосовместимости, комплементарный к TCR; TCR — Т-клеточный рецептор

происхождения. Ключевым компонентом межклеточных адгезионных контактов в эпителиальных тканях является *E-кадгерин*. Утрата экспрессии *E-кадгерина* наблюдалась почти в 85% случаев дольковой рака молочной железы, а резкое угнетение его экспрессии отмечено также в карциномах пищевода и желудка, гепатокарциномах [38]. Сохранение экспрессии *E-кадгерина* характерно для медленно растущих и доброкачественных новообразований. Считается, что угнетение или утрата экспрессии *E-кадгерина* коррелирует с инвазивностью опухоли, формированием отдаленных метастазов и неблагоприятным клиническим прогнозом [39].

Открытие регуляторных молекул, ответственных за предотвращение избыточной активации Т-лимфоцитов и их запрограммированную гибель, положило начало инновационному методу таргетной иммунотерапии, названному *блокадой иммунных контрольных точек* (БИКТ), или *иммунных чек-поинтов*. В настоящее время использование иммунных чек-поинтов для таргетной терапии стало стандартом лечения многих злокачественных опухолей. Исследователи применяли неоадьювантные и адьювантные схемы терапии. Опухоли с одной и той же гистологической картиной демонстрировали широкий спектр гетерогенности в том, как они подавляли иммунную систему, причем опухоли изменяли экспрессию PD-1 или имели разные количества инфильтрирующих лимфоцитов в микроокружении опухоли [40, 41]. БИКТ используют для того, чтобы заблокировать системы контроля и восстановить противоопухолевый иммунный ответ (рис. 2). К таким препаратам относятся: анти-CTLA-4 (ипилимуаб), анти-PD-1 (пембролизумаб и ниволумаб) [43] и анти-PD-L1 (авелумаб, атезолизумаб), показавшие высокую эффективность в лечении многих злокачественных новообразований, в том числе метастатического УР. Успех терапии ингибиторами PD-1 и PD-L1 при различных формах рака подчеркивает универсальность действия иммунотерапии. В клинических испытаниях эти препараты показали хорошие результаты и на сегодняшний день стали стандартом лечения нескольких видов онкологических заболеваний.

В настоящее время установлено, что использование в лечении сочетанного воздействия стандартной химиотерапии (ХТ) и ипилимумаба приводило к увеличению активности CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup>-Т-лимфоцитов, выработки провоспалительных цитокинов (IL2, IL12) и GM-CSF [44]. Однако из-за токсичности ипилимумаба его применение в лечении УР может быть ограничено. Пембролизумаб одобрен для использования в I и II линии терапии метастатического УР, тогда как ниволумаб — только для II линии, после ХТ на основе платины [9].

В клинических исследованиях было выявлено, что пути PD-1 и CTLA-4 играют нерегулярную роль в ингибировании иммунных реакций [10, 45]. Показана эффективность комбинированной терапии ниволумабом и ипилимумабом у пациентов с метастатической меланомой, в сравнении с монотерапией, в связи с чем в 2016 г. использование комбинированной терапии этими препаратами было одобрено для неоперабельной или метастатической меланомы [43]. Прошли клинические испытания и разрешены к использованию дурвалумаб и авелумаб — ингибиторы анти-PD-L1 [46].

Иммунотерапия злокачественных новообразований *МкАТ-агонистами 4-1BB* выявила возможность элиминации опухоли *in vivo* [33]. В настоящее время проходят испытания препараты урелумаб (*МкАТ* изотипа IgG4) и

утомилумаб (*МкАТ* изотипа IgG2), являющиеся полностью *МкАТ-агонистами* против 4-1BB (α4-1BB) человека [33, 47]. С целью фокусирования иммунных реакций на опухолевые клетки разработан комплексный препарат PRS-343, состоящий из *МкАТ-агонистов 4-1BB* и *МкАТ к HER2* (трастузумаб) [33].

Одним из направлений является исследование индуцирования противоопухолевого иммунного ответа путем активации *генов сигнальных путей врожденного иммунитета через STING* (трансмембранный белок 173, помогающий регулировать активность иммунной системы за счет стимулирования продукции интерферонов I типа — IFN-I) и TLR. В доклинических испытаниях было показано, что TLR увеличивают секрецию цитокинов, индуцирующих иммунный ответ через клетки Лангерганса, макрофаги и лимфоциты, а также стимулируют пролиферацию Т-клеток через путь протеинкиназы. В то же время агонисты TLR ингибируют рост опухоли, противодействуя подавлению иммунной системы в микроокружении опухоли [48]. Клинические исследования показали, что агонист TLR Имиквимод в 72% случаев эффективен в лечении нескольких видов рака (глиомы, меланомы, рака молочной железы) [49]. Наряду с этим имеются данные о применении агонистов TLR в качестве адьювантов для противоопухолевых вакцин [18, 49–51].

В последнее время проводят активные исследования по изучению *рецептора химерного антигена (CAR)* Т-клеток, представляющего собой мембранный рецептор, способный связываться с определенным опухолевым антигеном, и содержащий внутриклеточный компонент, который активирует Т-клетку в присутствии антигена [52]. Было показано, что CAR-Т-клетки способны активировать костимуляторный сигнал (для CD28 или CD137), который активирует Т-клетки и приводит к устойчивому иммунному ответу [53].

Другая стратегия — *комбинированная иммунотерапия*, включающая использование *онколитических вирусов*, например аденовирусов, экспрессирующих CD40L и 4-1BBL. Она предназначена для развития противоопухолевого иммунитета при введении в микроокружение опухоли агентов, способных стимулировать Т-клеточные реакции самостоятельно или в сочетании с другими иммунологическими препаратами [54]. Создание активной комбинации препаратов, влияющих на клетки конкретной опухоли, представляет определенные проблемы.

Так, продолжаются исследования различных комбинаций с целью определения их оптимального взаимодействия (на примере модели рака предстательной железы и саркомы): *МкАТ-агонист OX40* в комбинации с атезолизумабом (αPD-L1); *МкАТ-агонист OX40* с бевацизумабом (рекомбинантные гуманизированные анти-VEGF-*МкАТ*), *МкАТ-агонист OX40* (PF-04518600) с *МкАТ-агонистами α4-1BB* (NCT02315066) [55]. Авелумаб (*МкАТ αPD-L1*) используют в нескольких вариантах: комбинация А (авелумаб и агонист 4-1BB, PF-05082566); комбинация В (авелумаб и *МкАТ-агонист OX40*, PF-04518600); комбинация С (авелумаб и *МкАТ к колониестимулирующему фактору 1*, PD 0360324); комбинация Д (авелумаб и *МкАТ-агонисты 4-1BB* и *МкАТ-агонисты OX40*, NCT02554812). Показано, что комбинированная иммунотерапия *МкАТ-агонистами OX40/CTLA-4* повышает выживаемость и способствует регрессии опухоли [56, 57].

Проводятся исследования I фазы у пациентов с меланомой III/IV стадии с использованием следующей комбинации: гуманизированные *МкАТ* изотипа IgG1, не

содержащие аминокислоты aglycosyl IgG1 (агонист G1TR, от англ. Glucocorticoid-induced tumor necrosis factor receptor — глюкокортикоид-индуцированный рецептор к фактору некроза опухоли), с ниволумабом или ипилимумабом, либо их комбинация [58].

Интересной представляется комбинация, включающая GR-MD-02, — препарат, который специфически ингибирует Галектин-3. Галектин-3 относят к маркерам опухолевой трансформации клеток, участвующим в регуляции всех процессов опухолевой прогрессии. Он активируется при раке многих локализаций, а уровень его экспрессии коррелирует с метастатическим потенциалом и плохим прогнозом заболевания. Кроме того, *Галектин-3* может играть определенную роль в подавлении иммунитета. Доклинические испытания показали, что добавление GR-MD-02 к МкАТ-агонисту ОХ40 или к ингибирующим контрольным точкам приводит к увеличению случаев выживаемости и регрессии опухоли по сравнению с применением одной только иммунотерапии [56]. Эти данные послужили основанием для проведения I фазы клинических испытаний у пациентов с распространенным раком — тестированию блокатора GR-MD-02 с ипилимумабом или пембролизумабом (NCT02117362, NCT02575404) [33].

По мнению исследователей, перспективной молекулой для терапевтического вмешательства может служить *индоламин-2,3-диоксигеназа 1* (IDO1). Она снижает пролиферацию Т-клеток и увеличивает неоваскуляризацию, противодействуя гамма-интерферону [59]. В связи с этим проводят испытания комбинаций ингибиторов IDO1 с другими иммуномодулирующими агентами, включая исследование фазы III в меланоме с ингибитором PD-1 пембролизумабом [60].

Поздние стадии онкологических заболеваний, как правило, ассоциируются с гиперэкспрессией EGFR опухолевыми клетками. Были проведены II и III фазы клинических испытаний по оценке эффективности препарата *цетуксимаб* (C225), представляющего собой рекомбинантное химерное МкАТ, обладающее высокой специфичностью к внеклеточному домену EGFR и способное конкурировать с естественными лигандами (EGF; TGF- $\alpha$ ) за связывание с рецептором. Препарат синтезирован на основе мышинового МкАТ M225, к которому для снижения иммуногенности присоединили фрагмент человеческого IgG1. Была оценена возможность использования этого препарата как в монорежиме, так и в комбинации с цисплатином. У двух из 52 пациентов с прогрессированием заболевания головы и шеи зарегистрированы частичные ремиссии [61].

Несмотря на успех таргетной терапии, не у всех пациентов достигается полный терапевтический эффект, что диктует необходимость разработки других, более эффективных методов лечения. Создание *противоопухолевых вакцин* и *использование онколитических вирусов* для усиления специфического иммунного ответа к опухоли путем увеличения процесса представления антигена Т-клеткам являются новым, инновационным научным направлением, способствующим повышению эффективности противоопухолевого лечения [33, 54].

Использование *цельноклеточных вакцин*, представляющих собой опухолевые клетки, лишенные способности делиться, в экспериментах на лабораторных животных вызывало хороший противоопухолевый иммунный ответ, однако клинические испытания не были столь успешными [13, 62, 63].

Активно изучают *пептидные вакцины* на основе синтетического пептида Сурвивина, комплекса

специфических опухолеассоциированных пептидов, а также NY-ESO-1 + GM-CSF с адьювантом в виде Б-НИТ. Использование персонализированной пептидной вакцины (PPV), состоящей из комбинации четырех пептидов, способствовало двукратному повышению выживаемости пациентов [54, 63].

В экспериментальных исследованиях на мышах предпринимают попытки объединить *вакцины на основе ДК с костимулятором агонистом анти-ОХ40* или с МкАТ *анти-4-1ВВ*. Первые результаты показали, что комбинированные вакцины давали лучший иммунный ответ по сравнению с ДК-вакцинами у трансгенных мышей Her-2/neu, вплоть до полного исчезновения опухоли [33, 64–67].

Кроме того, проводится II фаза клинических испытаний вакцины Lapuleucel-T на основе ДК с целью оценки выживаемости, безопасности и наличия иммунных реакций у пациентов с высоким риском рецидива болезни (с гиперсекрецией антигена HER-2 + антигена рака мочевого пузыря UBC (NCT01353222)) [68].

*Аутологичные ДК-вакцины* могут инициировать и усиливать опухолевые антиген-специфичные реакции путем активации как Th, так и ЦТЛ [67]. Это направление противоопухолевой иммунотерапии активно изучают не только за рубежом, но в нашей стране для лиц с исчерпанными возможностями лечения (метастатические формы рака) [4, 5, 69]. К настоящему времени завершены многочисленные исследования и/или проходят II фазу клинических испытаний вакцины на основе аутологичных ДК при различных формах рака.

Ввиду восприимчивости злокачественных новообразований к иммунотерапии в последнее время в литературе появляются исследования, посвященные разработке *противоопухолевых вакцин* [70], в частности, *на основе раковотестикулярного антигена* (NY-ESO-1), *синтетического пептида* (Сурвивина) или его сочетания с IFN $\alpha$ , *ДК с дополненной блокадой костимулирующей молекулы B7-H1(PD-L1)* [71]. Однако эти исследования носят единичный характер, находятся на стадии разработки и не имеют широкого клинического применения.

*Наномедицина* с помощью прогрессивных нанотехнологий предлагает уникальные подходы к лечению больных раком новыми препаратами для ХТ или иммунотерапии. Так, в ряде работ наночастицы (НЧ) использовали для повышения терапевтической эффективности и снижения побочных эффектов ХТ путем нацеливания химиотерапевтических агентов на специфическую ткань и увеличения их биодоступности [72, 73].

Предложена новая технология *Immunoswitch*, в которой МкАТ и МкАТ-агонисты связаны с НЧ [73]. Immunoswitch-НЧ покрыты двумя разными антителами, которые одновременно блокируют ингибирующий чек-поинт PD-L1 сигнал и стимулируют Т-клетки через 4-1ВВ костимуляторные пути. Они способны преодолевать иммуносупрессирующее микроокружение опухоли. Исследования *in vivo* показали существенное замедление опухолевого роста и увеличение выживаемости мышинной меланомы и рака толстой кишки по сравнению с результатами использования растворимых антител и НЧ, отдельно соединенных с ингибиторами и стимуляторами антител. Использование *immunoswitch-НЧ* привело к увеличению плотности, специфичности и функциональности опухоль-инфильтрирующих ЦТЛ [73].

Функционализация НЧ со специфическими МкАТ является многообещающей стратегией для создания комплекса НЧ с МкАТ, целенаправленной его доставки и поглощения опухолевыми клетками, что приведет

к повышению эффективности лечения и снижению побочных эффектов [73–76].

Однако, несмотря на наличие позитивных противоопухолевых эффектов, полученных при различных методологических подходах в лечении рака, молекулярные и клеточные механизмы противоопухолевой защиты, позволяющие обеспечить иммунную толерантность, до сих пор не до конца изучены. Одним из новых многообещающих кандидатов для расширения возможности иммунотерапии являются NK-клетки, хотя успех их применения на сегодняшний день ограничивается лечением гематологического рака. В эксперименте на трансгенных мышах было показано, что с использованием активирующего рецептора NKp44 NK-клетки связывают тромбоцитарный фактор роста DD (PDGF-DD), в результате чего рост опухоли прекращался [77].

Генную терапию, в частности CRISPR-технологии (редактирование генома), относят к новому виду лечения онкозаболеваний, многообещающие исследования в этом направлении активно развиваются.

## ВЫВОДЫ

Прецизионная (персонализированная) медицина в онкологии становится реальностью. Таргетная терапия, использование нанотехнологий, терапия блокаторами иммунных чек-пойнтов, поиск новых перспективных мишеней и путей

преодоления иммунологической толерантности, создание противоопухолевых вакцин, молекулярно-генетические исследования позволят не только диагностировать и лечить онкологические заболевания на ранних их стадиях, но и подобрать адекватную эффективную специфическую терапию при их различных клинических формах, а также улучшать качество жизни больного. На современном этапе в онкологии на первый план выходит прецизионная медицина, которая предусматривает мультидисциплинарный персонализированный пациент-ориентированный подход к диагностике, лечению и реабилитации онкологических больных. Наступила эра онкоиммунологии, но использование ее достижений возможно только в комплексной терапии, наряду с химио- и таргетной терапией. Наиболее эффективная терапия должна быть назначена на первых этапах лечения, в противном случае шансы пациента получить последующее лечение становятся минимальными. Составляющие эффективного противоопухолевого лечения — это его клиническая эффективность (общая выживаемость, выживаемость без прогрессирования и контроль над болезнью), безопасность (управляемый контроль токсичности), фармакоэкономическая эффективность, а также качество жизни больного. При каждой локализации опухоли имеется своя приоритетная стратегия противоопухолевой терапии, зависящая от ее биологических особенностей.

## Литература

1. Кудрявцева И. В., Славянская Т. А., Трунов А. Н., Трунова Л. А. Уровни аутоантител к ядерным ДНК, лактоферрина и некоторые иммунологические показатели у больных ревматоидным артритом. Бюллетень Сибирского отделения Российской академии медицинских наук. 1999; 19 (3–4): 66–8.
2. Смирнова Т. А., Пономарева Е. П., Ханферян Р. А., Колесников В. В. Опыт применения ронколейкина при терапии язвенной болезни желудка, ассоциированной с *Helicobacter Pylori*, в амбулаторных условиях. Терапевтический архив. 2009; 81 (2): 30–5.
3. Славянская Т. А., Сепиашвили Р. И., Вишняков М. Н., Чихладзе М. В. Иммунологический мониторинг больных хроническим бронхитом в динамике восстановительной иммунореабилитации. International Journal on Immunorehabilitation. 1999; (11): 70.
4. Славянская Т. А., Авдонкина Н. А., Сальникова С. В. Оптимизация условий получения жизнеспособной первичной культуры клеток уротелиальной карциномы. Аллергология и иммунология. 2016; 17 (3): 176–9.
5. Burger M, Thiounn N, Denzinger S, Kondas J, Benoit G, Chapado MS, et al. The application of adjuvant autologous intravesical macrophage cell therapy vs. BCG in non-muscle invasive bladder cancer: a multicenter, randomized trial. J Transl Med. 2010; (8): 54.
6. Camisaschi C, Vallacchi V, Vergani E, et al. Targeting immune regulatory networks to counteract immune suppression in cancer. Vaccines (Basel). 2016; 4 (4): pii: E38.
7. Dominguez G, Condamine TC, Mony S, et al. Selective targeting of myeloid-derived suppressor cells in cancer patients using DS-8273a, an agonistic TRAIL-R2 antibody. Clin Cancer Res. 2016; 23 (12): 2942–50.
8. Sharma P, Retz M, Seifker-Radtke A, et al. Nivolumab in metastatic urothelial carcinoma after platinum therapy (Check-Mate 275): a multicentre, single-arm, phase 2 trial. Lancet Oncol. 2017; 18 (3): 312–22.
9. Larkin J, Chiarion-Sileni V, Gonzalez R, Grob JJ, Cowey CL, Lao CD, et al. Combined nivolumab and ipilimumab or monotherapy in untreated melanoma. N Engl J Med. 2015; (373): 23–34.
10. Сепиашвили Р. И., Беляев А. М. Иммуноterapia рака: проблемы и перспективы. Аллергология и иммунология. 2015; 16 (4): 354–7.
11. Сальникова С. В., Славянская Т. А. и др. Инновационные технологии в лечении рака мочевого пузыря. Аллергология и иммунология. 2016; 17 (1): 21–6.
12. Сальникова С. В., Славянская Т. А. и др. Современные подходы и достижения в лечении рака мочевого пузыря. Аллергология и иммунология. 2016; 17 (1): 50–1.
13. Балдуева И. А., Новик А. В., Карицкий А. П., Кулева С. А., Нехаева Т. Л., Данилова А. Б. и др. Иммуноterapia рака: современное состояние проблемы. Аллергология и иммунология. 2015; 16 (4): 354.
14. Славянская Т. А., Сальникова С. В. Иммунологические критерии и маркеры для диагностики и прогнозирования рака мочевого пузыря. International Journal on Immunorehabilitation. 2009; 11 (1): 24.
15. Slayanskaya TA, Salnikova SV. Immunologic criteria and markers for diagnostics and prognosis of urinary bladder cancer. Int J Immunoreh. 2009; 11 (2): 180.
16. Uhlen M, Zhang C, Lee S, Sjöstedt E, Fagerberg L, Bidkhorji G, et al. A pathology atlas of the human cancer transcriptome. Science. 2017; 357 (6352). DOI: 10.1126/science.aan2507.
17. Свитич О. А., Филина А. Б., Ганковская Л. В., Зверев В. В. Роль факторов врожденного иммунитета в процессе опухолеобразования. Медицинская иммунология. 2018; 20 (2): 151–62.
18. Хаитов Р. М., Кадагидзе З. Г. Иммуитет и рак. М.: Геотар-Медиа, 2018. 256 с.
19. Crowe NY, Coquet JM, Berzins SP, et al. Differential Antitumor Immunity Mediated by NKT Cells Subsets in Vivo. J Exp Med. 2005; (202): 1279–88.
20. Brandes M, Willmann K, Moser B. Professional Antigen-presentation Function by Human Gammadelta T Cells. Science. 2005; (309): 264–8.
21. Mellman I, Coukos G, Dranoff G. Cancer immunotherapy comes of age. Nature. 2011; 480 (7378): 480–9.

22. Shevach EM. CD4<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup> suppressor T-cells: More Questions than Answers. *Nat Rev Immunol.* 2002; (2): 389–400.
23. Lima L, Oliveira D, Tavares A, Amaro T, Cruz R, Oliveira MJ, et al. The predominance of M2-polarized macrophages in the stroma of low-hypoxic bladder tumors is associated with BCG immunotherapy failure. *Urol Oncol.* 2014; (32): 449–57.
24. LaRue H, Ayari C, Bergeron A, Fradet Y. Toll-like receptors in urothelial cells-targets for cancer immunotherapy. *Nat Rev Urol.* 2013; 10 (9): 537–45.
25. Diesendruck Y, Benhar I. Novel immune check point inhibiting antibodies in cancer therapy-opportunities and challenges. *Drug Resist Updat.* 2017; (30): 39–47.
26. Kavecansky J, Pavlick AC. Beyond Checkpoint Inhibitors: pii: E189The Next Generation of Immunotherapy in Oncology. *AJHO.* 2017; 13 (2): 9–20.
27. Ata R, Antonescu CN. Integrins and cell metabolism: an intimate relationship impacting cancer. *Int J Mol Sci.* 2017; 18 (1). DOI: 10.3390/ijms18010189.
28. Hadley GA, Higgins JM. Integrin  $\alpha\beta7$ : molecular features and functional significance in the immune system. *Adv Exp Med Biol.* 2014; (819): 97–110.
29. Takimoto C. Forty Seven, Inc. Trial of Hu5F9-G4 in combination with cetuximab in patients with solid tumors and advanced colorectal cancer (NCT02953782). Accessed February 8, 2017; Clinicaltrials.gov website. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02953782?term=NCT02953782&rank=1>.
30. Desgrosellier JS, Cheresh DA. Integrins in cancer: biological implications and therapeutic opportunities. *Nat Rev Cancer.* 2010; 10 (1): 9–22.
31. Hersey P, Sosman J, O'Day S, et al. Etaracizumab Melanoma Study Group. A randomized phase 2 study of etaracizumab, a monoclonal antibody against integrin  $\alpha(v)\beta(3)$ , + or - dacarbazine in patients with stage IV metastatic melanoma. *Cancer.* 2010; 116 (6): 1526–34.
32. Sturgill ER, Redmond WL. TNFR Agonists: A Review of Current Biologics Targeting OX40, 4-1BB, CD27, and GITR. *AJHO.* 2017; 13 (11): 4–15.
33. Stanley ER, Chitu V. CSF-1 receptor signaling in myeloid cells. *Cold Spring Harb Perspect. Biol.* 2014; (6): 1–21.
34. Desar IM, Jacobs JH, Hulsbergen-vandeKaa CA, et al. Sorafenib reduces the percentage of tumour infiltrating regulatory T cells in renal cell carcinoma patients. *Int J Cancer.* 2011; 129 (2): 507–12. DOI: 10.1002/ijc.25674.
35. Adotevi O, Pere H, Ravel P, et al. A decrease of regulatory T cells correlates with overall survival after sunitinib-based antiangiogenic therapy in metastatic renal cancer patients. *J Immunother.* 2010; 33 (9): 991–8. DOI: 10.1097/CJI.0b013e3181f4c208.
36. Albeituni SH, Ding C, Yan J. Hampering immune suppressors: therapeutic targeting of myeloid-derived suppressor cells in cancer. *Cancer J.* 2013; 19 (6): 490–501. DOI: 10.1097/PPO.000000000000006.
37. Ling ZQ, Li P, Ge MH, et al. Hypermethylation-modulated downregulation of CDH1 expression contributes to the progression of esophageal cancer. *Int J Mol Med.* 2011; (27): 625–35.
38. Глушанкова Н. А., Житняк И. Ю., Айолло Д. В., Рубцова С. Н. Роль Е-кадхерина в неопластической эволюции эпителиальных клеток. *Успехи молекулярной онкологии.* 2014; (1): 12–17.
39. Scognamiglio G, De Chiara A, Di Bonito M, et al. Variability in immunohistochemical detection of programmed death ligand 1 (PD-L1) in cancer tissue types. *Int J Mol Sci.* 2014; 17 (5): pii E790.
40. Abaza YM, Alemany C. Nanoparticle albumin-bound-paclitaxel in the treatment of metastatic urethral adenocarcinoma: the significance of molecular profiling and targeted therapy. *Case Rep Urol.* 2014; (2014): 1–3. DOI: 10.1155/2014/489686.
41. Gong J, Chehrizi-Raffle A. Development of PD-1 and PD-L1 inhibitors as a form of cancer immunotherapy: a comprehensive review of registration trials and future considerations. *Journal for Immunotherapy of Cancer.* 2018; (6): 8.
42. Velez MA, Wu Y, Dubinett SM, Dong Z, Wu S, Garon EB. Lung cancer. In: Butterfield LH, Kaufman HL, Marincola FM, editors. *Cancer immunotherapy principles and practice.* New York: Demosmedical, 2017; p. 728
43. Bellmunt J, de Wit R, Vaughn DJ, et al. KEYNOTE-045 Investigators. Pembrolizumab as second-line therapy for advanced urothelial carcinoma. *N Engl J Med.* 2017; 376 (11): 1015–26.
44. Postow MA, Chesney J, Pavlick AC, Robert C, Grossmann K, McDermott D, et al. Nivolumab and ipilimumab versus ipilimumab in untreated melanoma. *N Engl J Med.* 2015; (372): 2006–17.
45. Massard C, Gordon MS, Sharma S, et al. Safety and efficacy of durvalumab (MEDI4736), an anti-programmed cell death ligand-1 immune checkpoint inhibitor, in patients with advanced urothelial bladder cancer. *J Clin Oncol.* 2016; 34 (26): 3119–25.
46. Segal NH, Logan TF, Hodi FS, et al. Results from an integrated safety analysis of urelumab, an agonist anti-CD137 monoclonal antibody. *Clin Cancer Res.* 2017; 23 (8): 1929–36.
47. Goding SR, Wilson KA, Xie Y, et al. Restoring immune function of tumor-specific CD4<sup>+</sup> T cells during recurrence of melanoma. *J Immunol.* 2013; 190 (9): 4899–909. DOI: 10.4049/jimmunol.1300271.
48. Ohkuri T, Ghosh A, Kosaka A, et al. STING contributes to antiglioma immunity via triggering type I IFN signals in the tumor microenvironment. *Cancer Immunol Res.* 2014; 2 (12): 1199–208. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-14-0099.
49. Lu H, Wagner WM, Gad E, et al. Treatment failure of a TLR-7 agonist occurs due to self-regulation of acute inflammation and can be overcome by IL10 blockade. *J Immunol.* 2010; 184 (9): 5360–67. DOI: 10.4049/jimmunol.0902997.
50. Salmon H, Idoyaga J, Rahman A, et al. Expansion and activation of CD103(+) dendritic cell progenitors at the tumor site enhances tumor responses to therapeutic PD-L1 and BRAF inhibition. *Immunity.* 2016; 44 (4): 924–38. DOI: 10.1016/j.immuni.2016.03.012.
51. De Witte MA, Kierkels GJ, Straetemans T, Britten CM, Kuball J. Orchestrating an immune response against cancer with engineered immune cells expressing  $\alpha$ BTcRs, CARs, and innate immune receptors: an immunological and regulatory challenge. *Cancer Immunol Immunother.* 2015; 64 (7): 893–902. DOI: 10.1007/s00262-015-1710-8.
52. Holzinger A, Barden M, Abken H. The growing world of CAR T cell trials: a systematic review. *Cancer Immunol Immunother.* 2016; 65 (12): 1433–50.
53. Eriksso E, Milenova I, Wenthe J, et al. Shaping the tumor stroma and sparking immune activation by CD40 and 4-1BB signaling induced by an armed oncolytic virus. *Clin Cancer Res.* 2017; 23 (19): 5846–57.
54. El-Khoueiry AB, Hamid O, Thompson JA, et al. The relationship of pharmacodynamics (PD) and pharmacokinetics (PK) to clinical outcomes in a phase I study of OX40 agonistic monoclonal antibody (mAb) PF-04518600 (PF-8600). *J Clin Oncol.* 2016; 35 (suppl; abst 3027).
55. Linch S, Kasiewicz MJ, McNamara M, Hilgart I, Farhad M, Redmond W. Galectin-3 inhibition using novel inhibitor GR-MD-02 improves survival and immune function while reducing tumor vasculature. *J Immunother Cancer.* 2015; 3 (suppl 2): 306.
56. Redmond WL, Linch SN, Kasiewicz MJ. Combined targeting of co-stimulatory (OX40) and co-inhibitory (CTLA-4) pathways elicits potent effector T cells capable of driving robust anti-tumor immunity. *Cancer Immunol Res.* 2014; 2 (2): 142–53. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-13-0031-T.
57. McHugh RS, Whitters MJ, Piccirillo CA, et al. CD4<sup>(+)</sup>CD25<sup>(+)</sup> immunoregulatory T cells: gene expression analysis reveals a functional role for the glucocorticoid-induced TNF receptor. *Immunity.* 2002; 16 (2): 311–23.
58. Tesaro A. Phase I study of TSR-022, an anti-TIM-3 mono-clonal antibody, in patients with advanced solid tumors (NCT02817633). Accessed 2017 February 7; Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02817633?term=NCT02817633&rank=1>.
59. Novartis. Safety and efficacy of MBG453 as single agent and in combination with PDR001 in patients with advanced malignancies (NCT02608268). Accessed 2017 February 7; Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02678338?term=NCT02678338&rank=1>.
60. Cancer Immunotherapy Guidelines. Accessed 2017 March 8. Available from: <http://www.sitcancer.org/research/cancer-immunotherapy-guidelines>.
61. Славянская Т. А., Сальникова С. В. и др. Противоопухолевые вакцины: потенциальные мишени, современные разработки и

- перспективы использования. Российский иммунологический журнал. 2016; 10 (19), (2-1): 498–500.
62. Melero I, Gaudernack G, Gerritsen W, Huber C, Parmiani G, Scholl S, et al. Therapeutic vaccines for cancer: an overview of clinical trials. *Nat Rev Clin Oncol*. 2014; (11): 509–24.
  63. Palucka K, Banchereau J. Cancer immunotherapy via dendritic cells. *Nat Rev Cancer*. 2012; (12): 265–77.
  64. Славянская Т. А., Сальникова С. В. и др. Целенаправленная терапия больных с уротелиальной карциномой. *Аллергология и иммунология*. 2016; 17 (2): 153.
  65. Beatty GL, O'Dwyer PJ, Clark J, et al. First-in-human phase I study of the oral inhibitor of indoleamine 2,3-dioxygenase-1 epacadostat (INC024360) in patients with advanced solid malignancies [ePub ahead of print]. *Clin Cancer Res*. 2017; pii: clincanres.2272.2016. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-16-2272.
  66. Peethambaram PP, Melisko ME, Rinn KJ, Alberts SR, Provost NM, Jones LA, et al. A phase I trial of immunotherapy with lapuleucel-T (APC8024) in patients with refractory metastatic tumors that express HER-2/neu. *Clin Cancer Res*. 2009; (15): 5937–44.
  67. Lowenfeld L, Mick R, Datta J, et al. Dendritic cell vaccination enhances immune responses and induces regression of HER2pos DCIS independent of route: results of randomized selection design trial [ePub ahead of print]. *Clin Cancer Res*. 2016; pii: clincanres:1924; 2016.
  68. Lesterhuis WJ, Schreiber G, Scharenborg NM, et al. Wild-type and modified gp100 peptide-pulsed dendritic cell vaccination of advanced melanoma patients can lead to long-term clinical responses independent of the peptide used. *Cancer Immunol Immunother*. 2011; 60 (2): 249–60.
  69. Чкадуа Г. З., Заботина Т. Н., Буркова А. А., Тамаева З. Э., Огородникова Е. В., Жордания К. И. Адаптирование методики культивирования дендритных клеток человека из моноцитов периферической крови для клинического применения. Российский биотерапевтический журнал. 2002; (3): 56–62.
  70. Sasada T, Suekane S. Variation of tumor-infiltrating lymphocytes in human cancers: controversy on clinical significance. *Immunotherapy*. 2011; 3 (10): 1235–51.
  71. Eloy JO, Petrilli R, Trevizan LNF, Chorilli M. Immunoliposomes: a review on functionalization strategies and targets for drug delivery. *Colloids Surf B: Biointerfaces*. 2017; (159): 454–67.
  72. Bilensoy E, Sarisozen C, Esendagli G, Dogan AL, Aktaş Y, Sen M, et al. Intravesical cationic nanoparticles of chitosan and polycaprolactone for the delivery of Mitomycin C to bladder tumors. *Int J Pharm*. 2009; (371): 170–6.
  73. Kosmides AK, Sidhom JW, Fraser A, Bessell CA, Schneck JP. Dual targeting nanoparticle stimulates the immune system to inhibit tumor growth. *ACS Nano*. 2017; 11 (6): 5417–29.
  74. Zhang Q, Neoh KG, Xu L, Lu S, Kang ET, Mahendran R, et al. Functionalized mesoporous silica nanoparticles with mucoadhesive and sustained drug release properties for potential bladder cancer therapy. *Langmuir*. 2014; (30): 6151–61.
  75. Sudha T, Bharali DJ, Yalcin M, Darwish NH, Coskun MD, Keating KA, et al. Targeted delivery of cisplatin to tumor xenografts via the nanoparticle component of nano-diamino-tetrac. *Nanomedicine*. 2017; 12 (3): 195–205.
  76. McKiernan JM, Barlow LJ, Laudano MA, Mann MJ, Petrylak DP, Benson MC. A phase I trial of intravesical nanoparticle albumin-bound paclitaxel in the treatment of bacillus Calmette-Guérin refractory nonmuscle invasive bladder cancer. *J Urol*. 2011; (186): 448–51.
  77. Barrow AD, Edeling MA, Trifonov V, Luo J, Goyal P, Bohl B, et al. Natural killer cells control tumor growth by sensing a growth factor. *Cell*. 2018; 172 (3): 534–48.

## References

1. Kudryavceva IV, Slavyanskaya TA, Trunov AN, Trunova LA. Urovni autoantitel k jadernym DNK, laktoferrina i nekotorye immunologicheskie pokazateli u bol'nyh revmatoidnym artritom. *Bjulleten' Sibirskogo otdelenija Rossijskoj akademii medicinskikh nauk*. 1999; 19 (3–4): 66–8.
2. Smipnova TA, Ponomapeva EP, Hanfepjan PA, Kolesnikov VV. Opyt primeneniya ronkolejkina pri terapii jazvennoj bolezni zheludka, associirovannoj s *Helicobacter Pylori*, v ambulatornyh uslovijah. *Terapevticheskij arhiv*. 2009; 81 (2): 30–5.
3. Slavyanskaya TA, Sepiashvili RI, Vishnyakov MN, Chihladze MV. Immunologicheskij monitoring bol'nyh hronicheskim bronhitom v dinamike vosstanovitel'noj immunoreabilitacii. *International Journal on Immunorehabilitation*. 1999; (11): 70.
4. Slavyanskaya TA, Avdonkina NA, Salnikova SV. Optimizacija uslovij poluchenija zhiznesposobnoj pervichnoj kul'tury kletok urotelial'noj karcinomy. *Allergologija i immunologija*. 2016; 17 (3): 176–9.
5. Burger M, Thiounn N, Denzinger S, Kondas J, Benoit G, Chapado MS, et al. The application of adjuvant autologous antravesical macrophage cell therapy vs. BCG in non-muscle invasive bladder cancer: a multicenter, randomized trial. *J Transl Med*. 2010; (8): 54.
6. Camisaschi C, Vallacchi V, Vergani E, et al. Targeting immune regulatory networks to counteract immune suppression in cancer. *Vaccines (Basel)*. 2016; 4 (4): pii: E38.
7. Dominguez G, Condamine TC, Mony S, et al. Selective targeting of myeloid-derived suppressor cells in cancer patients using DS-8273a, an agonistic TRAIL-R2 antibody. *Clin Cancer Res*. 2016; 23 (12): 2942–50.
8. Sharma P, Retz M, Seifker-Radtke A, et al. Nivolumab in metastatic urothelial carcinoma after platinum therapy (Check-Mate 275): a multicentre, single-arm, phase 2 trial. *Lancet Oncol*. 2017; 18 (3): 312–22.
9. Larkin J, Chiarion-Sileni V, Gonzalez R, Grob JJ, Cowey CL, Lao CD, et al. Combined nivolumab and ipilimumab or monotherapy in untreated melanoma. *N Engl J Med* 2015; (373): 23–34.
10. Sepiashvili RI, Beljaev AM. Immunoterapija raka: problemy i perspektivy. *Allergologija i immunologija*. 2015; 16 (4): 354–7.
11. Salnikova SV, Slavyanskaya TA, i dr. Innovacionnye tehnologii v lechenii raka mochevogo puzyrya. *Allergologija i immunologija*. 2016; 17 (1): 21–6.
12. Salnikova SV, Slavyanskaya TA, i dr. Sovremennye podhody i dostizhenija v lechenii raka mochevogo puzyrya. *Allergologija i immunologija*. 2016; 17 (1): 50–1.
13. Baldueva IA, Novik AV, Karickij AP, Kuleva SA, Nehaeva TL, Danilova AB, i dr. Immunoterapija raka: sovremennoe sostojanie problemy. *Allergologija i immunologija*. 2015; 16 (4): 354.
14. Slavyanskaya TA, Salnikova SV. Immunologicheskie kriterii i markery dlja diagnostiki i prognozirovanija raka mochevogo puzyrya. *International Journal on Immunorehabilitation*. 2009; 11 (1): 24.
15. Slavyanskaya TA, Salnikova SV. Immunologic criteria and markers for diagnostics and prognosis of urinary bladder cancer. *Int J Immunoreh*. 2009; 11 (2): 180.
16. Uhlen M, Zhang C, Lee S, Sjöstedt E, Fagerberg L, Bidkhorji G, et al. A pathology atlas of the human cancer transcriptome. *Science*. 2017; 357 (6352). DOI: 10.1126/science.aan2507.
17. Svitich OA, Filina AB, Gankovskaja LV, Zverev VV. Rol' faktorov vrozhdennogo immuniteta v processe opuholeobrazovanija. *Medicinskaja immunologija*. 2018; 20 (2): 151–62.
18. Haitov RM, Kadagidze ZG. Immunitet i rak. M.: Geotar-Media, 2018. 256 c.
19. Crowe NY, Coquet JM, Berzins SP, et al. Differential Antitumor Immunity Mediated by NKT Cells Subsets in Vivo. *J Exp Med*. 2005; (202): 1279–88.
20. Brandes M, Willmann K, Moser B. Professional Antigen-presentation Function by Human Gammadelta T Cells. *Science*. 2005; (309): 264–8.
21. Mellman I, Coukos G, Dranoff G. Cancer immunotherapy comes of age. *Nature*. 2011; 480 (7378): 480–9.
22. Shevach EM. CD4<sup>+</sup>, CD25<sup>+</sup> suppressor T-cells: More Questions than Answers. *Nat Rev Immunol*. 2002; (2): 389–400.
23. Lima L, Oliveira D, Tavares A, Amaro T, Cruz R, Oliveira MJ, et al. The

- predominance of M2-polarized macrophages in the stroma of low-hypoxic bladder tumors is associated with BCG immunotherapy failure. *Urol Oncol.* 2014; (32): 449–57.
24. LaRue H, Ayari C, Bergeron A, Fradet Y. Toll-like receptors in urothelial cells—targets for cancer immunotherapy. *Nat Rev Urol.* 2013; 10 (9): 537–45.
  25. Diesendruck Y, Benhar I. Novel immune check point inhibiting antibodies in cancer therapy—opportunities and challenges. *Drug Resist Updat.* 2017; (30): 39–47.
  26. Kavecansky J, Pavlick AC. Beyond Checkpoint Inhibitors: pii: E189The Next Generation of Immunotherapy in Oncology. *AJHO.* 2017; 13 (2): 9–20.
  27. Ata R, Antonescu CN. Integrins and cell metabolism: an intimate relationship impacting cancer. *Int J Mol Sci.* 2017; 18 (1). DOI: 10.3390/ijms18010189.
  28. Hadley GA, Higgins JM. Integrin  $\alpha\text{E}\beta\text{7}$ : molecular features and functional significance in the immune system. *Adv Exp Med Biol.* 2014; (819): 97–110.
  29. Takimoto C. Forty Seven, Inc. Trial of Hu5F9-G4 in combination with cetuximab in patients with solid tumors and advanced colorectal cancer (NCT02953782). Accessed February 8, 2017; Clinicaltrials.gov website. Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02953782?term=NCT02953782&rank=1>.
  30. Desgrosellier JS, Cheresh DA. Integrins in cancer: biological implications and therapeutic opportunities. *Nat Rev Cancer.* 2010; 10 (1): 9–22.
  31. Hersey P, Sosman J, O'Day S, et al. Etaracizumab Melanoma Study Group. A randomized phase 2 study of etaracizumab, a monoclonal antibody against integrin  $\alpha\text{v}\beta\text{3}$ , + or – dacarbazine in patients with stage IV metastatic melanoma. *Cancer.* 2010; 116 (6): 1526–34.
  32. Sturgill ER, Redmond WL. TNFR Agonists: A Review of Current Biologics Targeting OX40, 4-1BB, CD27, and GITR. *AJHO.* 2017; 13 (11): 4–15.
  33. Stanley ER, Chitu V. CSF-1 receptor signaling in myeloid cells. *Cold Spring Harb Perspect Biol.* 2014; (6): 1–21.
  34. Desar IM, Jacobs JH, Hulsbergen-vandeKaa CA, et al. Sorafenib reduces the percentage of tumour infiltrating regulatory T cells in renal cell carcinoma patients. *Int J Cancer.* 2011; 129 (2): 507–12. DOI: 10.1002/ijc.25674.
  35. Adotevi O, Pere H, Ravel P, et al. A decrease of regulatory T cells correlates with overall survival after sunitinib-based antiangiogenic therapy in metastatic renal cancer patients. *J Immunother.* 2010; 33 (9): 991–8. DOI: 10.1097/CJI.0b013e3181f4c208.
  36. Albeituni SH, Ding C, Yan J. Hampering immune suppressors: therapeutic targeting of myeloid-derived suppressor cells in cancer. *Cancer J.* 2013; 19 (6): 490–501. DOI: 10.1097/PPO.000000000000006.
  37. Ling ZQ, Li P, Ge MH, et al. Hypermethylation-modulated downregulation of CDH1 expression contributes to the progression of esophageal cancer. *Int J Mol Med.* 2011; (27): 625–35.
  38. Glushankova NA, Zhitnjak IYu, Ajollo DV, Rubcova SN. Rol' E-kadherina v neoplasticheskoj jevoljucii jepitelial'nyh kletok. *Uspehi molekularnoj onkologii.* 2014; (1): 12–17.
  39. Scognamiglio G, De Chiara A, Di Bonito M, et al. Variability in immunohistochemical detection of programmed death ligand 1 (PD-L1) in cancer tissue types. *Int J Mol Sci.* 2014; 17 (5): pii E790.
  40. Abaza YM, Alemany C. Nanoparticle albumin-bound-paclitaxel in the treatment of metastatic urethral adenocarcinoma: the significance of molecular profiling and targeted therapy. *Case Rep Urol.* 2014; (2014): 1–3. DOI: 10.1155/2014/489686.
  41. Gong J, Chehrizi-Raffle A. Development of PD-1 and PD-L1 inhibitors as a form of cancer immunotherapy: a comprehensive review of registration trials and future considerations. *Journal for Immunotherapy of Cancer.* 2018; (6): 8.
  42. Velez MA, Wu Y, Dubinett SM, Dong Z, Wu S, Garon EB. Lung cancer. In: Butterfield LH, Kaufman HL, Marincola FM, editors. *Cancer immunotherapy principles and practice.* New York: Demosmedical, 2017; p. 728.
  43. Bellmunt J, de Wit R, Vaughn DJ, et al. KEYNOTE-045 Investigators. Pembrolizumab as second-line therapy for advanced urothelial carcinoma. *N Engl J Med.* 2017; 376 (11): 1015–26.
  44. Postow MA, Chesney J, Pavlick AC, Robert C, Grossmann K, McDermott D, et al. Nivolumab and ipilimumab versus ipilimumab in untreated melanoma. *N Engl J Med.* 2015; (372): 2006–17.
  45. Massard C, Gordon MS, Sharma S, et al. Safety and efficacy of durvalumab (MEDI4736), an anti-programmed cell death ligand-1 immune checkpoint inhibitor, in patients with advanced urothelial bladder cancer. *J Clin Oncol.* 2016; 34 (26): 3119–25.
  46. Segal NH, Logan TF, Hodi FS, et al. Results from an integrated safety analysis of urelumab, an agonist anti-CD137 monoclonal antibody. *Clin Cancer Res.* 2017; 23 (8): 1929–36.
  47. Goding SR, Wilson KA, Xie Y, et al. Restoring immune function of tumor-specific CD4<sup>+</sup> T cells during recurrence of melanoma. *J Immunol.* 2013; 190 (9): 4899–909. DOI: 10.4049/jimmunol.1300271.
  48. Ohkuri T, Ghosh A, Kosaka A, et al. STING contributes to antglioma immunity via triggering type I IFN signals in the tumor microenvironment. *Cancer Immunol Res.* 2014; 2 (12): 1199–208. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-14-0099.
  49. Lu H, Wagner WM, Gad E, et al. Treatment failure of a TLR- 7 agonist occurs due to self-regulation of acute inflammation and can be overcome by IL10 blockade. *J Immunol.* 2010; 184 (9): 5360–67. DOI: 10.4049/jimmunol.0902997.
  50. Salmon H, Idoyaga J, Rahman A, et al. Expansion and activation of CD103(+) dendritic cell progenitors at the tumor site enhances tumor responses to therapeutic PD-L1 and BRAF inhibition. *Immunity.* 2016; 44 (4): 924–38. DOI: 10.1016/j.immuni.2016.03.012.
  51. De Witte MA, Kierkels GJ, Straetemans T, Britten CM, Kuball J. Orchestrating an immune response against cancer with engineered immune cells expressing  $\alpha\text{TCRs}$ , CARs, and innate immune receptors: an immunological and regulatory challenge. *Cancer Immunol Immunother.* 2015; 64 (7): 893–902. DOI: 10.1007/s00262-015-1710-8.
  52. Holzinger A, Barden M, Abken H. The growing world of CAR T cell trials: a systematic review. *Cancer Immunol Immunother.* 2016; 65 (12): 1433–50.
  53. Eriksson E, Milenova I, Wenthe J, et al. Shaping the tumor stroma and sparking immune activation by CD40 and 4-1BB signaling induced by an armed oncolytic virus. *Clin Cancer Res.* 2017; 23 (19): 5846–57.
  54. El-Khoueiry AB, Hamid O, Thompson JA, et al. The relationship of pharmacodynamics (PD) and pharmacokinetics (PK) to clinical outcomes in a phase I study of OX40 agonistic monoclonal antibody (mAb) PF-04518600 (PF-8600). *J Clin Oncol.* 2016; 35 (suppl; abst 3027).
  55. Linch S, Kasiewicz MJ, McNamara M, Hilgart I, Farhad M, Redmond W. Galectin-3 inhibition using novel inhibitor GR-MD-02 improves survival and immune function while reducing tumor vasculature. *J Immunother Cancer.* 2015; 3 (suppl 2): 306.
  56. Redmond WL, Linch SN, Kasiewicz MJ. Combined targeting of co-stimulatory (OX40) and co-inhibitory (CTLA-4) pathways elicits potent effector T cells capable of driving robust anti-tumor immunity. *Cancer Immunol Res.* 2014; 2 (2): 142–53. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-13-0031-T.
  57. McHugh RS, Whitters MJ, Piccirillo CA, et al. CD4(+)CD25(+) immunoregulatory T cells: gene expression analysis reveals a functional role for the glucocorticoid-induced TNF receptor. *Immunity.* 2002; 16 (2): 311–23.
  58. Tesaro A. Phase I study of TSR-022, an anti-TIM-3 monoclonal antibody, in patients with advanced solid tumors (NCT02817633). Accessed 2017 February 7; Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02817633?term=NCT02817633&rank=1>.
  59. Novartis. Safety and efficacy of MBG453 as single agent and in combination with PDR001 in patients with advanced malignancies (NCT02608268). Accessed 2017 February 7; Available from: <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02678338?term=NCT02678338&rank=1>.
  60. Cancer Immunotherapy Guidelines. Accessed 2017 March 8. Available from: <http://www.sitcancer.org/research/cancer-immunotherapy-guidelines>.
  61. Slavyanskaya TA, Sahnikova SV, i dr. Protivoopuholevye vakciny: potencial'nye misheni, sovremennye razrabotki i perspektivy ispol'zovanija. *Rossijskij immunologicheskij zhurnal.* 2016; 10 (19), (2–1): 498–500.
  62. Melero I, Gaudernack G, Gerritsen W, Huber C, Parmiani G,

- Scholl S, et al. Therapeutic vaccines for cancer: an overview of clinical trials. *Nat Rev Clin Oncol*. 2014; (11): 509–24.
63. Palucka K, Banchereau J. Cancer immunotherapy via dendritic cells. *Nat Rev Cancer*. 2012; (12): 265–77.
  64. Slavyanskaya TA, Salnikova SV, i dr. Celenapravlenaja terapija bol'nyh s urotelial'noj karcinomoj. *Allergologija i immunologija*. 2016; 17 (2): 153.
  65. Beatty GL, O'Dwyer PJ, Clark J, et al. First-in-human phase I study of the oral inhibitor of indoleamine 2,3-dioxygenase-1 epacadostat (INC024360) in patients with advanced solid malignancies [ePub ahead of print]. *Clin Cancer Res*. 2017; pii: clincanres.2272.2016. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-16-2272.
  66. Peethambaram PP, Melisko ME, Rinn KJ, Alberts SR, Provost NM, Jones LA, et al. A phase I trial of immunotherapy with lapuleucel-T (APC8024) in patients with refractory metastatic tumors that express HER-2/neu. *Clin Cancer Res*. 2009; (15): 5937–44.
  67. Lowenfeld L, Mick R, Datta J, et al. Dendritic cell vaccination enhances immune responses and induces regression of HER2pos DCIS independent of route: results of randomized selection design trial [ePub ahead of print]. *Clin Cancer Res*. 2016; pii: clincanres:1924; 2016.
  68. Lesterhuis WJ, Schreiber G, Scharenborg NM, et al. Wild-type and modified gp100 peptide-pulsed dendritic cell vaccination of advanced melanoma patients can lead to long-term clinical responses independent of the peptide used. *Cancer Immunol Immunother*. 2011; 60 (2): 249–60.
  69. Chkadua GZ, Zobotina TN, Burkova AA, Tamaeva ZYe, Ogorodnikova EV, Zhordania KI. Adaptirovanie metodiki kul'tivirovanija dendritnyh kletok cheloveka iz monocitov perifericheskoj krovi dlja klinicheskogo primenenija. *Rossijskij bioterapevticheskij zhurnal*. 2002; (3): 56–62.
  70. Sasada T, Suekane S. Variation of tumor-infiltrating lymphocytes in human cancers: controversy on clinical significance. *Immunotherapy*. 2011; 3 (10): 1235–51.
  71. Eloy JO, Pettrilli R, Trevizan LNF, Chorilli M. Immunoliposomes: a review on functionalization strategies and targets for drug delivery. *Colloids Surf B: Biointerfaces*. 2017; (159): 454–67.
  72. Bilensoy E, Sarisozen C, Esendagli G, Dogan AL, Aktaş Y, Sen M, et al. Intravesical cationic nanoparticles of chitosan and polycaprolactone for the delivery of Mitomycin C to bladder tumors. *Int J Pharm*. 2009; (371): 170–6.
  73. Kosmides AK, Sidhom JW, Fraser A, Bessell CA, Schneck JP. Dual targeting nanoparticle stimulates the immune system to inhibit tumor growth. *ACS Nano*. 2017; 11 (6): 5417–29.
  74. Zhang Q, Neoh KG, Xu L, Lu S, Kang ET, Mahendran R, et al. Functionalized mesoporous silica nanoparticles with mucoadhesive and sustained drug release properties for potential bladder cancer therapy. *Langmuir*. 2014; (30): 6151–61.
  75. Sudha T, Bharali DJ, Yalcin M, Darwish NH, Coskun MD, Keating KA, et al. Targeted delivery of cisplatin to tumor xenografts via the nanoparticle component of nano-diamino-tetrac. *Nanomedicine*. 2017; 12 (3): 195–205.
  76. McKiernan JM, Barlow LJ, Laudano MA, Mann MJ, Petrylak DP, Benson MC. A phase I trial of intravesical nanoparticle albumin-bound paclitaxel in the treatment of bacillus Calmette-Guérin refractory nonmuscle invasive bladder cancer. *J Urol*. 2011; (186): 448–51.
  77. Barrow AD, Edeling MA, Trifonov V, Luo J, Goyal P, Bohl B, et al. Natural killer cells control tumor growth by sensing a growth factor. *Cell*. 2018; 172 (3): 534–48.

## КЛИНИЧЕСКИЕ И МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ПАЦИЕНТОВ С МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ КАРТИНОЙ ВРОЖДЕННОЙ СТЕРЖНЕВОЙ МИОПАТИИ

А. А. Козина<sup>1,2,5</sup>✉, П. А. Шаталов<sup>3,5</sup>, Т. И. Баранич<sup>1</sup>, С. Б. Артемьева<sup>3</sup>, А. Г. Куприянова<sup>3</sup>, Н. В. Барышникова<sup>1,5</sup>, А. Ю. Красненко<sup>1,5</sup>, В. В. Ильинский<sup>1,2,5</sup>, В. С. Сухоруков<sup>1,4</sup>

<sup>1</sup> Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва, Россия

<sup>2</sup> Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В. Н. Ореховича, Москва, Россия

<sup>3</sup> Научно-исследовательский клинический институт педиатрии имени академика Ю. Е. Вельтищева, Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва, Россия

<sup>4</sup> Научный центр неврологии, Москва, Россия

<sup>5</sup> ООО «Генотек», Москва, Россия

Врожденные стержневые миопатии — это клинически и генетически гетерогенная группа врожденных миопатий, общий гистопатологический признак которых — наличие участков с уменьшенной окислительной активностью при биопсии мышц. Взаимосвязь клинико-генетических, патогенетических и морфологических характеристик этой группы миопатий до конца не изучена. Целью исследования было проанализировать соответствие клинико-морфологических характеристик пациентов с врожденными миопатиями/миодистрофиями и результатов экзомного секвенирования, полученных методами массового параллельного секвенирования (MPS). В исследовании участвовали 8 детей (2 мальчика и 6 девочек 3–14 лет). Морфологический анализ проводили с помощью световой и электронной микроскопии. Молекулярно-генетический анализ проводили с помощью MPS на платформе HiSeq2500. Мутации были обнаружены в 87,5% случаев (у 7 из 8 обследованных): у 6 обследованных (8 мутаций) — в генах, ответственных за врожденные стержневые миопатии, и у одного пациента (2 мутации) — в гене *LAMA2*, ответственном за мерозин-негативную мышечную дистрофию. Доли пациентов с выявленными мутациями в гене *RYR1* и мутациями в гене *SEPN1* одинаковы и составили 42,86% среди пациентов с мутациями. Из 10 мутаций, выявленных у обследованных пациентов, 3 мутации описаны впервые: в гене *RYR1* — c.7561G>A; в гене *SEPN1* — c.485C>A; в гене *LAMA2* — p.Cys1136Arg. Совокупность клинических и морфологических признаков, характерных для стержневых миопатий, не позволяет ограничить молекулярно-генетический поиск причины заболевания генами *RYR1* и *SEPN1*, что приводит к необходимости исследовать другие гены, ответственные за развитие врожденных миопатий/миодистрофий, с использованием современных молекулярно-генетических методов.

**Ключевые слова:** врожденные миопатии центрального стержня, врожденные многостержневые миопатии, ген *RYR1*, ген *SEPN1*, ген *LAMA2*, мышечная биопсия, экзомное секвенирование

**Информация о вкладе авторов:** А. А. Козина — анализ литературы, интерпретация данных экзомного секвенирования, анализ данных, подготовка рукописи; П. А. Шаталов — сбор данных, проведение морфологического исследования, подготовка рукописи; Т. И. Баранич — проведение морфологического исследования; С. Б. Артемьева — сбор клинических данных, неврологический осмотр пациентов; А. Г. Куприянова — сбор клинических данных; Н. В. Барышникова — анализ литературы, интерпретация данных экзомного секвенирования, анализ данных, подготовка рукописи; А. Ю. Красненко — проведение экзомного секвенирования; В. В. Ильинский — проведение экзомного секвенирования; В. С. Сухоруков — планирование исследования, сбор данных.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено этическим комитетом ФГБОУ ВО РНИМУ имени Н. И. Пирогова (протокол № 172 от 19 февраля 2018 г.); все участники исследования или их законные представители подписали добровольное информированное согласие.

✉ **Для корреспонденции:** Анастасия Александровна Козина  
Наставнический переулок, д. 17, стр. 1, г. Москва, 105120; doctor@genotek.ru

**Статья получена:** 07.02.2019 **Статья принята к печати:** 19.04.2019 **Опубликована онлайн:** 30.04.2019

**DOI:** 10.24075/vrgmu.2019.034

## CLINICAL AND MOLECULAR-GENETIC PROFILES OF PATIENTS WITH MORPHOLOGICAL INDICATIONS OF CONGENITAL MULTICORE MYOPATHY

Kozina AA<sup>1,2,5</sup>✉, Shatalov PA<sup>3,5</sup>, Baranich TI<sup>1</sup>, Artemieva SB<sup>3</sup>, Kupriyanova AG<sup>3</sup>, Baryshnikova NV<sup>1,5</sup>, Krasnenko AY<sup>1,5</sup>, Ilinsky VV<sup>1,2,5</sup>, Sukhorukov VS<sup>1,4</sup>

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

<sup>2</sup> Orekhovich Institute of Biomedical Chemistry, Moscow, Russia

<sup>3</sup> Veltischev Research and Clinical Institute for Pediatrics, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

<sup>4</sup> Research Center of Neurology, Moscow, Russia

<sup>5</sup> Genotek Ltd., Moscow, Russia

Congenital core myopathies are a clinically and genetically heterogenous group of congenital myopathies that share a specific histopathological feature: areas of reduced oxidative activity in muscle fibers. The relationship between clinical, genetic and morphological characteristics of this group of disorders remains understudied. The aim of this work was to compare clinical presentations and morphological phenotypes of patients with congenital myopathies/myodystrophy to the data yielded by massively parallel exome sequencing. Eight children were included in the study: 2 boys and 6 girls aged 3 to 14 years. Their biopsy material was analyzed by light and electron microscopy. Sequencing was performed on HiSeq2500. Mutations were detected in 7 (87.5%) of 8 participants. Six children had 8 mutations in the genes associated with congenital core myopathies; one patient had 2 mutations in the *LAMA2* gene implicated in merosin-deficient muscular dystrophy. The proportions of patients with mutations in *RYR1* and *SEPN1* were equal (42.86%). Of 10 detected mutations, 3 had not been previously described, including c.7561G>A in *RYR1*, c.485C>A in *SEPN1* and p.Cys1136Arg in *LAMA2*. The clinical and morphological features of core myopathies suggest that genetic causes of this group of disorders should not be limited to *RYR1* and *SEPN1* genes only. This necessitates the search for and the study of other genes implicated in congenital myopathies or myodystrophy using state-of-the-art molecular genetic tools.

**Keywords:** congenital central core disease, congenital multicore myopathies, *RYR1* gene, *SEPN1* gene, *LAMA2* gene, muscle biopsy, exome sequencing

**Author contribution:** Kozina AA — literature analysis, analysis and interpretation of exome sequencing data, manuscript preparation; Shatalov PA — data acquisition, microscopy, manuscript preparation; Baranich TI — microscopy; Artemieva SB — medical histories and neurological examinations; Kupriyanova AG — clinical data acquisition; Baryshnikova NV — literature analysis, analysis and interpretation of exome sequencing data, manuscript preparation; Krasnenko AY — exome sequencing; Ilinsky VV — exome sequencing; Sukhorukov VS — study design, data acquisition.

**Compliance with ethical standards:** the study was approved by the Ethics Committee of Pirogov Russian National Research Medical University (Protocol № 172 dated February 19, 2018). All participants or their legal representatives gave informed consent to participate.

✉ **Correspondence should be addressed:** Anastasia A. Kozina  
Nastavnichesky per. 17, bld. 1, Moscow, 105120; doctor@genotek.ru

**Received:** 07.02.2019 **Accepted:** 19.04.2019 **Published online:** 30.04.2019

**DOI:** 10.24075/brsmu.2019.034

Врожденные миопатии — это клинически и генетически гетерогенная группа нервно-мышечных заболеваний со сложным патогенезом, неоднородной клинической картиной и разными типами наследования [1]. Функциональная недостаточность мышечной ткани при заболеваниях данной группы проявляется на фоне развития специфических патологических структур в мышечных волокнах при отсутствии миодистрофических процессов в них [2].

На основании морфологической картины биопсийного материала различают несколько форм врожденных структурных миопатий, самые распространенные из которых — болезнь центрального стержня, немалиновая миопатия, многостержневая миопатия, центронукулярная миопатия, описаны как классические формы [2].

Каждая морфологическая форма включает несколько генетических вариантов, различающихся и по тяжести клинической картины, и по типу наследования, что имеет значение для тактики ведения пациентов и медико-генетического консультирования семьи.

Оценка распространенности отдельных морфологических форм и генетических вариантов врожденных структурных миопатий, их истинного вклада в структуру симптомокомплекса «вялый ребенок», клиническая дифференциальная диагностика, а также классификация по-прежнему затруднены. Это обусловлено высокой генетической гетерогенностью и редкостью отдельных вариантов, перекрыванием клинических симптомов при нервно-мышечных заболеваниях, формирующих симптомокомплекс «вялый ребенок», ограничениями использования молекулярно-генетических методов диагностики.

Несмотря на то что изучать врожденные структурные миопатии начали с описания болезни центрального стержня еще в 1956 г., до сих пор до конца не изучены этиопатогенез и клинико-генетические корреляции при врожденных миопатиях, сопровождающихся формированием морфологической картины в виде «стержней».

Общей морфологической особенностью стержневых миопатий является наличие области сниженной окислительной активности ферментов в мышечных волокнах первого типа, определяемой при гистохимическом анализе, в сочетании с дезорганизацией саркомеров и почти полным истощением митохондрий [3, 4].

Выделяют две основные формы стержневых миопатий: болезнь центрального стержня и многостержневую миопатию.

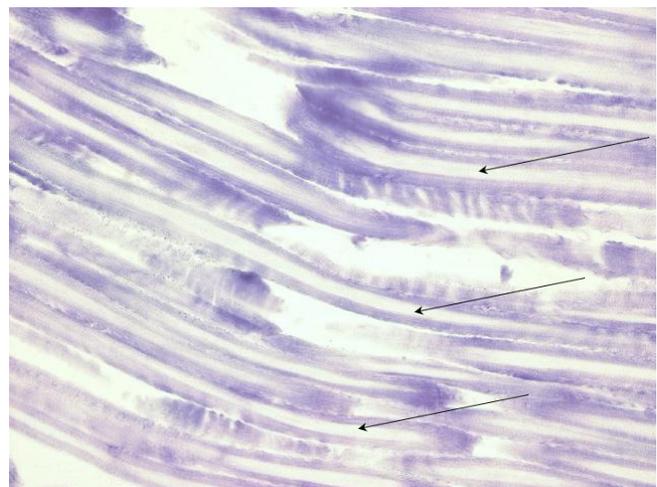
Согласно литературным данным, основными причинами развития наследственных форм стержневых миопатий являются мутации в генах, кодирующих два белка саркоплазматического ретикулума: рианодинорцептор (*RYR1*), обеспечивающий работу канала высвобождения кальция, и селенопротеин N (*SEPN1*) [5, 6].

Ген рианодинового рецептора (*RYR1*) локализован на хромосоме 19q13.1 и включает 106 экзонов. Рианодинорцептор представляет собой рецепторуправляемый  $Ca^{2+}$ -канал, расположенный в мембране эндоплазматического ретикулума и регулирующий выход из него кальция. В скелетной мышечной ткани рианодинорцептор локализован в мембране поперечных цистерн саркоплазматического ретикулума и связан с дигидропиридиновым рецептором на инвагинациях плазмалеммы в Т-трубочках. Сигнал, приходящий по сарколемме за счет этой связи, воздействует на саркоплазматический ретикулум, вызывая выброс кальция, необходимого для мышечного сокращения [7–9]. Мутации

в гене рианодинового рецептора (*RYR1*) встречаются чаще, чем мутации в гене селенопротеина N (*SEPN1*), и связаны с развитием нескольких патологических состояний, в первую очередь болезни центрального стержня (Central core disease, OMIM 117000) с аутосомно-доминантным и аутосомно-рецессивным типами наследования и реже — многостержневой миопатии (Multiminicore disease, OMIM 255320) с аутосомно-рецессивным типом наследования [10, 11]. Мутации в гене *RYR1* ассоциированы также с повышенным риском злокачественной гипертермии (Malignant hyperthermia susceptibility 1, OMIM 145600) с аутосомно-доминантным типом наследования — фармакогенетической предрасположенности к тяжелой и потенциально смертельной побочной реакции в ответ на применение летучих анестетиков и/или миорелаксантов [12].

В основе патогенеза болезни центрального стержня лежат ультраструктурные изменения в центральных зонах скелетных мышечных волокон, а также отсутствие в них функциональной активности, в первую очередь митохондриальных ферментов. Гистологические характеристики этих зон («стержней»), не схожие с таковыми в периферических участках волокна, служат одним из основных диагностических критериев заболевания [13] (рис. 1 и 2). Болезнь центрального стержня обычно развивается в раннем детском возрасте. К характерным признакам относят задержку моторного развития, снижение мышечного тонуса, слабость проксимальных отделов мышц (при этом лицевая мускулатура не страдает). Для данного заболевания характерны также такие скелетные нарушения, как врожденный вывих бедра и сколиоз. Мышечная слабость с возрастом не прогрессирует.

Ген *SEPN1* локализован на хромосоме 1p36-p35, включает 13 экзонов и кодирует белок селенопротеин N, представляющий собой гликопротеин, расположенный в эндоплазматическом ретикулуме и выступающий в роли медиатора селена, который входит в состав различных защитных и метаболических систем. Кроме того, он принимает участие в поддержании кальциевого гомеостаза в мышечной ткани путем обеспечения деятельности окислительных ферментов и контроля окислительного состояния рианодиновых рецепторов.



**Рис. 1.** Скелетная мышечная ткань пациента с врожденной миопатией центрального стержня (возраст 21 год). Гистохимическое выявление активности сукцинатдегидрогеназы нитро-СТ по Нахласу и др. (1957) криостатных срезов (препарат В. С. Сухорукова,  $\times 200$ ). Почти во всех продольно срезанных мышечных волокнах определено полное отсутствие активности фермента в центральных зонах (показано стрелками)

Показано, что дефицит селенопротеина N приводит к повышению оксидантной активности в миотубах и нарушению регуляции супероксиддисмутазы и каталазы. В результате происходит окислительный стресс, кальциевый гомеостаз мышечной ткани нарушается вследствие выхода из строя рианодиновых рецепторов и неконтролируемого высвобождения кальция через их каналы [9, 11, 14]. Мутации в гене *SEPN1* связаны с развитием многостержневых миопатий (OMIM 602771), а также с врожденной мышечной дистрофией с ригидным позвоночником (*Muscular dystrophy, rigid spine, 1*, OMIM 602771), имеющей сходный фенотип [15]. Тип наследования заболеваний — аутосомно-рецессивный.

К гистологическим признакам многостержневых миопатий относят наличие в скелетно-мышечных волокнах множественного количества стержней, не обязательно расположенных центрально (рис. 3). Морфофункциональной особенностью строения мышечной ткани при *RYR1*-обусловленной многостержневой миопатии является наличие достаточно массивных стержней в мышечном волокне (*multicores*) [9, 11]. Характерная патоморфологическая особенность мышечной ткани при *SEPN1*-обусловленной многостержневой миопатии — наличие большого количества мелких стержней (*minicores*) [9, 11].

Многостержневая миопатия — врожденная миопатия с началом в раннем детском возрасте (симптомокомплекс «вялого ребенка»), характеризующаяся мышечной гипотонией, задержкой формирования двигательных навыков, выраженной мышечной слабостью в проксимальных отделах конечностей, деформациями позвоночника с ранним формированием сколиоза, деформацией грудной клетки. Для многостержневой миопатии характерна слабость лицевой мускулатуры.

Сходство клинических проявлений стержневых миопатий с другими видами врожденных миопатий, сложность структуры этих заболеваний, различные варианты сочетания нарушений мышечной ткани осложняют проведение их дифференциальной диагностики. Диагностика врожденных стержневых миопатий основана на сочетании клинических и морфологических признаков, а также данных молекулярно-генетического исследования. Фенотип больных со структурными миопатиями, включая клинические симптомы и морфологическую картину (процессы, происходящие в мышечной ткани), не всегда однотипен. Несмотря на выявленную этиопатогенетическую связь с генами *RYR1* и *SEPN1*, существует предположение о влиянии других генов на развитие заболевания, а также полигенной природы заболевания [2]. В связи с этим представляется актуальным изучение клинических, морфологических и генетических параллелей врожденных стержневых миопатий.

Цель настоящего исследования — сопоставить клинко-морфологические характеристики с результатами экзомного секвенирования, полученными методами массового параллельного секвенирования (MPS), у пациентов с клиническими и морфологическими признаками врожденных стержневых миопатий.

#### ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

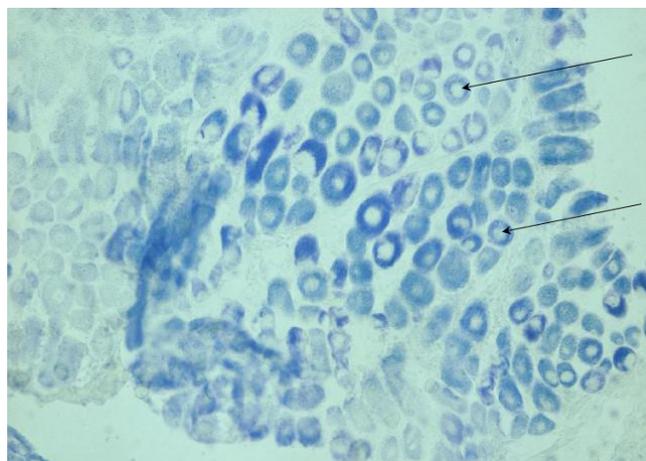
В исследование были включены 8 детей, среди которых 2 мальчика и 6 девочек (3–14 лет). Критерии включения пациентов в исследование: пациенты любого пола с неотягощенным семейным анамнезом; наличие диагноза врожденной миопатии; наличие морфологических признаков стержневой миопатии; наличие результатов молекулярно-генетического исследования. Критерии

исключения: отсутствие морфологических признаков стержневых структур по данным биопсии.

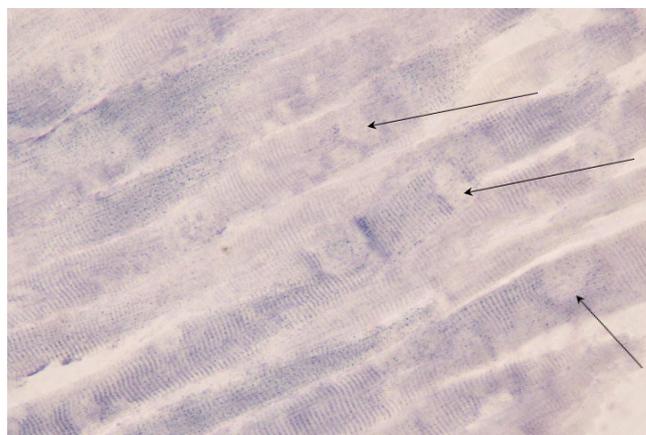
Были проанализированы выписки из историй болезни пациентов. Морфологический анализ проводили с помощью световой микроскопии при помощи микроскопа Nikon Eclipse Ni (Nikon Corp.; Япония) (окраска парафиновых и замороженных срезов, гистоферментохимическая окраска) и электронной микроскопии согласно протоколам производителей.

1. Срезы свежей ткани получали путем заморозки биоптата в жидком азоте и дальнейшей нарезки на микротоме-криостате Microm HM 505 N (Microm Tech.; США). Для получения парафиновых срезов проводили химическую фиксацию в 10%-м нейтральном (pH 7,4) забуференном формалине согласно протоколу производителя и дальнейшую нарезку на микротоме.

2. Окраску гематоксилином и эозином замороженных срезов, окраску гематоксилином и эозином парафиновых срезов, гистохимическое выявление активности сукцинатдегидрогеназы в замороженных срезах с использованием нитросинего тетразолия по Нахласу и др., 1957 [16] проводили согласно стандартному протоколу.



**Рис. 2.** Скелетная мышечная ткань пациента с врожденной миопатией центрального стержня (возраст 1 год). Гистохимическое выявление активности сукцинатдегидрогеназы нитро-СТ по Нахласу и др. (1957) криостатных срезов ( $\times 200$ ). Почти во всех поперечно срезанных мышечных волокнах определено полное отсутствие активности фермента в центральных зонах (показано стрелками)



**Рис. 3.** Скелетная мышечная ткань пациента с врожденной многостержневой миопатией (возраст 3,5 года). Гистохимическое выявление активности сукцинатдегидрогеназы нитро-СТ по Нахласу и др. (1957) криостатных срезов (препарат В. С. Сухорукова,  $\times 200$ ). Почти во всех продольно срезанных мышечных волокнах определен феномен множественных стержней (показано стрелками)

3. Для электронно-микроскопического исследования проводили префиксацию материала размером не более 1 мм<sup>3</sup> в 2,5%-м растворе глутарового альдегида на фосфатном буфере (pH 7,4) при 0 °С. После отмывки ткани фосфатным буфером (pH 7,4) фиксировали 1%-м раствором четырехоксида осмия в течение часа при 2–4 °С. Затем ткань обезвоживали в спиртах восходящей концентрации. Заливку ткани производили в эпоновую смолу после трехкратной обработки ацетоном по методике Лафта [17] согласно стандартному протоколу. Срезы получали на ультратоме REICHERT Nr. 321850/E (Reichert tech.; Австрия) и контрастировали цитратом свинца и уранил-ацетатом натрия по методике Рейнольдса [18]. Исследование проводили на трансмиссионном электронном микроскопе JEOL JEM-100B (Jeol LTD.; Япония).

Молекулярно-генетический анализ проводили с помощью MPS на платформе HiSeq2500 (Illumina; США) согласно протоколу производителя.

1. Процедуру мечения ампликонов производили при помощи наборов для мечения BigDye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Thermo Fisher Scientific; США) по протоколу производителя. Секвенирование по Сэнгеру — на генетическом анализаторе ABI PRISM 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems; США) согласно протоколу производителя.

2. Биоинформатическую обработку данных MPS проводили при помощи Cutadapt версии 1.14 (Cutadapt; США), BWA версии 1.14 (Illumina; США), FastQC версии 0.11.5 (Illumina; США), GATK HaplotypeCaller версии 3.7 (GATK HaplotypeCaller; США), snpEff версии 4.3p (SnpEff; США). Оценивали патогенность и консервативность, данные для которых извлекали из баз данных dbNSFP, Clinvar, OMIM и HGMD; использовали также утилит SIFT версии 1.03 (SIFT; США) и Polyphen2 версии 2.2.2 (Polyphen2; США) для предсказания возможной патогенности мутации. Информация о частотах мутаций взята из баз данных 1000Genomes project, ExAC и др. Аннотацию мутаций и их патогенность предсказывали согласно Стандартам и Руководству, разработанным ACMG, AMP и CAP для интерпретации мутаций, полученных с помощью секвенирования [19].

3. Клиническую интерпретацию результатов молекулярно-генетического анализа (экзомного секвенирования) проводили с помощью генетических баз данных OMIM (<https://omim.org/>), Varsome (<https://varsome.com/>), ClinVar (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>), The Human Gene Mutation Database (<http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php>) и др., согласно руководству по интерпретации данных, полученных методами массового параллельного секвенирования (MPS) [20].

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

У обследованных больных было отмечено наличие сходных клинических проявлений, характерных для врожденных структурных миопатий: симптомокомплекс «вялого ребенка» в раннем возрасте, задержка формирования моторных навыков. Выявлены различная степень нарушения походки (вплоть до отсутствия самостоятельной ходьбы) и деформации позвоночника; в неврологическом статусе обращали на себя внимание снижение мышечной силы и тонуса, снижение или отсутствие сухожильных рефлексов с верхних и нижних конечностей. При биохимическом обследовании уровень креатинфосфокиназы (КФК)

у троих детей в возрасте до 5 лет был нормальным, а у пяти пациентов в возрасте 7–14 лет находился на верхних границах нормы или был незначительно повышен (табл. 1). У всех детей при морфологическом обследовании выявлены стержневые структуры мышечного волокна — у пяти пациентов (пациенты 1, 2, 3, 7, 8) отмечена картина болезни центрального стержня, у трех пациентов (пациенты 4, 5, 6) — картина многостержневой миопатии.

Мутации были обнаружены в 87,5% случаев (у 7 из 8 обследованных пациентов): у 6 обследованных — в генах *RYR1* и *SEPN1*, ответственных за врожденные стержневые миопатии, и у одного пациента — в гене *LAMA2*, ответственном за мерозин-негативную мышечную дистрофию (табл. 2).

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты молекулярно-генетического анализа достаточно хорошо коррелируют с клиническими и морфологическими данными пациентов: у троих пациентов с морфологической картиной болезни центрального стержня (пациенты 1, 2 и 3) выявлены мутации в гене *RYR1*, у троих пациентов с морфологической картиной многостержневой миопатии (пациенты 4, 5 и 6) выявлены мутации в гене *SEPN1* (табл. 2). Доли пациентов с мутациями в генах *RYR1* и *SEPN1* одинаковы и составляют 42,86% для каждого гена среди пациентов с мутациями.

В гене *RYR1* обнаружено 4 мутации у троих пациентов. Три выявленные мутации с.11798A>G, с.14387A>G и с.14581C>T описаны ранее [21, 22, 23].

Согласно литературным данным, мутации с.11798A>G и с.14387A>G ассоциированы со спорадическими случаями болезни центрального стержня и у наших пациентов (1-го и 2-го соответственно) также выявлены в гетерозиготном состоянии.

У пациента 3 выявлены две мутации (с.14581C>T и с.7561G>A) в гене *RYR1* предположительно в компаунд-гетерозиготном состоянии, что позволяет думать об аутосомно-рецессивном типе наследования заболевания. Мутация с.14581C>T описана и при спорадических случаях, и как рецессивный аллель [27]. Мутация с.7561G>A идентифицирована впервые. Наличие двух мутаций позволяет предполагать аутосомно-рецессивный тип наследования.

В гене *SEPN1* обнаружено 4 мутации у троих пациентов. Мутации с.611dupA, с.713dupA, с.583G>A были описаны ранее [24, 25].

Мутация с.611dupA представляет собой мутацию сдвига рамки считывания (*frameshift*), приводящую к синтезу укороченного нефункционального белка. Данная мутация обнаружена в гомозиготном состоянии (пациент 5), что согласуется с аутосомно-рецессивным типом наследования заболевания.

Мутация с.713dupA, также являющаяся мутацией типа *frameshift*, выявлена у пациента 4 в компаунд-гетерозиготном состоянии. Она описана как причина *Muscular dystrophy, rigid spine, 1* (OMIM: 602771) у французских пациентов и в гомозиготном, и в гетерозиготном состояниях [24]. Выявленный у пациента 4 генетический вариант с.583G>A, расцененный предсказательными программами как вероятно патогенный, описан в базах данных мутаций как доброкачественный, однако его значимость для развития заболевания пациента необходимо дополнительно исследовать.

Мутация с.485C>A идентифицирована впервые и обнаружена в гетерозиготном состоянии (пациент 6). Это не

позволяет подтвердить диагноз многостержневой миопатии, хотя морфологические и клинические данные пациента согласуются с данным диагнозом. Исключить диагноз многостержневой миопатии, обусловленной мутациями в гене *SEPN1*, мы тоже не можем, так как мутация во втором аллеле гена могла быть не найдена в связи с техническими ограничениями метода высокопроизводительного параллельного секвенирования.

У двух пациентов с направляющим диагнозом врожденной миопатии/миодистрофии и морфологическими признаками болезни центрального стержня (пациенты 7 и 8) не были выявлены мутации в генах *RYR1* и *SEPN1*.

У пациента 7 обнаружено две мутации предположительно в компаунд-гетерозиготном состоянии в гене *LAMA2* (14,28% случаев с выявленными мутациями). Мутации в гене *LAMA2* связаны с развитием поясно-конечностной мышечной дистрофии 23-го типа (OMIM 618138) и с врожденной мерозин-негативной мышечной дистрофией (OMIM 607855), наследующихся аутосомно-рецессивно.

Выявленная у пациента 7 мутация в гене *LAMA2* с.7147C>T (p.Arg2383\*), приводящая к синтезу укороченного нефункционального белка, описана ранее в гомозиготном состоянии у девочки 4-х лет [28], с характерными для

мерозин-дефицитной врожденной мышечной дистрофии типа А признаками (врожденная гипотония, мышечная слабость, высокий уровень сывороточной креатинкиназы (1556 МЕ/л) и аномалии белого вещества при магнитно-резонансной томографии). Кроме того, у пациентов с этим заболеванием могут отмечаться судороги и структурные аномалии головного мозга. Причины вариабельной тяжести клинического фенотипа при врожденной мышечной дистрофии с частичным дефицитом ламинина альфа 2 до конца не известны и могут быть обусловлены нарушениями сайта сплайсинга [26].

Вторая мутация в гене *LAMA2*, выявленная у нашей пациентки, — несинонимичная замена с.3406T>C (p.Cys1136Arg) — не описана. Несинонимичные замены могут приводить как к формированию альтернативных сайтов сплайсинга и синтезу новых изоформ белка, так и к конформационным изменениям структуры белка, нарушающим его функцию. В связи с этим необходимы дальнейшие исследования для уточнения роли обнаруженной мутации в развитии заболевания.

У нашей пациентки клиническая картина была отличной от описанной выше и неоднозначной. Дифференциальную диагностику проводили между спинальной мышечной

Таблица 1. Выявленные симптомы пациентов с морфологическими признаками стержневой миопатии

Симптомы / Пациент	1	2	3	4	5	6	7	8
Показатели массы и роста при рождении (г/см)	3310/50	3540/55	2480/48	2800/49	3780/53	3060/50	2859/50	3500/54
Врожденный вывих/дисплазия бедра	–	–	+ (вывих)	–	–	–	+ (дисплазия)	–
Отставание в формировании моторных навыков	–	+	+	+	+	–	++	+
Сила мышц	4 балла	4 балла	4 балла	2–3 балла	4 балла	2–3 балла	1–2 балла	3–4 балла
Походка	Миопатическая	Не ходит	Миопатическая	Миопатическая	Миопатическая	Не ходит с 9 лет	Никогда не ходила	Миопатическая
Поражение позвоночника	Кифоз грудного отдела	Кифоз грудного отдела	Искривление позвоночника	Сколиоз грудного и поясничного отделов	Ригидность позвоночника	Кифосколиоз	Сколиоз	Сколиоз
Наличие контрактуры суставов	Голеностопных суставов	–	–	Тазобедренных, коленных, голеностопных суставов	Голеностопных суставов	Тазобедренных, коленных, голеностопных суставов	Тазобедренных, коленных, локтевых, голеностопных, луче-запястных суставов	Тазобедренных, коленных, голеностопных суставов
Снижение рефлексов верхних и нижних конечностей	+	+	+	++	+	++	++	++
Нарушение дыхания	+	+-	нет данных	+++	+	+	нет данных	+
Снижение интеллекта	–	+	+-	–	–	–	–	–
Дополнительные признаки	–	–	–	Недостаточность питания тяжелой степени	–	Птоз верхнего века, хроническая гиповентиляция	Слабость лицевой мускулатуры, затылочная эпилепсия	–
Уровень КФК, ед/л (норма 15–190)	78	66	79	188	284	174	290	194

Примечание: 1 — мальчик, 4 года; 2 — девочка, 3 года; 3 — девочка, 5 лет; 4 — девочка, 8 лет; 5 — мальчик, 7 лет; 6 — девочка, 11 лет; 7 — девочка, 14 лет; 8 — девочка, 7 лет.

Таблица 2. Спектр выявленных мутаций у пациентов с морфологическими признаками стержневой миопатии

Пациент	Диагноз, поставленный при направлении на исследование	Ген	Выявленные мутации, генотипы					Ссылки на публикации
			№ экзона	№ транскрипта	Нуклеотид	Аминокислотная замена	Генотип	
1	Врожденная структурная миопатия. Болезнь центрального стержня	<i>RYR1</i> , 19q13.2	86	NM_000540.2	c.11798A>G	p.Tyr3933Cys	Гетерозигота	[21]
2	Врожденная миопатия	<i>RYR1</i> , 19q13.2	100	NM_000540.2	c.14387A>G	p.Tyr4796Cys	Гетерозигота	[22]
3	Врожденная структурная миопатия	<i>RYR1</i> , 19q13.2	101	NM_000540.2	c.14581C>T	p.Arg4861Cys	Гетерозигота	[23]
			47	NM_000540.2	c.7561G>A	p.Val2521Met	Гетерозигота	Не описана
4	Врожденная миопатия	<i>SEPN1</i> , 1p36.11	5	NM_020451.2	c.713dupA	p.Asn238fs	Гетерозигота	[24]
			5	NM_020451.2	c.583G>A	p.Ala195Thr	Гетерозигота	[25]
5	Врожденная миопатия	<i>SEPN1</i> , 1p36.11	4	NM_206926.1	c.611dupA	p.Asn204fs	Гомозигота	[24]
6	Врожденная миопатия	<i>SEPN1</i> , 1p36.11	4	NM_206926.1	c.485C>A	p.Ser162*	Гетерозигота	Не описана
7	Врожденная структурная миопатия	<i>LAMA2</i> , 6q22.33	50	NM_000426.3	c.7147C>T	p.Arg2383*	Гетерозигота	[26, 28]
			23	NM_000426.3	c.3406T>C	p.Cys1136Arg	Гетерозигота	Не описана
8	Врожденная мышечная дистрофия	–	–	–	Не выявлено	Не выявлено	Не известен	–

Примечание: 1 — мальчик, 4 года; 2 — девочка, 3 года; 3 — девочка, 5 лет; 4 — девочка, 8 лет; 5 — мальчик, 7 лет; 6 — девочка, 11 лет; 7 — девочка, 14 лет; 8 — девочка, 7 лет; \* — стоп-кодон.

атрофией Верднига-Гоффмана и врожденными структурными миопатиями. Эпилепсия носила доброкачественный характер и не была учтена как один из признаков заболевания. Морфологическая картина мышечного биоптата соответствовала болезни центрального стержня. Тем не менее сочетание клинических, морфологических и молекулярно-генетических данных у описанной нами пациентки 7 нельзя считать однозначно противоречивым. До настоящего времени механизм и время появления стержневых структур, обнаруживаемых при морфологическом исследовании, до конца не изучены [2]. Предполагают, что это преимущественно обусловлено нарушением функциональной активности митохондрий. Изучение биоптатов мышечной ткани при различных формах врожденных миопатий/миодистрофий на разных стадиях патологического процесса возможно расширит представления о взаимодействиях и последовательности вовлечения различных белков и структур мышечной ткани в патологический процесс.

У пациента 8 не было выявлено клинически значимых генетических вариантов в генах, связанных с развитием нервно-мышечных заболеваний, однако это может быть обусловлено техническими ограничениями метода высокопроизводительного секвенирования.

Отсутствие мутаций в гене *RYR1* у двух пациентов (пациенты 7 и 8) с направляющим диагнозом врожденной миопатии/миодистрофии и морфологическими признаками центрального стержня подтверждает необходимость проведения расширенного молекулярно-генетического исследования этой подгруппы пациентов. В то же время при наличии дополнительных клинических симптомов, редких для определенного заболевания (в нашем случае у пациента 7 — наличие судорог), вероятность выявления иных молекулярно-генетических нарушений повышается. Это так же подтверждает необходимость проведения исследований, направленных на изучение патогенетических механизмов и их морфологических проявлений при врожденных миопатиях и миодистрофических процессах.

Были также выявлены корреляции между значениями активности КФК и обнаруженными мутациями. Уровень КФК, как правило, позволяет предположить локализацию поражения при нервно-мышечных заболеваниях

и свидетельствует об остроте и длительности патологического процесса при поражении мышц. Мутации в гене *RYR1* обнаружены только у пациентов с нормальным уровнем КФК. Наибольшее повышение уровня данного фермента выявлено у пациента с *frameshift*-мутацией в гомозиготном состоянии в гене *SEPN1* и у пациента с мутациями в гене *LAMA2*, ассоциированном с наиболее тяжелой формой врожденной миопатии. Возможно, что уровень КФК служит своеобразным маркером патогенности молекулярно-генетического нарушения (степени влияния на наличие и функцию белкового продукта гена), приводящего к развитию заболевания и возникновению вторичных миодистрофических процессов.

## Выводы

Полученные результаты еще раз подтверждают генетическую гетерогенность миопатий, характеризующихся наличием морфологической картины стержневых структур мышечных волокон. Основными генетическими причинами развития стержневых миопатий у российских пациентов являются мутации в гене *RYR1* и гене *SEPN1*, что согласуется с результатами зарубежных исследований. Большинство мутаций — 75% (6 пациентов из 8), выявленных у наших пациентов в этих двух генах, описаны ранее. Две мутации, обнаруженные нами впервые, требуют дальнейшего исследования для уточнения их клинического значения. Показано также, что морфологическая картина мышечного волокна не может служить единственным критерием дифференциальной диагностики врожденных миопатий. Морфологические признаки стержневых миопатий могут быть выявлены и при других формах врожденных миопатий/миодистрофий. Это свидетельствует о необходимости дальнейшего изучения клинических, морфологических и генетических корреляций для понимания патогенетических механизмов, что может быть важно при разработке эффективных методов терапии осложнений заболеваний. Отсутствие у пациентов с клинико-морфологической картиной стержневых миопатий мутаций в генах, ответственных за развитие врожденных миопатий, требует дальнейшего изучения.

## Литература

- Bonne G, Rivier F, Hamroun D. The 2019 version of the gene table of neuromuscular disorders (nuclear genome). *Neuromuscul Disord.* 2018 Dec; 28 (12): 1031–63. DOI: 10.1016/j.nmd.2018.09.006.
- Сухоруков В. С., Харламов Д. А. Врожденные миопатии. М.: ООО Пресс-Арт, 2010; 155 с.
- Jungbluth H, Sewry CA, Muntoni F. Core Myopathies. *Semin Pediatr Neurol.* 2011 Dec; 18 (4): 239–49. DOI: 10.1016/j.spen.2011.10.005.
- Харламов Д. А., Баранич Т. И., Глинкина В. В., Брыдун А. В. Митохондриальные нарушения при врожденных миопатиях. *Российский вестник перинатологии и педиатрии.* 2014; 59 (3): 32–38.
- MacLennan DH, Zorzato F, Fujii J, Otsu K, Phillips M, Lai FA, et al. Cloning and localization of the human calcium release channel (ryanodine receptor) gene to the proximal long arm (cen-q13.2) of human chromosome 19. (Abstract) *Am J Hum Genet [Internet].* 1989; 45 (suppl.).
- Moghadaszadeh B, Petit N, Jaillard C, Brockington M, Roy SQ, Merlini L, et al. Mutations in SEPN1 cause congenital muscular dystrophy with spinal rigidity and restrictive respiratory syndrome. *Nature Genet.* 2001; (29): 17–8.
- Мельников К. Н. Разнообразие и свойства кальциевых каналов возбудимых мембран. *Психофармакология и биологическая наркологию.* 2006; (1–2): 1139–51.
- Chen W, Koop A, Liu Y, Guo W, Wei J, Wang R, et al. Reduced threshold for store overload-induced  $Ca^{2+}$  release is a common defect of RyR1 mutations associated with malignant hyperthermia and central core disease. *Biochem J.* 2017 Aug 7; 474 (16): 2749–61. DOI: 10.1042/BCJ20170282. PMID: 28687594.
- Сухоруков В. С., Харламов Д. А., Шаталов П. А., Харабадзе М. Н., Яблонская М. И., Брыдун А. В. и др. Врожденная «многоствержневая» миопатия. *Российский вестник перинатологии и педиатрии.* 2012; 57 (4–1): 90–3.
- Jungbluth H, Zhou H, Hartley L, Halliger-Keller B, Messina S, Longman C, et al. Minicore myopathy with ophthalmoplegia caused by mutations in the ryanodine receptor type 1 gene. *Neurology.* 2005 Dec 27; 65 (12): 1930–5. PMID: 16380615.
- Jungbluth H. Multi-minicore Disease. *Orphanet J Rare Dis.* 2007; (2): 31–45.
- McCarthy EJ. Malignant hyperthermia: pathophysiology, clinical presentation, and treatment. *AACN Clin Issues.* 2004 Apr–Jun; 15 (2): 231–7. PMID: 15461040.
- Сухоруков В. С., Шаталов П. А., Харламов Д. А., Брыдун А. В. Изменения митохондрий при врожденной миопатии «центрального стержня» у детей. *Российский вестник перинатологии и педиатрии.* 2011; 56 (4): 84–7.
- Lescure A, Rederstorff M, Krol A, et al. Selenoprotein function and muscle disease. *Biochim Biophys Acta.* 2009; (1790): 1569–74.
- Engel AG, Gomes MR. Congenital myopathy associated with multifocal degeneration of muscle fibers. *Trans Am Neurology Assoc.* 1966; (91): 222–3.
- Пирс Э. Гистохимия. М.: Изд-во иностранной литературы, 1962; 963 с.
- Luft JH. Improvements in epoxy resin embedding methods. *J Biophys Biochem Cytol.* 1961; (9): 409–14.
- Reynolds ES. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *J Cell Biol.* 1963; (17): 208–12.
- Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med.* 2015; 17 (5): 405–23.
- Рыжкова О. П., Кардымон О. Л., Прохорчук Е. Б., Коновалов Ф. А., Масленников А. Б., Степанов В. А. и др. Руководство по интерпретации данных, полученных методами массового параллельного секвенирования (MPS). *Медицинская генетика.* 2017; 16 (7): 4–17.
- Duarte ST, Oliveira J, Santos R, Pereira P, Barroso C, Conceição I, et al. Dominant and recessive RYR1 mutations in adults with core lesions and mild muscle symptoms. *Muscle Nerve.* 2011 Jul; 44 (1): 102–8. DOI: 10.1002/mus.22009. PMID: 21674524.
- Monnier N, Romero NB, Leralte J, Nivoche Y, Qi D, MacLennan DH, et al. An autosomal dominant congenital myopathy with cores and rods is associated with a neomutation in the RYR1 gene encoding the skeletal muscle ryanodine receptor. *Hum Mol Genet.* 2000 Nov 1; 9 (18): 2599–608. PMID: 11063719.
- Davis MR, Haan E, Jungbluth H, Sewry C, North K, Muntoni F, et al. Principal mutation hotspot for central core disease and related myopathies in the C-terminal transmembrane region of the RYR1 gene. *Neuromuscul Disord.* 2003 Feb; 13 (2): 151–7. PMID: 12565913.
- Ferreiro A, Quijano-Roy S, Pichereau C, Moghadaszadeh B, Goemans N, Bönnemann C, et al. Mutations of the seleno-protein N gene, which is implicated in rigid spine muscular dystrophy, cause the classical phenotype of multimicore disease: reassessing the nosology of early-onset myopathies. *Am J Hum Genet.* 2002 Oct; 71 (4): 739–49. PMID: 12192640.
- Tajsharghi H, Darin N, Tulinius M, Oldfors A. Early onset myopathy with a novel mutation in the Selenoprotein N gene (SEPN1). *Neuromuscul Disord.* 2005 Apr; 15 (4): 299–302. PMID: 15792869.
- Pegoraro E, Fanin M, Trevisan CP, Angelini C, Hoffman EP. A novel laminin alpha 2 isoform in severe laminin alpha 2 deficient congenital muscular dystrophy. *Neurology.* 2000 Oct 24; 55 (8): 1128–34. PMID: 11071490.
- Kossugue PM, Paim JF, Navarro MM, Silva HC, Pavanetto RC, Gurgel-Giannetti J, et al. Central core disease due to recessive mutations in RYR1 gene: is it more common than described? *Muscle Nerve.* 2007 May; 35 (5): 670–4. PMID: 17226826.
- He Z, Luo X, Liang L, Li P, Li D, Zhe M. Merosin-deficient congenital muscular dystrophy type 1A: A case report. *Exp Ther Med.* 2013 Nov; 6 (5): 1233–6. PMID: 24223650.

## References

- Bonne G, Rivier F, Hamroun D. The 2019 version of the gene table of neuromuscular disorders (nuclear genome). *Neuromuscul Disord.* 2018 Dec; 28 (12): 1031–63. DOI: 10.1016/j.nmd.2018.09.006.
- Suhorukov VS, Harlamov DA. Vrozhdennye miopatii. M.: ООО Пресс-Арт, 2010; 155 с.
- Jungbluth H, Sewry CA, Muntoni F. Core Myopathies. *Semin Pediatr Neurol.* 2011 Dec; 18 (4): 239–49. DOI: 10.1016/j.spen.2011.10.005.
- Harlamov DA, Baranich TI, Glinkina VV, Brydun AV. Mitochondrial'nye narusheniya pri vrozhdennyh miopatiyah. *Rossijskij vestnik perinatologii i pediatrii.* 2014; 59 (3): 32–38.
- MacLennan DH, Zorzato F, Fujii J, Otsu K, Phillips M, Lai FA, et al. Cloning and localization of the human calcium release channel (ryanodine receptor) gene to the proximal long arm (cen-q13.2) of human chromosome 19. (Abstract) *Am J Hum Genet [Internet].* 1989; 45 (suppl.).
- Moghadaszadeh B, Petit N, Jaillard C, Brockington M, Roy SQ, Merlini L, et al. Mutations in SEPN1 cause congenital muscular dystrophy with spinal rigidity and restrictive respiratory syndrome. *Nature Genet.* 2001; (29): 17–8.
- Melnikov KN. Raznoobrazie i svoystva kal'cievyyh kanalov vzbudimyyh membran. *Psihofarmakologiya i biologicheskaya narckologiya.* 2006; (1–2): 1139–51.
- Chen W, Koop A, Liu Y, Guo W, Wei J, Wang R, et al. Reduced threshold for store overload-induced  $Ca^{2+}$  release is a common defect of RyR1 mutations associated with malignant hyperthermia and central core disease. *Biochem J.* 2017 Aug 7; 474 (16): 2749–61. DOI: 10.1042/BCJ20170282. PMID: 28687594.

9. Suhorukov VS, Harlamov DA, Shatalov PA, Harabadze MN, Yablonskaya MI, Brydun AV i dr. Vrozhdenaja «mnogosterzhnevaja» miopatiya. *Rossijskij vestnik perinatologii i pediatrii*. 2012; 57 (4–1): 90–3.
10. Jungbluth H, Zhou H, Hartley L, Halliger-Keller B, Messina S, Longman C, et al. Minicore myopathy with ophthalmoplegia caused by mutations in the ryanodine receptor type 1 gene. *Neurology*. 2005 Dec 27; 65 (12): 1930–5. PMID: 16380615.
11. Jungbluth H. Multi-minicore Disease. *Orphanet J Rare Dis*. 2007; (2): 31–45.
12. McCarthy EJ. Malignant hyperthermia: pathophysiology, clinical presentation, and treatment. *AACN Clin Issues*. 2004 Apr–Jun; 15 (2): 231–7. PMID: 15461040.
13. Suhorukov VS, Shatalov PA, Harlamov DA, Brydun AV. Izmenenija mitohondrij pri vrozhdennoj miopatii «central'nogo sterzhnja» u detej. *Rossijskij vestnik perinatologii i pediatrii*. 2011; 56 (4): 84–7.
14. Lescure A, Rederstorff M, Krol A, et al. Selenoprotein function and muscle disease. *Biochim Biophys Acta*. 2009; (1790): 1569–74.
15. Engel AG, Gomes MR. Congenital myopathy associated with multifocal degeneration of muscle fibers. *Trans Am Neurology Assoc*. 1966; (91): 222–3.
16. Pirs A. Gistohimiya. M.: Izd-vo inostrannoj literatury, 1962; 963 s.
17. Luft JH. Improvements in epoxy resin embedding methods. *J Biophys Biochem Cytol*. 1961; (9): 409–14.
18. Reynolds ES. The use of lead citrate at high pH as an electron-opaque stain in electron microscopy. *J Cell Biol*. 1963; (17): 208–12.
19. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J. et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med*. 2015;17 (5): 405–23.
20. Ryzhkova OP, Kardymon OL, Prohorchuk EB, Konovalov FA, Maslennikov AB, Stepanov VA i dr. Rukovodstvo po interpretacii dannyh, poluchennyh metodami massovogo parallel'nogo sekvenirovaniya (MPS). *Medicinskaja genetika*. 2017; 16 (7): 4–17.
21. Duarte ST, Oliveira J, Santos R, Pereira P, Barroso C, Conceição I, et al. Dominant and recessive RYR1 mutations in adults with core lesions and mild muscle symptoms. *Muscle Nerve*. 2011 Jul; 44 (1): 102–8. DOI: 10.1002/mus.22009. PMID: 21674524.
22. Monnier N, Romero NB, Lemale J, Nivoche Y, Qi D, MacLennan DH, et al. An autosomal dominant congenital myopathy with cores and rods is associated with a neomutation in the RYR1 gene encoding the skeletal muscle ryanodine receptor. *Hum Mol Genet*. 2000 Nov 1; 9 (18): 2599–608. PMID: 11063719.
23. Davis MR, Haan E, Jungbluth H, Sewry C, North K, Muntoni F, et al. Principal mutation hotspot for central core disease and related myopathies in the C-terminal transmembrane region of the RYR1 gene. *Neuromuscul Disord*. 2003 Feb; 13 (2): 151–7. PMID: 12565913.
24. Ferreira A, Quijano-Roy S, Pichereau C, Moghadaszadeh B, Goemans N, Bönnemann C, et al. Mutations of the seleno-protein N gene, which is implicated in rigid spine muscular dystrophy, cause the classical phenotype of multiminicore disease: reassessing the nosology of early-onset myopathies. *Am J Hum Genet*. 2002 Oct; 71 (4): 739–49. PMID: 12192640.
25. Tajsharghi H, Darin N, Tulinius M, Oldfors A. Early onset myopathy with a novel mutation in the Selenoprotein N gene (SEPN1). *Neuromuscul Disord*. 2005 Apr; 15 (4): 299–302. PMID: 15792869.
26. Pegoraro E, Fanin M, Trevisan CP, Angelini C, Hoffman EP. A novel laminin alpha 2 isoform in severe laminin alpha 2 deficient congenital muscular dystrophy. *Neurology*. 2000 Oct 24; 55 (8): 1128–34. PMID: 11071490.
27. Kossugue PM, Paim JF, Navarro MM, Silva HC, Pavanetto RC, Gurgel-Giannetti J, et al. Central core disease due to recessive mutations in RYR1 gene: is it more common than described? *Muscle Nerve*. 2007 May; 35 (5): 670–4. PMID: 17226826.
28. He Z, Luo X, Liang L, Li P, Li D, Zhe M. Merosin-deficient congenital muscular dystrophy type 1A: A case report. *Exp Ther Med*. 2013 Nov; 6 (5): 1233–6. PMID: 24223650.

## ПРИРОДНОЕ РЕДАКТИРОВАНИЕ РНК С ЗАМЕНОЙ АДЕНОЗИНА НА ИНОЗИН МОЖЕТ УЧАСТВОВАТЬ В ПАТОГЕНЕЗЕ БОЛЕЗНЕЙ ЧЕЛОВЕКА

А. А. Ключникова ✉, С. А. Мошковский

Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В. Н. Ореховича, Москва, Россия

Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва, Россия

Редактирование РНК с заменой аденина на инозин является наиболее распространенным природным механизмом посттранскрипционной модификации у разных многоклеточных организмов, включая позвоночных, и катализируется ферментами семейства РНК-зависимых аденозиндеаминаз ADAR. Недавние исследования с использованием высокопроизводительного секвенирования нуклеиновых кислот позволили выявить тысячи участков такого редактирования и у человека, однако функция многих из них остается не до конца ясной. Мы хотим привлечь внимание клиницистов и специалистов по биомедицине к ADAR-опосредованному редактированию мРНК и его возможному участию в развитии болезней нервной системы, противовирусных иммунных реакций и злокачественных опухолей.

**Ключевые слова:** РНК-зависимая аденозиндеаминаза (ADAR), редактирование РНК, иммунитет, злокачественная опухоль, нейродегенеративные заболевания

**Финансирование:** работа выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013–2020 гг.

**Информация о вкладе авторов:** оба автора в равной степени участвовали в написании текста статьи.

✉ **Для корреспонденции:** Анна Алексеевна Ключникова  
ул. Погодинская, д. 10, стр. 8, г. Москва, 119121; a.kliuchnikova@gmail.com

**Статья получена:** 13.08.2018 **Статья принята к печати:** 06.04.2019 **Опубликована онлайн:** 16.04.2019

**DOI:** 10.24075/vrgmu.2019.028

## ADENOSINE-TO-INOSINE RNA EDITING MAY BE IMPLICATED IN HUMAN PATHOGENESIS

Kliuchnikova AA ✉, Moshkovskii SA

Institute of Biomedical Chemistry, Moscow, Russia

Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

Adenosine-to-inosine (A-to-I) RNA editing is a common mechanism of post-transcriptional modification in many metazoans including vertebrates; the process is catalyzed by adenosine deaminases acting on RNA (ADARs). Using high-throughput sequencing technologies resulted in finding thousands of RNA editing sites throughout the human transcriptome however, their functions are still poorly understood. The aim of this brief review is to draw attention of clinicians and biomedical researchers to ADAR-mediated RNA editing phenomenon and its possible implication in development of neuropathologies, antiviral immune responses and cancer.

**Keywords:** RNA-specific adenosine deaminase (ADAR), RNA editing, immune resistance, malignant tumour, neurodegenerative disease

**Funding:** the work was performed within The Programme for fundamental scientific research of state science academies for 2013–2020.

**Author contribution:** both authors have contributed equally to manuscript writing.

✉ **Correspondence should be addressed:** Anna A. Kliuchnikova  
Pogodinskaya 10, bld. 8, Moscow, 119121; a.kliuchnikova@gmail.com

**Received:** 13.08.2018 **Accepted:** 06.04.2019 **Published online:** 16.04.2019

**DOI:** 10.24075/brsmu.2019.028

Редактирование РНК — это один из посттранскрипционных механизмов изменения химической структуры нуклеотидов. Сразу отметим, что здесь мы будем говорить о редактировании РНК как о естественном явлении, которое не следует путать с вмешательством человека в последовательность нуклеиновых кислот, например, с использованием бактериальных систем CRISPR/Cas. Наиболее распространенным видом такого природного редактирования является замена аденина на инозин, опосредованная ферментами семейства РНК-зависимых аденозиндеаминаз (ADAR). Процесс называется редактированием, потому что такие изменения во многих случаях ведут к изменению информационного содержания РНК.

У человека известно три гена ADAR, продукты двух из которых (ген *adar*/белок ADAR1, ген *adarb1*/белок ADAR2) обладают ферментативной активностью в отношении РНК, а третий (*adarb2*/ADAR3) — ингибирует такую активность [1]. Активные ферменты ADAR обладают

способностью дезаминировать остатки аденозина в РНК, предпочтительно, в двухцепочечных участках. Свойства отредактированной таким образом молекулы РНК меняются. Если реакция происходит в кодирующей части мРНК, то может перекодироваться белок, поскольку инозин воспринимается в рибосоме как гуанозин [2].

Неизвестный до 1987 г. процесс редактирования РНК аденозиндеаминазами, как было показано в последние годы, широко распространен в геноме большинства животных, и с ним ассоциировано несколько функций. Так, у некоторых первичноротых, в частности, у головоногих моллюсков, процесс перекодирования генома и протеома выражен в большей степени, чем у беспозвоночных, и, как предполагают, обеспечивает их молекулярную пластичность при изменении условий окружающей среды и, вместе с тем, эволюционный консерватизм [3].

Известен процесс редактирования РНК описанного типа и у млекопитающих. Недавно проведенная большая работа, в которой в масштабах транскриптомов

исчерпывающе исследовали этот процесс, показала существование более 20 000 сайтов редактирования в транскриптомах человека и мыши. Из них более 2000 у человека кодировали аминокислотные замены [1]. Разнообразие редактированных участков в транскриптоме получило название «эдитом РНК» по аналогии с другими молекулярными «омами».

Функция редактирования РНК такого типа до недавнего времени оставалась неясной. Однако с помощью нокауты соответствующих генов, которые имели выраженное действие на здоровье грызунов, включая летальность, показано, что активность ADAR1 связана преимущественно с иммунитетом, а ADAR2 регулирует передачу сигнала и возбудимость в центральной нервной системе [4]. ADAR редактируют очень разнообразные субстраты, которые ронит только наличие двухцепочечной РНК. Это матричные, короткие и длинные некодирующие РНК, а также вирусные РНК. Масштаб явления осознан лишь в последнее время, и в связи с его сложностью знания о функциях такого редактирования в разных объектах накапливаются медленно.

Столкнувшись с феноменом естественного редактирования РНК на уровне протеома человека и экспериментальных животных, мы хотим познакомить читателей с этим явлением, поскольку оно может вносить вклад в развитие противовирусных иммунных реакций, участвовать в развитии болезней нервной системы, а также злокачественных опухолей.

### Редактирование РНК в центральной нервной системе

Редактирование РНК особенно активно в центральной нервной системе (ЦНС). Оно ассоциировано преимущественно с работой фермента ADAR2 [1]. Известно, что на белковом уровне такое редактирование вносит точечные замены в последовательность потенциал-управляемых ионных каналов и рецепторов, связанных с G-белками. К хорошо изученным явлениям редактирования можно отнести внесение замены в глутаматные рецепторы групп GluK и GluA. Так, в норме при развитии нервной системы редактирование приводит к замене глутамина на аргинин в одной из субъединиц глутаматных рецепторов. Изменение одной аминокислоты на другую способствует избирательной блокаде входа кальция в клетку через канал. Дефектная субъединица, не подвергшаяся редактированию, пропускает ионы кальция. Нейроны с такой субъединицей подвержены «физиологической» эксайтотоксичности из-за повышения глутамата в синапсе. Как известно, такое явление может приводить к гибели нейронов и являться важным фактором развития некоторых нейродегенеративных расстройств, в частности, распространения спинальной нейродегенерации при боковом амиотрофическом склерозе [5]. Мутации в *adarb1* приводят к эпилепсии и заболеваниям, связанным с дефектами нейронной пластичности, такими как аутизм и синдром Мартина–Белл [4]. Нокаут гена *adarb1*, кодирующего ADAR2, служит причиной возникновения у мышей неотредактированных глутаматных рецепторов и вызывает повышенное возбуждение в головном мозге в виде судорожных припадков, во взрослом возрасте несовместимых с жизнью.

### Редактирование РНК и противовирусный иммунитет

Накоплены разрозненные сведения о том, что активность ADAR1, в отличие от ADAR2, тем или иным образом связана

с иммунитетом, в том числе с ответом на заражение РНК-содержащими вирусами. Показано, что данный фермент может играть роль в механизмах защиты организма против вирусной инфекции и воспаления. Так, ADAR1 редактирует РНК вируса гепатита С, препятствуя его репликации [6]. Кроме того, эта аденозиндезаминаза редактирует в большей степени вирус гриппа по сравнению с вирусом кори, и, с одной стороны, делает его нефункциональным, с другой стороны, может способствовать его мутагенезу и уклонению от иммунитета [7].

Интерферон 1-го типа, как известно, индуцирует ADAR1 в виде повышенного синтеза его длинного сплайс-варианта p150, но такая активность препятствует образованию стрессовых гранул против корового вируса. Таким образом, в целом, считается, что этот фермент препятствует ответу клеток на вирус кори [8].

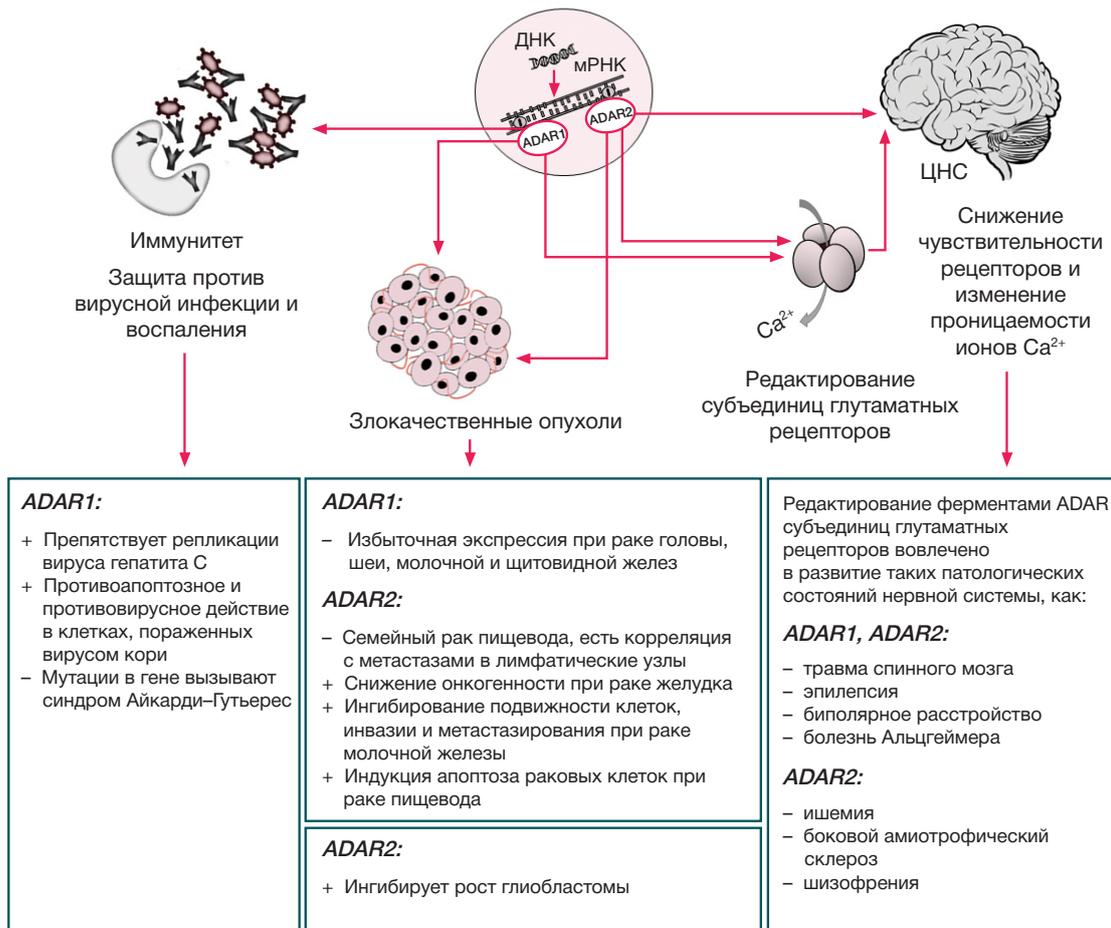
Миссенс-мутации, приводящие к аминокислотным заменам в ADAR1, уменьшают активность редактирования РНК и вызывают синдром Айкарди–Гутьерес, представляющий собой прогрессирующую энцефало- и интерференопатию, которые имитируют вирусную инфекцию [9], что свидетельствует о вовлеченности ADAR1 в иммунный ответ.

### Редактирование РНК при злокачественных опухолях

Недавние исследования, проведенные в ходе проекта The Cancer Genome Atlas (TCGA), способствовали систематизации данных и геномов, и транскриптомов многих типов опухолей [10]. С использованием результатов секвенирования этих и других данных были получены библиотеки событий редактирования. Было выявлено множество таких событий в образцах опухолей по сравнению с соответствующими нормальными тканями. Для большинства опухолевых тканей, например, при раке головы и шеи, молочной железы и щитовидной железы, был характерен повышенный уровень редактирования, что в значительной степени связано с избыточной экспрессией ADAR1 в опухолях [11].

Случаи редактирования РНК в клетках головного мозга учащаются с возрастом, но их количество может уменьшаться при глиобластоме [12]. События редактирования РНК могут способствовать опухолевой прогрессии подобно драйверным соматическим мутациям. Например, в экспериментах как *in vitro*, так и *in vivo* получены сведения о белке, играющем важную роль в клеточном росте и пролиферации благодаря поддержанию гомеостаза полиаминов в клетке. Изменение ингибитора антизима 1 (AZIN1) ферментом ADAR1 превращает серин в глицин в 367 положении. Отредактированный продукт имеет большее сродство к антизиму и индуцирует транслокацию AZIN1 из цитоплазмы в ядро, что приводит к более агрессивному поведению опухолей [13]. Таким образом, отредактированный белок может представлять потенциальную терапевтическую мишень.

Некоторые события редактирования могут выступать в качестве предиктивных маркеров и влиять на ответ при раковой терапии. Например, замена аргинина на глицин в 764 положении белка глутаматного рецептора GRIA2 и изолейцина на валин в 635 положении белка COG3, ответственном за связывание и транспорт везикул между аппаратом Гольджи и эндоплазматическим ретикуломом, повышает чувствительность к ингибиторам киназы митоген-активируемой протеинкиназы (mitogen-activated protein kinase kinase, или MAPKK) [14].



**Рис. 1.** Эффекты действия ферментов класса ADAR при заболеваниях человека. На рисунке изображено участие ферментов класса ADAR в развитии определенных патологий. Так, ADAR1 связан с защитой против вирусных инфекций и воспаления, развитием нескольких видов злокачественных опухолей, а также редактированием глутаматных рецепторов при нормальном развитии ЦНС. ADAR2 оказывает как положительный, так и отрицательный эффект на прогрессию опухоли, а его дефицит может вызывать различные заболевания ЦНС

Онкосупрессорные свойства ADAR2 вызывают особый интерес при исследовании глиобластом. ADAR2-опосредованное редактирование фосфатазы CDC14B, ответственной за повреждение ДНК, может изменять клеточный цикл, в который вовлечены белки Skp2 / p21 / p27, и ингибировать рост глиобластомы [12].

Несмотря на накопленные к настоящему времени знания о ферментах ADAR и их участии в редактировании РНК, значение этого процесса на настоящий момент не во всех случаях определено. В основном, неясно, какие из событий редактирования управляют судьбой транскриптов, какие обеспечивают функциональную пластичность протеома, а какие представляют собой молекулярный шум. Известно, что ADAR действует на очень разнообразные субстраты, которых роднит только наличие двуцепочечной РНК: матричные, короткие и длинные некодирующие РНК, а также вирусные РНК. Масштаб этого явления начинают осознавать лишь в последнее время, с введением полногеномных исследований модификаций РНК [1], результаты которых требуют дальнейшего подтверждения на функциональном уровне.

Таким образом, к настоящему времени известно, что активность ADAR1 связана с противовирусным ответом и управлением реакцией клеток на интерфероны 1-го типа. Имеется общее мнение, что эта активность оказывает провирусное воздействие, а в случае отсутствия вирусов подавляет нежелательный клеточный иммунитет (например, мутации в гене *adar* вызывают синдром Айкарди-

Гутьерес, сопровождающийся детским энцефалитом и интерферопатией). Активность ADAR2, по некоторым данным, связана с регуляцией работы ЦНС, например, в виде возбуждающих стимулов активности (рис. 1).

В литературных источниках также представлены примеры событий редактирования РНК, которые могут играть решающую роль в развитии рака. Вероятно, в некоторой степени активность ADAR1 оказывает онкогенное действие. Отредактированный с помощью этого фермента белок AZIN1 представляет возможную терапевтическую мишень. Белок COG3 в отредактированной форме может выступать в качестве предиктивного маркера и влиять на ответ при раковой терапии [15]. Редактирование мРНК таких белков, как CDC14B, PODXL, GABRA3 и IGFBP7 ферментом ADAR2, вероятно, обладает онкосупрессорными свойствами [4].

**Выводы**

Из описанных выше примеров следует, что эволюционно древний механизм редактирования РНК ферментами ADAR отвечает за разные, пока не до конца изученные функции в процессе эмбрионального развития, особенно в центральной нервной системе. Меняется уровень редактирования многих транскриптов и в патологии, например, при нейродегенеративных заболеваниях и злокачественных опухолях. Требуется дальнейшие исследования механизмов воздействия редактирования РНК на процессы в клетках и тканях. Нужно отличить

действительно значимые события такого редактирования от молекулярного шума. По мере накопления знаний необходимо выяснить, можно ли ферменты ADAR и продукты

их реакции рассматривать в качестве прогностических и предиктивных биомаркеров, а также молекулярных мишеней для терапевтического воздействия.

## Литература

1. Tan MH, Li Q, Shanmugam R, Piskol R, Kohler J, Young AN, et al. Dynamic landscape and regulation of RNA editing in mammals. *Nature*. 2017; (550): 249–54.
2. Basilio C, Wahba AJ, Lengyel P, Speyer JF, Ochoa S. Synthetic polynucleotides and the amino acid code. *V Proc Natl Acad Sci USA*. 1962; (48): 613–6.
3. Liscovitch-Brauer N, Alon S, Porath HT, Elstein B, Unger R, Ziv T, et al. Trade-off between Transcriptome Plasticity and Genome Evolution in Cephalopods. *Cell*. 2017; (169): 191–202.e11.
4. Gallo A, Vukic D, Michalík D, O'Connell MA, Keegan LP. ADAR RNA editing in human disease; more to it than meets the I. *Hum Genet*. 2017; (136): 1265–78.
5. Young PE, Kum Jew S, Buckland ME, Pamphlett R, Suter CM. Epigenetic differences between monozygotic twins discordant for amyotrophic lateral sclerosis (ALS) provide clues to disease pathogenesis. *PLoS One*. 2017; (12): e0182638.
6. Taylor DR, Puig M, Darnell MER, Mihalik K, Feinstone SM. New antiviral pathway that mediates hepatitis C virus replicon interferon sensitivity through ADAR1. *J Virol*. 2005; (79): 6291–8.
7. Suspène R, Petit V, Puyraimond-Zemmour D, Aynaud MM, Henry M, Guétard D, et al. Double-stranded RNA adenosine deaminase ADAR-1-induced hypermutated genomes among inactivated seasonal influenza and live attenuated measles virus vaccines. *J Virol*. 2011; (85): 2458–62.
8. John L, Samuel CE. Induction of stress granules by interferon and down-regulation by the cellular RNA adenosine deaminase ADAR1. *Virology*. 2014; (454–455): 299–310.
9. Crow YJ. Aicardi-Goutières syndrome. *Handb Clin Neurol*. 2013; (113): 1629–35.
10. Tomczak K, Czerwińska P, Wiznerowicz M. The Cancer Genome Atlas (TCGA): an immeasurable source of knowledge. *Contemp Oncol (Poznan, Poland)*. 2015; (19): A68–77.
11. Peng X, Xu X, Wang Y, Hawke DH, Yu S, Han L, et al. A-to-I RNA Editing Contributes to Proteomic Diversity in Cancer. *Cancer Cell*. 2018; (33): 817–828.e7.
12. Galeano F, Rossetti C, Tomaselli S, Cifaldi L, Lezzerini M, Pezzullo M, et al. ADAR2-editing activity inhibits glioblastoma growth through the modulation of the CDC14B/Skp2/p21/p27 axis. *Oncogene*. 2013; (32): 998–1009.
13. Chen L, Li Y, Lin CH, Chan THM, Chow RKK, Song Y, et al. Recoding RNA editing of AZIN1 predisposes to hepatocellular carcinoma. *Nat Med*. 2013; (19): 209–16.
14. Han L, Diao L, Yu S, Xu X, Li J, Zhang R, et al. The Genomic Landscape and Clinical Relevance of A-to-I RNA Editing in Human Cancers. *Cancer Cell*. 2015; (28): 515–28.
15. Xu X, Wang Y, Liang H. The role of A-to-I RNA editing in cancer development. *Curr Opin Genet Dev*. 2018; (48): 51–6.

## References

1. Tan MH, Li Q, Shanmugam R, Piskol R, Kohler J, Young AN, et al. Dynamic landscape and regulation of RNA editing in mammals. *Nature*. 2017; (550): 249–54.
2. Basilio C, Wahba AJ, Lengyel P, Speyer JF, Ochoa S. Synthetic polynucleotides and the amino acid code. *V Proc Natl Acad Sci USA*. 1962; (48): 613–6.
3. Liscovitch-Brauer N, Alon S, Porath HT, Elstein B, Unger R, Ziv T, et al. Trade-off between Transcriptome Plasticity and Genome Evolution in Cephalopods. *Cell*. 2017; (169): 191–202.e11.
4. Gallo A, Vukic D, Michalík D, O'Connell MA, Keegan LP. ADAR RNA editing in human disease; more to it than meets the I. *Hum Genet*. 2017; (136): 1265–78.
5. Young PE, Kum Jew S, Buckland ME, Pamphlett R, Suter CM. Epigenetic differences between monozygotic twins discordant for amyotrophic lateral sclerosis (ALS) provide clues to disease pathogenesis. *PLoS One*. 2017; (12): e0182638.
6. Taylor DR, Puig M, Darnell MER, Mihalik K, Feinstone SM. New antiviral pathway that mediates hepatitis C virus replicon interferon sensitivity through ADAR1. *J Virol*. 2005; (79): 6291–8.
7. Suspène R, Petit V, Puyraimond-Zemmour D, Aynaud MM, Henry M, Guétard D, et al. Double-stranded RNA adenosine deaminase ADAR-1-induced hypermutated genomes among inactivated seasonal influenza and live attenuated measles virus vaccines. *J Virol*. 2011; (85): 2458–62.
8. John L, Samuel CE. Induction of stress granules by interferon and down-regulation by the cellular RNA adenosine deaminase ADAR1. *Virology*. 2014; (454–455): 299–310.
9. Crow YJ. Aicardi-Goutières syndrome. *Handb Clin Neurol*. 2013; (113): 1629–35.
10. Tomczak K, Czerwińska P, Wiznerowicz M. The Cancer Genome Atlas (TCGA): an immeasurable source of knowledge. *Contemp Oncol (Poznan, Poland)*. 2015; (19): A68–77.
11. Peng X, Xu X, Wang Y, Hawke DH, Yu S, Han L, et al. A-to-I RNA Editing Contributes to Proteomic Diversity in Cancer. *Cancer Cell*. 2018; (33): 817–828.e7.
12. Galeano F, Rossetti C, Tomaselli S, Cifaldi L, Lezzerini M, Pezzullo M, et al. ADAR2-editing activity inhibits glioblastoma growth through the modulation of the CDC14B/Skp2/p21/p27 axis. *Oncogene*. 2013; (32): 998–1009.
13. Chen L, Li Y, Lin CH, Chan THM, Chow RKK, Song Y, et al. Recoding RNA editing of AZIN1 predisposes to hepatocellular carcinoma. *Nat Med*. 2013; (19): 209–16.
14. Han L, Diao L, Yu S, Xu X, Li J, Zhang R, et al. The Genomic Landscape and Clinical Relevance of A-to-I RNA Editing in Human Cancers. *Cancer Cell*. 2015; (28): 515–28.
15. Xu X, Wang Y, Liang H. The role of A-to-I RNA editing in cancer development. *Curr Opin Genet Dev*. 2018; (48): 51–6.

## ВЫСОКОСКОРОСТНОЙ КОММУНИКАЦИОННЫЙ ИНТЕРФЕЙС МОЗГ-КОМПЬЮТЕР НА ОСНОВЕ КОДИРОВАННЫХ ЗРИТЕЛЬНЫХ ВЫЗВАННЫХ ПОТЕНЦИАЛОВ

Р. К. Григорян<sup>1</sup> ✉, Д. Б. Филатов<sup>1,2</sup>, А. Я. Каплан<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Биологический факультет, Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, Москва, Россия

<sup>2</sup> Механико-математический факультет, Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, Москва, Россия

Технологии интерфейсов мозг-компьютер (ИМК) активно используют в клинической практике для обеспечения коммуникации с пациентами, не способными к речи и движениям. Ввод команд в компьютер посредством таких интерфейсов осуществляют на основе выделения в ЭЭГ вызванных потенциалов в ответ на значимые для пользователя стимулы, например подсвеченные на экране буквы. Целью работы было исследовать показатели ЭЭГ и эффективность ввода команд в перспективном типе ИМК на основе так называемых кодированных вызванных потенциалов, возникающих в ответ на определенную последовательность подсветок нужной буквы. На 15 здоровых добровольцах изучали работу такого интерфейса на разных скоростях подачи стимульных последовательностей при их инвертировании, когда подсветку и ее отсутствие меняли местами. Показано, что оптимальное значение скорости стимуляции имеет значительную индивидуальную вариабельность, а инверсия стимульной последовательности не оказывает влияния на работу интерфейса. Медианная точность выбора команд составила: в режимах с циклом стимуляции 1 с — 0,96 и 0,95 (скорость передачи информации 142 и 141 бит/мин); в режиме со стимульным циклом 2 с — 1; с циклом 0,5 с — 0,33. Максимальную выраженность вызванных потенциалов наблюдали в отведении Oz. Сделано предположение о том, что оптимизация нейроинтерфейсов на основе кодированных вызванных потенциалов возможна на основе индивидуального подбора параметров стимуляции.

**Ключевые слова:** нейроинтерфейсы, вызванные потенциалы, ЭЭГ, электроэнцефалограмма, ИМК, интерфейс мозг-компьютер, нарушения речи, КЗВП, кодированные зрительные вызванные потенциалы

**Информация о вкладе авторов:** Р. К. Григорян — планирование и проведение эксперимента, обработка данных, подготовка статьи; Д. Б. Филатов — планирование эксперимента, разработка программного обеспечения (ПО), подготовка статьи; А. Я. Каплан — постановка задачи, планирование эксперимента, руководство проведением исследования, подготовка статьи.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено этической комиссией Биологического факультета МГУ имени М. В. Ломоносова (протокол № 29-ч от 11 декабря 2015 г.); испытуемые подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

✉ **Для корреспонденции:** Рафаэль Каренович Григорян  
ул. Ленинские горы, д. 1, стр. 12, г. Москва, 119234; grraph.bio@gmail.com

**Статья получена:** 29.07.2018 **Статья принята к печати:** 24.03.2019 **Опубликована онлайн:** 04.04.2019

**DOI:** 10.24075/vrgmu.2019.019

## HIGH-SPEED BRAIN-COMPUTER COMMUNICATION INTERFACE BASED ON CODE-MODULATED VISUAL EVOKED POTENTIALS

Grigoryan RK<sup>1</sup> ✉, Filatov DB<sup>1,2</sup>, Kaplan AY<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

<sup>2</sup> Department of Mechanics and Mathematics, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

Brain-computer interface (BCI) technologies are actively used in clinical practice to communicate with patients unable to speak and move. Such interfaces imply identifying potentials evoked by stimuli meaningful to the patient in his/her EEG and interpreting these potentials into inputs for the communication software. The stimuli can take form of highlighted letters on a screen, etc. This study aimed to investigate EEG indicators and assess the command input performance of a promising type of BCI utilizing the so-called code-modulated visual evoked potentials (CVEP) appearing in response to a certain sequence of highlights of the desired letter. The operation of the interface was studied on 15 healthy volunteers. During the experiments, we changed the speed of stimuli demonstration and inverted the order of flashing. It was established that the optimal speed of stimulation significantly depends on individual traits of the person receiving the stimuli, and inversion of their sequence does not affect operation of the interface. The median accuracy of selection of commands was as follows: 1 s stimulation cycle mode — 0.96 and 0.95 (information transfer rate 142 and 141 bit per minute); 2 s stimulation cycle mode — 1; 0.5 s cycle — 0.33. The evoked potentials were most expressed at the Oz site. It was assumed that CVEP-based brain-computer interfaces can be optimized through individualization of the set of stimulation parameters.

**Keywords:** neurocomputer interfaces, evoked potentials, EEG, Electroencephalogram, BCI, brain-computer interfaces, speech disorders, CVEP, code-modulated visual evoked potentials

**Author contribution:** Grigoryan RK — experiment planning and conducting, data processing, article authoring; Filatov DB — experiment planning, software development, article authoring; Kaplan AY — task setting, experiment planning, general research effort management, article authoring.

**Compliance with ethical standards:** the study was approved by the ethical commission of the Lomonosov Moscow State University's Faculty of Biology (Protocol № 29-ch of December 11 2015); the participants signed a voluntary informed consent.

✉ **Correspondence should be addressed:** Rafael K. Grigoryan  
Leninskie Gory 1, bld. 12, Moscow, 119234; grraph.bio@gmail.com

**Received:** 29.07.2018 **Accepted:** 24.03.2019 **Published online:** 04.04.2019

**DOI:** 10.24075/brsmu.2019.019

Интерфейс мозг-компьютер (ИМК) — это технология, позволяющая пациентам с нарушениями речи и движений управлять компьютером посредством анализа коррелятов нервной деятельности. Использование ИМК требует от пользователя фокусирование внимания либо на внутренних образах, например, движениях собственной конечности,

либо на экранных объектах, в частности, нужных в данный момент букв, и выделения специфических ЭЭГ-маркеров этих ментальных действий [1–3]. Интерфейсы на основе зрительных потенциалов, вызываемых, к примеру, подсветками экранных объектов, позволяют детектировать по ЭЭГ большое число команд, соответствующих числу стимульных экранных

объектов. В традиционном исполнении этой технологии в качестве ЭЭГ-маркера внимания пользователя к нужному ему объекту используют компонент П300, возникающий на подсветку именно этого объекта, например нужной буквы [4, 5]. В последнее время подобные нейроинтерфейсы входят в практику медицинской реабилитации в качестве устройств для замещения коммуникации у пациентов с тяжелыми нарушениями речи и движений [6]. Эти системы обеспечивают достаточно высокую надежность выбора команд когнитивно сохраненными пациентами, однако имеют недостаток — сравнительно низкую скорость работы. Так, в сравнительном исследовании работы ИМК у пациентов с боковым амиотрофическим склерозом и у здоровых испытуемых было показано, что скорость печати текста не поднималась выше 2–3 букв в минуту при 14-кратном повторе каждого целевого объекта. При достигнутой обеими группами точности больше 95% это соответствует скорости передачи информации 11–14 бит/мин [7]. Такая низкая скорость передачи информации посредством ИМК не может обеспечить комфортное использование нейроинтерфейсов на основе компонента П300 даже здоровыми людьми. Новые перспективы в повышении скорости нейроинтерфейсов открывает использование в ИМК кодированных зрительных потенциалов (КЗВП) — совокупной реакции ЭЭГ на специальные последовательности подсветок нужного экранного объекта с неравными интервалами. В результате стимуляции такой последовательностью в ЭЭГ регистрируется зрительный вызванный потенциал стабильного состояния. Этот вызванный потенциал синхронизирован по фазе со стимуляцией, так же как и при стимуляции с постоянной частотой, которая лежит в основе ИМК на основе SSVEP (steady-state visual evoked potentials). За счет синхронизации по фазе вызванный потенциал до некоторой степени сохраняет свойства стимульной последовательности, в частности цикличность, автокорреляционные и спектральные характеристики. Если использовать для презентации нескольких зрительных стимулов несколько разных последовательностей, которые будут минимально коррелировать между собой, то можно различать вызванные потенциалы, соответствующие разным стимулам при помощи корреляционного анализа. Существуют различные наборы бинарных последовательностей с подходящими кросс-корреляционными свойствами, такие как коды Голда, коды Баркера и *m*-последовательности. Всех их применяют для разделения сигналов на одной несущей частоте в различных приложениях, в частности в мобильной связи и спутниковой навигации.

*M*-последовательность — это псевдослучайная двоичная последовательность, одной из особенностей которой является наличие единственного пика автокорреляционной функции при нулевом сдвиге. Одна *m*-последовательность способна при циклическом сдвиге породить несколько последовательностей, не скоррелированных между собой. Эта особенность облегчает ее использование в ИМК при большом количестве стимулов, так как позволяет сократить длительность обучения классификатора. Для различения вызванных потенциалов, соответствующих разным стимулам, необходимо собрать обучающую выборку с потенциалами, возникающими в ответ на каждый стимул. При использовании для каждого стимула своей бинарной последовательности, порожденной одной *m*-последовательностью, достаточно получить эталонный вызванный потенциал только на нее, после чего обнаруживать

целевой стимул по сдвигу пика корреляционной функции между пространственно отфильтрованными участками записываемой ЭЭГ и эталонным вызванным потенциалом. В результате продолжительность обучения не зависит от количества разных стимулов, что позволяет использовать достаточное для печати текста количество стимулов.

С помощью канонического корреляционного анализа в ЭЭГ можно при небольшом числе повторов циклов активации стимулов (не более 2–3) с высокой надежностью обнаружить короткие эпизоды кодированных вызванных потенциалов, синхронных с подсветками нужного на данный момент экранного объекта. Такие ИМК могут обеспечивать скорость передачи информации более 100 бит/мин [8]. Кодированные вызванные потенциалы могут быть получены как на ЭЭГ, так и на электрокортикограмме [9] и использоваться для оптимизации работы ИМК с учетом потенциалов, связанных с ошибками [10], а также с использованием вариаций цветовой гаммы в стимульной среде [11].

С целью поиска оптимальных режимов кодированных подсветок экранных объектов в ИМК в настоящей работе тестировали работу оператора ИМК при различных последовательностях подсветок стимулов, а также при разной скорости их подачи.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### Испытуемые

В исследовании приняли участие 15 здоровых добровольцев (7 женщин и 8 мужчин) в возрасте 18–30 лет. Критерии включения пациентов в исследование: отсутствие истории неврологического заболевания, в том числе эпилепсии; нормальное или скорректированное зрение. Критерии исключения: иной возраст; неврологические заболевания в анамнезе; проблемы со зрением.

### Регистрация ЭЭГ

Запись биопотенциалов производили с помощью усилителя ЭЭГ «Нейровизор БММ» (Медицинские Компьютерные Системы; Россия). Использовали 22 отведения (FCz, C3, C1, Cz, C2, C4, CP3, CP1, CPz, CP2, CP4, P5, P3, Pz, P4, P6, PO3, POz, PO4, O1, Oz, O2) с AFz в качестве заземляющего электрода и двух усредненных ушных электродов в качестве референта. Перед записью производили проверку межэлектродного сопротивления, запись начинали после того, как сопротивление было доведено до значений не более 10 КОм. Частота дискретизации составляла 500 Гц.

### Экспериментальная установка

Управление экспериментом производили с компьютера с помощью специально разработанного авторами программного обеспечения (ПО) на языке C++. Стимулы демонстрировали испытуемому на 24-дюймовом мониторе с частотой обновления 120 Гц. Испытуемый располагался в кресле на расстоянии примерно 60 см от монитора. Для обеспечения синхронности записи ЭЭГ и представления стимулов был использован фотодатчик.

### Визуальная среда

Испытуемому предъявляли визуальную среду, состоящую из 32 квадратных ячеек с буквами на черном фоне,



## Обработка результатов

Обработку результатов производили с помощью пакета *scipy* 1.1.0 [12]. Для построения корреляционных карт применяли нормализованную кросс-корреляцию. Для попарных сравнений применяли критерий Уилкоксона с поправкой Хольма–Шидака на множественные сравнения.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### Оценка точности классификации и скорости передачи информации

Медианная точность выбора команд в ходе эксперимента достигала 1 в медленном режиме с периодом *m*-последовательности в 2 с (рис. 1). В режимах с базовой и инвертированной *m*-последовательностью точность составила, соответственно, 0,96 и 0,95. В быстром режиме медианная точность составила 0,33. Это делает его единственным режимом, точность работы в котором статистически значимо отличается от всех остальных при использовании поправки на множественное сравнение

( $p < 0,05$ ). Однако в этом режиме у одного испытуемого была достигнута точность 0,96. Такой результат нельзя объяснить случайными причинами, так как это число является результатом ввода 32 команд.

Важной характеристикой ИМК, помимо точности, служит скорость ввода команд. Для режимов с периодом *m*-последовательности в 1 с медианное время, которое требовалось для определения одной команды, составляло 2 с. Для медленного режима этот показатель составил 3,5 с, а для быстрого — 1,2 с.

Интегративным показателем качества работы ИМК, который объединяет точность и скорость выбора команд, служит скорость передачи информации. В данной работе она рассчитана по определению Шеннона, примененного для нейрокомпьютерных интерфейсов [13]. Медианная скорость передачи информации в режимах с базовой и инвертированной последовательностями составила 141 и 142 бит/мин, в медленном режиме 93 бит/мин. Самый низкий показатель скорости передачи информации был достигнут в быстром режиме — 37 бит/мин. Это вызвано низкой точностью выбора команд. Примечательно, что в этом же режиме у единственного пользователя,

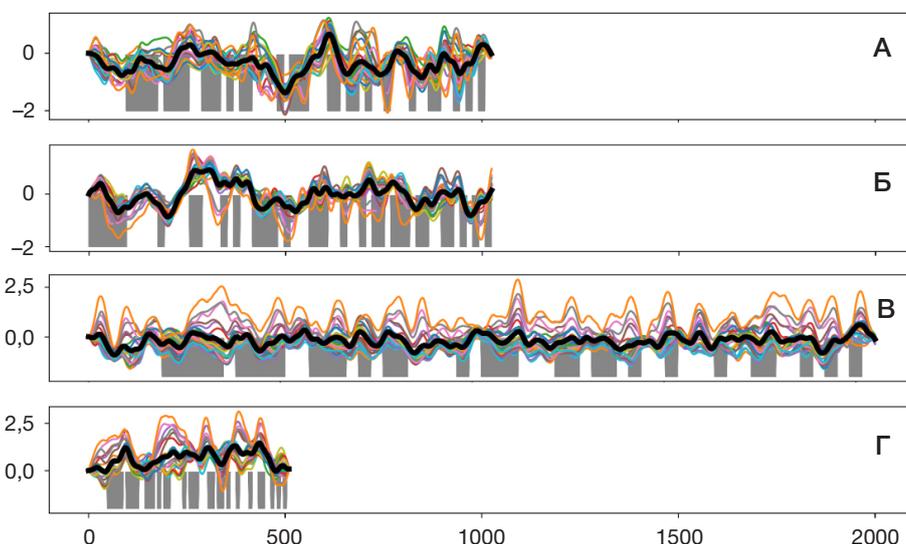


Рис. 2. Полученные в ходе стимуляции усредненные вызванные потенциалы во всех отведениях, приведенные к нулевому сдвигу относительно базовой *m*-последовательности. Серым цветом показана стимульная последовательность. Одна кривая соответствует одному каналу усредненной ЭЭГ. Черным цветом обозначен усредненный между всеми каналами потенциал

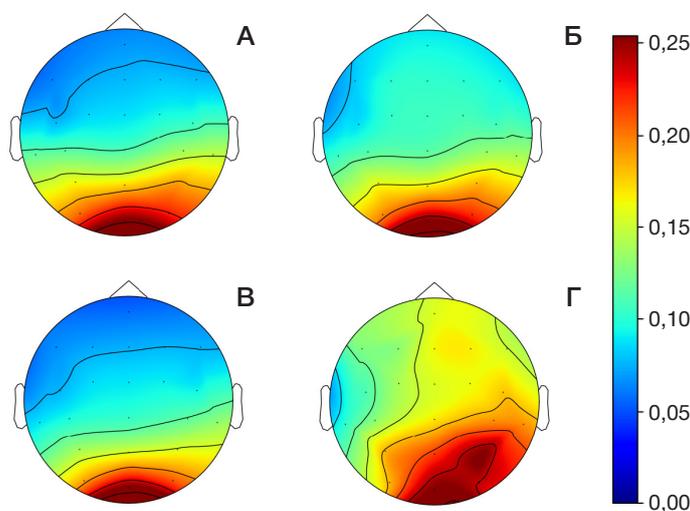


Рис. 3. Усредненные для всех испытуемых и циклов стимуляции карты максимумов корреляционной функции для усредненного в каждом канале вызванного потенциала (рис. 2) и отдельных вызванных потенциалов на одиночные *m*-последовательности. Данный показатель позволяет оценить выраженность потенциала во всех отведениях

который смог точно вводить команды, достигнут и самый высокий показатель — 287 бит/мин при времени ввода команд, составившем 1 с, и точности, равной 0,96. Скорость передачи информации в режиме с периодом  $m$ -последовательности в 1 с значимо отличалась от медленного режима ( $Z = 2,7; p = 0,019$ ).

### Форма вызванных потенциалов и топографическое распределение вызванной активности

На рис. 2 представлена восстановленная для  $m$ -последовательности с нулевым сдвигом форма кодированных вызванных потенциалов, усредненных относительно первого бита последовательности.

В качестве количественной характеристики была использована корреляция между усредненным вызванным потенциалом и одиночными потенциалами, соответствующими одиночным  $m$ -последовательностям. На рис. 3 отражены амплитудные карты максимальных значений нормализованных кросс-корреляций между усредненными вызванными потенциалами и реакциями на одиночные последовательности.

Заметно, что вызванные потенциалы демонстрируют максимальную степень сходства между собой в затылочных отведениях. Так, во всех режимах, в которых была достигнута высокая точность выбора команд, самая высокая степень корреляции выражена в отведении Oz. Максимальная корреляция выявлена в 8 каналах: P4, P6, PO3, POz, PO4, O1, O2, Oz. Абсолютные значения максимумов кросс-корреляций не демонстрируют значимых различий между режимами при сравнении в соответствующих каналах. Менее четкая локализация вызванных потенциалов в быстром режиме, возможно, служит одной из причин худших результатов, достигнутых испытуемыми.

### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты исследования ИМК на основе КЗВП позволяют продемонстрировать ряд интересных закономерностей, которые играют роль в построении качественного медицинского нейрокоммуникатора для широкого круга пациентов. В первую очередь, это соотношение между скоростью, точностью ввода и общей скоростью передачи информации в конкретной модификации интерфейса. Очевидно, что главной характеристикой ИМК для пользователя является скорость передачи информации. Полученные данные свидетельствуют о том, что скорость передачи информации у ИМК данного типа в несколько раз выше, чем у традиционного для нейрокоммуникации ИМК-P300, что создает перспективу внедрения этого типа интерфейсов в клиническую практику. Скорость передачи информации в первых трех режимах находится в привычных рамках для этого типа интерфейсов [8, 14]. Важным фактом является необычно

высокая скорость передачи информации в 287 бит/мин, достигнутая одним из пользователей в быстром режиме, который для большинства испытуемых вызвал большие затруднения. Несмотря на уникальность в рамках выборки, этот результат дает повод к разработке ИМК с тонкой подстройкой параметров под индивидуальные особенности пользователей, чтобы найти комбинации параметров (в частности, скорости стимуляции), оптимальные для каждого конкретного пациента. Такой подход может помочь преодолеть известные проблемы переноса лабораторных разработок с участием здоровых испытуемых в клиническую практику [15], а также так называемую ИМК-неграмотность, когда испытуемые оказываются неспособными освоить работу в ИМК [16]. Эти проблемы предлагается решать разными способами, в том числе модификацией тренировочной стадии [17] и индивидуализацией интерфейсов. Тонкая настройка несущей частоты  $m$ -последовательности и ее периода могла бы помочь найти оптимальные значения, которые максимизируют скорость передачи информации для каждого конкретного пользователя. В частности, подобный подход уже используется для настройки ИМК-P300 [18]. К сожалению, современные мониторы, даже с высокой частотой обновления, не позволяют достаточно гибко настраивать частоту периода стимульной последовательности для ИМК с кодированными вызванными потенциалами. В настоящей работе, к примеру, оказалось невозможным продемонстрировать пользователю последовательность с периодом в 0,8 с. Кажется целесообразным предложить создание специализированного устройства для демонстрации стимулов. Такие попытки для нейроинтерфейсов на основе кодированных вызванных потенциалов уже были предприняты [19], но конкретные представленные реализации обеспечивают низкую скорость передачи информации за счет малого количества стимулов.

### ВЫВОДЫ

Результаты настоящего исследования свидетельствуют о том, что для оптимизации работы испытуемых в ИМК требуется тщательный подбор параметров в зависимости от индивидуальных особенностей пользователей. Было продемонстрировано, что инверсия кодирующей стимульной последовательности не влияет на точность выбора команд испытуемыми, а это свидетельствует о возможности использования режимов прямой и инвертированной стимуляции с равным успехом. В то же время более быстрые режимы работы ИМК с последовательностями в два раза более короткими оказались неоптимальными для большинства испытуемых. Обнаруженные в работе значительные индивидуальные различия показателей точности и скорости передачи информации позволяют предположить, что возможна оптимизация ИМК за счет более тонкой настройки ИМК под конкретного пациента.

### Литература

1. Kaplan AY. Neurophysiological foundations and practical realizations of the brain-machine interfaces in the technology in neurological rehabilitation. *Hum Physiol*. 2016 Jan 23; 42 (1): 103–10.
2. Wolpaw JR, Birbaumer N, McFarland DJ, Pfurtscheller G, Vaughan TM. Brain-computer interfaces for communication and control. *Clin Neurophysiol* [Internet]. 2002 Jun; 113 (6): 767–91. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12048038>.
3. Jeunet C, Lotte F, Batail J-M, Philip P, Micoulaud Franchi J-A. Using Recent BCI Literature to Deepen our Understanding of Clinical Neurofeedback: A Short Review. *Neuroscience* [Internet].

- 2018 May 15 [cited 2018 Jul 24]; (378): 225–33. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0306452218302045>.
4. Akram F, Han H-S, Kim T-S. A P300-based brain computer interface system for words typing. *Comput Biol Med* [Internet]. 2014 Feb [cited 2014 Jun 1]; (45): 118–25. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24480171>.
  5. Yeom SK, Fazli S, Ller KRM, Lee SW. An efficient ERP-based brain-computer interface using random set presentation and face familiarity. *PLoS One*. 2014; 9 (11): 1–13.
  6. Guger C, Allison BZ, Edlinger G. Emerging BCI Opportunities from a Market Perspective. In Springer, Dordrecht; 2014 [cited 2018 Jul 16]: 85–98. Available from: [http://link.springer.com/10.1007/978-94-017-8996-7\\_7](http://link.springer.com/10.1007/978-94-017-8996-7_7).
  7. McCane LM, Heckman SM, McFarland DJ, Townsend G, Mak JN, Sellers EW, et al. P300-based brain-computer interface (BCI) event-related potentials (ERPs): People with amyotrophic lateral sclerosis (ALS) vs. age-matched controls. *Clin Neurophysiol* [Internet]. 2015 Nov 1 [cited 2018 Jul 16]; 126 (11): 2124–31. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S138824571500067X>.
  8. Bin G, Gao X, Wang Y, Li Y, Hong B, Gao S. A high-speed BCI based on code modulation VEP. *J Neural Eng*. 2011; 8 (2): 025015.
  9. Kapeller C, Kamada K, Ogawa H, Prueckl R, Scharinger J, Guger C. An electrocorticographic BCI using code-based VEP for control in video applications: a single-subject study. *Front Syst Neurosci* [Internet]. 2014 Aug 7 [cited 2018 Jul 17]; (8): 139. Available from: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fnsys.2014.00139/abstract>.
  10. Spüler M, Rosenstiel W, Bogdan M. Online Adaptation of a c-VEP Brain-Computer Interface(BCI) Based on Error-Related Potentials and Unsupervised Learning. Baumert M, editor. *PLoS One* [Internet]. 2012 Dec 7 [cited 2018 Jul 17]; 7 (12): e51077. Available from: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0051077>.
  11. Nezamfar H, Salehi SSM, Erdogmus D. Stimuli with opponent colors and higher bit rate enable higher accuracy for C-VEP BCI. In: 2015 IEEE Signal Processing in Medicine and Biology Symposium (SPMB) [Internet]. IEEE; 2015 [cited 2018 Jul 17]: 1–6. Available from: <http://ieeexplore.ieee.org/document/7405476/>.
  12. Jones E, Oliphant T, Peterson P. {SciPy}: Open source scientific tools for {Python}. 2001.
  13. Yuan P, Gao X, Allison B, Wang Y, Bin G, Gao S. A study of the existing problems of estimating the information transfer rate in online brain-computer interfaces. *J Neural Eng* [Internet]. 2013 Apr 1 [cited 2018 Jul 16]; 10 (2): 026014. Available from: <http://stacks.iop.org/1741-2552/10/i=2/a=026014?key=crossref.0e89a1992040af23792558b5b8301c22>.
  14. Wei Q, Gong H, Lu Z. Grouping modulation with different codes for improving performance in cVEP-based brain-computer interfaces. *Electron Lett*. 2017 Jan 10; 53 (4): 214–6.
  15. Kleih SC, Kaufmann T, Zickler C, Halder S, Leotta F, Cincotti F, et al. Out of the frying pan into the fire—the P300-based BCI faces real-world challenges. *Prog Brain Res* [Internet]. 2011 Jan 1 [cited 2018 Jul 16]; (194): 27–46. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780444538154000194>.
  16. Spezialetti M, Cinque L, Tavares JMRS, Placidi G. Towards EEG-based BCI driven by emotions for addressing BCI-illiteracy: a meta-analytic review. *Behav Inf Technol* [Internet]. 2018 Aug 3 [cited 2018 Jul 16]; 37 (8): 855–71. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/0144929X.2018.1485745>.
  17. Jeunet C, Cellard A, Subramanian S, Hachet M, N'Kaoua B, Lotte F. How Well Can We Learn With Standard BCI Training Approaches? A Pilot Study. 2014 [cited 2018 Jul 16]; Available from: <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01052692/>.
  18. Carabalona R. The Role of the Interplay between Stimulus Type and Timing in Explaining BCI-Illiteracy for Visual P300-Based Brain-Computer Interfaces. *Front Neurosci* [Internet]. 2017 Jun 30 [cited 2018 Jul 16]; (11): 363. Available from: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fnins.2017.00363/full>.
  19. Aminaka D, Rutkowski TM. A Sixteen-Command and 40 Hz Carrier Frequency Code-Modulated Visual Evoked Potential BCI. In Springer, Cham; 2017 [cited 2018 Jul 16]: 97–104. Available from: [http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-64373-1\\_10](http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-64373-1_10).

## References

1. Kaplan AY. Neurophysiological foundations and practical realizations of the brain-machine interfaces in the technology in neurological rehabilitation. *Hum Physiol*. 2016 Jan 23; 42 (1): 103–10.
2. Wolpaw JR, Birbaumer N, McFarland DJ, Pfurtscheller G, Vaughan TM. Brain-computer interfaces for communication and control. *Clin Neurophysiol* [Internet]. 2002 Jun; 113 (6): 767–91. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12048038>.
3. Jeunet C, Lotte F, Batail J-M, Philip P, Micoulaud Franchi J-A. Using Recent BCI Literature to Deepen our Understanding of Clinical Neurofeedback: A Short Review. *Neuroscience* [Internet]. 2018 May 15 [cited 2018 Jul 24]; (378): 225–33. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0306452218302045>.
4. Akram F, Han H-S, Kim T-S. A P300-based brain computer interface system for words typing. *Comput Biol Med* [Internet]. 2014 Feb [cited 2014 Jun 1]; (45): 118–25. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24480171>.
5. Yeom SK, Fazli S, Ller KRM, Lee SW. An efficient ERP-based brain-computer interface using random set presentation and face familiarity. *PLoS One*. 2014; 9 (11): 1–13.
6. Guger C, Allison BZ, Edlinger G. Emerging BCI Opportunities from a Market Perspective. In Springer, Dordrecht; 2014 [cited 2018 Jul 16]: 85–98. Available from: [http://link.springer.com/10.1007/978-94-017-8996-7\\_7](http://link.springer.com/10.1007/978-94-017-8996-7_7).
7. McCane LM, Heckman SM, McFarland DJ, Townsend G, Mak JN, Sellers EW, et al. P300-based brain-computer interface (BCI) event-related potentials (ERPs): People with amyotrophic lateral sclerosis (ALS) vs. age-matched controls. *Clin Neurophysiol* [Internet]. 2015 Nov 1 [cited 2018 Jul 16]; 126 (11): 2124–31. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S138824571500067X>.
8. Bin G, Gao X, Wang Y, Li Y, Hong B, Gao S. A high-speed BCI based on code modulation VEP. *J Neural Eng*. 2011; 8 (2): 025015.
9. Kapeller C, Kamada K, Ogawa H, Prueckl R, Scharinger J, Guger C. An electrocorticographic BCI using code-based VEP for control in video applications: a single-subject study. *Front Syst Neurosci* [Internet]. 2014 Aug 7 [cited 2018 Jul 17]; (8): 139. Available from: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fnsys.2014.00139/abstract>.
10. Spüler M, Rosenstiel W, Bogdan M. Online Adaptation of a c-VEP Brain-Computer Interface(BCI) Based on Error-Related Potentials and Unsupervised Learning. Baumert M, editor. *PLoS One* [Internet]. 2012 Dec 7 [cited 2018 Jul 17]; 7 (12): e51077. Available from: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0051077>.
11. Nezamfar H, Salehi SSM, Erdogmus D. Stimuli with opponent colors and higher bit rate enable higher accuracy for C-VEP BCI. In: 2015 IEEE Signal Processing in Medicine and Biology Symposium (SPMB) [Internet]. IEEE; 2015 [cited 2018 Jul 17]: 1–6. Available from: <http://ieeexplore.ieee.org/document/7405476/>.
12. Jones E, Oliphant T, Peterson P. {SciPy}: Open source scientific tools for {Python}. 2001.
13. Yuan P, Gao X, Allison B, Wang Y, Bin G, Gao S. A study of the existing problems of estimating the information transfer rate in online brain-computer interfaces. *J Neural Eng* [Internet]. 2013 Apr 1 [cited 2018 Jul 16]; 10 (2): 026014. Available from: <http://stacks.iop.org/1741-2552/10/i=2/a=026014?key=crossref.0e89a1992040af23792558b5b8301c22>.
14. Wei Q, Gong H, Lu Z. Grouping modulation with different codes for improving performance in cVEP-based brain-computer interfaces. *Electron Lett*. 2017 Jan 10; 53 (4): 214–6.
15. Kleih SC, Kaufmann T, Zickler C, Halder S, Leotta F, Cincotti F, et al. Out of the frying pan into the fire—the P300-based BCI faces real-world challenges. *Prog Brain Res* [Internet]. 2011 Jan 1

- [cited 2018 Jul 16]; (194): 27–46. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780444538154000194>.
16. Spezialetti M, Cinque L, Tavares JMRS, Placidi G. Towards EEG-based BCI driven by emotions for addressing BCI-illiteracy: a meta-analytic review. *Behav Inf Technol* [Internet]. 2018 Aug 3 [cited 2018 Jul 16]; 37 (8): 855–71. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/0144929X.2018.1485745>.
  17. Jeunet C, Cellard A, Subramanian S, Hachet M, N’Kaoua B, Lotte F. How Well Can We Learn With Standard BCI Training Approaches? A Pilot Study. 2014 [cited 2018 Jul 16]; Available from: <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01052692/>.
  18. Carabalona R. The Role of the Interplay between Stimulus Type and Timing in Explaining BCI-Illiteracy for Visual P300-Based Brain-Computer Interfaces. *Front Neurosci* [Internet]. 2017 Jun 30 [cited 2018 Jul 16]; (11): 363. Available from: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fnins.2017.00363/full>.
  19. Aminaka D, Rutkowski TM. A Sixteen-Command and 40 Hz Carrier Frequency Code-Modulated Visual Evoked Potential BCI. In Springer, Cham; 2017 [cited 2018 Jul 16]: 97–104. Available from: [http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-64373-1\\_10](http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-64373-1_10).

## АДАПТАЦИЯ ТЕХНОЛОГИИ ИНТЕРФЕЙСОВ МОЗГ-КОМПЬЮТЕР НА ВОЛНЕ P300 ДЛЯ ОЦЕНКИ СОСТОЯНИЯ БОЛЬНЫХ НЕРВНОЙ АНОРЕКСИЕЙ

И. П. Ганин<sup>1</sup>✉, Е. А. Косиченко<sup>1</sup>, А. В. Соколов<sup>2,3</sup>, О. М. Иоаннисянц<sup>2</sup>, И. М. Арефьев<sup>2</sup>, А. Я. Басова<sup>2,3</sup>, А. Я. Каплан<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Биологический факультет, Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, Москва, Россия

<sup>2</sup> Научно-практический центр психического здоровья детей и подростков имени Г. Е. Сухаревой, Москва, Россия

<sup>3</sup> Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва, Россия

Интерфейс мозг-компьютер на основе волны P300 (ИМК-P300) позволяет с помощью показателей электроэнцефалограммы (ЭЭГ), полученных при реакции на заданный заранее стимул, активировать соответствующую целевую команду. С помощью аналогичного алгоритма можно выделить из окружающего контекста субъективно выделяющийся по эмоциональным характеристикам стимул даже без привлечения к нему активного внимания. Такие системы позволяют оценивать значимость для человека определенной информации, что можно использовать при диагностике нарушений эмоционального восприятия или системы ценностей, например, при нарушениях пищевого поведения. Целью исследования было изучить ЭЭГ-реакции на предъявление стимулов различной эмоциональной значимости больным с диагнозом F50.0 «Нервная анорексия» ( $n = 12$ , возраст 11–16 лет) и проверить гипотезу о возможном детектировании фокуса внимания к субъективно значимым стимулам на основе ИМК-P300. Критерии включения пациентов в исследование: наличие диагноза F50.0 «Нервная анорексия»; период реабилитации. Регистрировали ЭЭГ на фоне предъявления изображений различного содержания. Выделяли и анализировали потенциалы, связанные с событиями (ПСС) с помощью среды MATLAB 7.1 (MathWorks; США). Статистический анализ данных выполняли с помощью пакета программ STATISTICA 7.0 (StatSoft; США). Как показало исследование, предъявление в условиях пассивного внимания изображений частей тела истощенных людей на фоне прочих изображений вызывало более высокие амплитуды ПСС, чем при предъявлении изображений пищи. Алгоритм позволил также распознавать реакции внимания в ЭЭГ пользователя на оба типа изображений среди остальных стимулов, при этом точность распознавания для изображений частей тела была существенно выше (89% против 59%). Это доказывает возможность использования ИМК-P300 для распознавания неявных эмоциональных фокусов внимания и дополняет существующие знания о механизмах развития нервной анорексии.

**Ключевые слова:** интерфейс мозг-компьютер (ИМК), электроэнцефалограмма (ЭЭГ), потенциалы, связанные с событиями (ПСС), зрительное внимание, волна P300, нервная анорексия, нарушение пищевого поведения, расстройство приема пищи

**Информация о вкладе авторов:** все авторы участвовали в планировании эксперимента; И. П. Ганин — проведение исследования, анализ и интерпретация данных, анализ литературы, подготовка текста рукописи; Е. А. Косиченко — проведение исследования, анализ литературы, анализ данных; А. В. Соколов — проведение исследования, интерпретация данных, редактирование текста; О. М. Иоаннисянц — диагностика и подбор пациентов для исследования; И. М. Арефьев — обеспечение экспериментов, интерпретации данных; А. Я. Басова — интерпретация данных, редактирование текста; А. Я. Каплан — интерпретация данных.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено этическим комитетом ГБУЗ «НПЦ ПЗДМ им. Г. Е. Сухаревой ДЗМ» (протокол № 1 от 21 сентября 2017 г.). Законные представители детей подписали добровольное информированное согласие на участие в исследовании.

✉ **Для корреспонденции:** Илья Петрович Ганин  
Ленинские горы, д. 1, стр. 12, к. 246, г. Москва, 119234; ipganin@mail.ru

**Статья получена:** 08.10.2018 **Статья принята к печати:** 27.03.2019 **Опубликована онлайн:** 10.04.2019

**DOI:** 10.24075/vrgmu.2019.022

## ADAPTING THE P300 BRAIN-COMPUTER INTERFACE TECHNOLOGY TO ASSESS CONDITION OF ANOREXIA NERVOSA PATIENTS

Ganin IP<sup>1</sup>✉, Kosichenko EA<sup>1</sup>, Sokolov AV<sup>2,3</sup>, Ioannisyanc OM<sup>2</sup>, Arefev IM<sup>2</sup>, Basova AY<sup>2,3</sup>, Kaplan AY<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russia

<sup>2</sup> Scientific-practical Children's and Adolescents Mental Health Center n.a. G. Sukhareva, Moscow, Russia

<sup>3</sup> Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

Brain-computer interface based on the P300 wave (P300 BCI) allows activating a given command according to the electroencephalogram (EEG) response to a predetermined relevant stimulus. The same algorithm enables detecting a subjectively important item (i.e., one triggering emotional response) in an environment even without actively drawing attention to it. Such systems allow assessing the personal significance of certain information, which can be used in the diagnostics of disorders of emotional perception or value system, e.g., eating disorders. This study aimed to investigate the EEG responses of anorexia nervosa patients (diagnosis F50.0,  $n = 12$ , age 11–16 years) to the stimuli with different perceived emotional significance, as well as to validate application of P300 BCI to detect the focus of attention to subjectively important stimuli. The inclusion criteria were: diagnosed anorexia nervosa (diagnosis F50.0); active rehabilitation. We registered the EEG while presenting images with different content to the patients. The event-related potentials (ERP) were detected and analyzed with the help of MATLAB 7.1 (MathWorks; USA). Statistica 7.0 software (StatSoft; USA) was used for statistical analysis of the data. We have discovered that in passive viewing paradigm, images of body parts of emaciated people among other images caused ERP with higher amplitude than images of food. Moreover, the accuracy of detection was higher for images of body parts: 89% against 59%, respectively. Thus, we have proven the validity of applying P300 BCI to detect covert emotional foci of attention and added to the existing knowledge about the mechanisms of development of anorexia nervosa.

**Keywords:** brain-computer interface (BCI), electroencephalogram (EEG), event-related potentials (ERP), visual attention, P300 wave, eating disorders, anorexia nervosa

**Author contribution:** all authors participated in the experiment planning; Ganin IP — immediate research activities, data analysis and interpretation, literature analysis, manuscript authoring; Kosichenko EA — immediate research activities, literature analysis, data analysis; Sokolov AV — immediate research activities, data interpretation, text editing; Ioannisyanc OM — diagnosing and selection of patients for the study; Arefev IM — support of experiments, data interpretation; Basova AY — data interpretation, text editing; Kaplan AY — data interpretation.

**Compliance with ethical standards:** the study was approved by the ethical committee of Scientific-practical Children's and Adolescents Mental Health Center n.a. G. Sukhareva (Protocol №. 1 of 2017.09.21). The legal representatives of children signed a voluntary informed consent allowing them to participate in the study.

✉ **Correspondence should be addressed:** Ilya P. Ganin  
Leningradskiy Gorod 1, bld. 12, ap. 246, Moscow, 119234; ipganin@mail.ru

**Received:** 08.10.2018 **Accepted:** 27.03.2019 **Published online:** 10.04.2019

**DOI:** 10.24075/brsmu.2019.022

В настоящее время технология интерфейсов мозг-компьютер (ИМК) входит в стандартный исследовательский инструментарий все большего числа нейрофизиологических лабораторий мира [1]. ИМК является научно-инженерной разработкой, нацеленной на обеспечение людей с утраченными или поврежденными двигательными функциями возможностью передачи команд к внешним исполнительным устройствам за счет декодирования специфических паттернов электроэнцефалограммы (ЭЭГ) [2]. Развитие исследований ИМК определяется их острой востребованностью в медицине, в частности, для управления вспомогательными устройствами [3, 4], в реабилитационных целях [5], а также для коммуникации [6].

Нынешний уровень развития технологии ИМК позволяет в некоторых случаях на основе анализа сигнала ЭЭГ распознавать команды оператора ИМК с довольно высокой точностью, что говорит о возможном расширении потенциала использования данной технологии. В первую очередь подходы и алгоритмы, используемые в ИМК, можно применять не только для распознавания конкретных команд, ассоциированных с произвольной концентрацией внимания пользователя, но и для детектирования неявных фокусов внимания к внешним стимулам или собственным внутренним состояниям. Такое произвольное смещение интереса или, напротив, отсутствие в ЭЭГ признаков наличия внимания в определенных условиях, в частности может быть использовано в системах инструментальной диагностики различных нарушений психики.

Среди возможных вариантов ИМК для разработки подобных систем наиболее подходящим является ИМК на основе волны P300, или ИМК-P300 [2, 6, 7]. В данном интерфейсе выбор команд основан на предъявлении человеку внешних стимулов-команд. Последовательно активируя стимулы (например, подсвечивая буквы на экране компьютера) и анализируя ЭЭГ-ответы на разные стимулы, система тем самым может определить целевую команду. Она детектируется по увеличенной амплитуде потенциалов, связанных с событиями (ПСС) в ответ на целевой, или значимый, для пользователя стимул. Основным компонентом ПСС является хорошо известная волна P300, имеющая наибольшую амплитуду именно в реакциях на редкие и значимые стимулы, поэтому данный тип ИМК и получил упомянутое выше название.

Для возникновения в ЭЭГ специфичного ответа на внешний стимул требуется избирательное активное внимание пользователя ИМК к соответствующей команде. Тем не менее волна P300 и другие ЭЭГ-признаки наличия внимания к событию могут быть вызваны стимулами, привлекающими внимание человека неявным образом и не обладающими явным практическим интересом для человека. Наличие такого произвольного внимания может быть обусловлено субъективной значимостью тех или иных стимулов для человека ввиду его личного опыта, или психоэмоционального статуса [8, 9]. Таким образом, парадигма предъявления стимулов ИМК-P300 подходит для оценки на основе ЭЭГ-реакций особенностей восприятия субъектом определенной информации и распознавания фокуса неявного интереса к некоторым классам внешних стимулов. При этом в такой системе стимулы могут предъявляться в так называемой парадигме пассивного внимания, когда от испытуемых не требуется реагировать на определенный класс стимулов, а нужно лишь смотреть на появляющийся зрительный стимулы [10]. Оправданность этого подхода объясняется тем, что даже

в отсутствие осознанного восприятия выделяющегося биологически или эмоционально стимула он в любом случае может вызывать реакцию [11], поскольку значим для субъекта. Поэтому такой стимул можно рассматривать «целевым» в контексте ИМК, и к нему могут быть применимы существующие подходы классификации на основе анализа ЭЭГ.

Наиболее логичным представляется использование в подобных методиках эмоционально окрашенного контента на фоне нейтрального [12]. Подобные системы могут быть использованы для автоматического распознавания повышенного состояния возбуждения среди людей с профессиями высокой эмоциональной нагрузки [13], а также для инструментальной диагностики нарушения эмоционального восприятия, например, при аутизме [14, 15].

Не менее интересно использование методик на базе ИМК-P300 для оценки состояния больных с нарушениями пищевого поведения. В частности, анализ показателей ЭЭГ в ответ на предъявление таким пациентам набора зрительных стимулов, связанных с анорексией, может служить дополнительным критерием мониторинга успешности проводимого лечения. У пациентов с нервной анорексией ранее на ЭЭГ-уровне были выявлены нарушения в восприятии эмоционально окрашенных стимулов [16]. Кроме того, у таких больных известны особенности волны P300 и других компонентов ПСС в заданиях на внимание, которые свидетельствуют о снижении некоторых функций мозга [17].

Несмотря на существование ряда работ по выявлению особенностей показателей ЭЭГ в ответ на предъявление зрительных стимулов в различных условиях, на сегодняшний день не было предложено прототипа такой системы, которая могла бы на основе сигнала ЭЭГ распознавать фокус интереса к определенным классам стимулов. Исходя из этого, целями настоящей работы были выявление особенностей ПСС в ответ на предъявление стимулов различной эмоциональной значимости больным нервной анорексией в парадигме пассивного внимания, а также проверка гипотезы о возможном детектировании фокуса внимания к субъективно значимым стимулам на основе технологии ИМК-P300.

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В исследовании принимали участие 12 девушек подросткового возраста (11–16 лет), проходивших лечение в ГБУЗ «НПЦ психического здоровья детей и подростков им. Г. Е. Сухаревой ДЗМ». Критерии включения пациентов в исследование: наличие диагноза F50.0 «Нервная анорексия»; период реабилитации. Критерии исключения: наличие тяжелой соматической патологии; высокая степень белково-энергетической недостаточности; пребывание на строгом постельном режиме. У участников регистрировали ЭЭГ во время того, как они смотрели на экран, на котором предъявляли наборы фотоизображений.

Изображения с угловыми размерами 12,9 × 9,6° предъявляли на сером фоне в режиме одбол-парадигмы: в центре экрана последовательно появлялись стимулы, в промежутках между ними экран оставался пустым. Длительность предъявления стимула составляла 200 мс, межстимульный интервал — 500 мс. В качестве значимых стимулов использовали два типа изображений: фотографии еды и частей тела людей с истощением. Нейтральными («незначимыми») стимулами служили изображения предметов, животных, геометрических фигур,

пейзажей и др., взятые из базы IAPS [18], из которой также частично были отобраны изображения еды. Основная часть значимых стимулов была получена на основе анализа интернет-каналов анорексической тематики. Все изображения предварительно оценивал врач, постоянно работавший с пациентами, участвовавшими в исследовании. Все изображения были скомбинированы в наборы по 6 штук, 5 изображений набора относились к категории «незначимые», а одно изображение — к категории «значимые». Каждый набор стимулов предъявляли в рамках одной записи ЭЭГ длительностью менее минуты; записи были разделены короткими паузами. Предъявление осуществляли в виде стимульных последовательностей: одна такая последовательность включает появление каждого изображения по одному разу в случайном порядке. Одна запись ЭЭГ состояла из 10 стимульных последовательностей. Наборы изображений предъявляли каждому испытуемому в псевдослучайном порядке, при этом записи со стимульным материалом на основе изображений еды и частей тела чередовали. Общее количество записей для стимулов на основе изображений еды и частей тела составляло обычно 10 и 12 соответственно у каждого испытуемого.

ЭЭГ регистрировали монополярно в отведениях Cz, P3, Pz, P4, PO7, PO8, O1, O2 с референтным электродом на мочке левого уха при помощи усилителя NVX52 с частотой дискретизации сигнала 500 Гц. Запись данных и управление предъявлением стимулов осуществляли в программной среде BCI2000 ([www.bci2000.org](http://www.bci2000.org)).

Выделение и анализ ПСС осуществляли в среде MATLAB 7.1 (MathWorks; США). Для этого сигнал ЭЭГ подвергали полосной фильтрации в диапазоне 0,5–20 Гц (фильтр Баттерворта), а затем разбивали на эпохи относительно момента подачи стимула с границами от 0,1 до 0,7 с. После удаления из общего массива эпох, содержащих глазодвигательные артефакты, происходило разделение эпох на целевые («значимые») и нецелевые («незначимые»). Эпохи разделяли также на два блока в зависимости от типа значимого изображения (еда или часть тела). Количество целевых и нецелевых эпох выравнивали за счет исключения части последних. Отдельно усредняли эпохи для целевых и нецелевых стимулов. Таким образом, целевые и нецелевые ПСС получали во всех каналах ЭЭГ в двух блоках для каждого испытуемого. Кроме того, выделяли «разностные» ПСС, получаемые вычитанием нецелевых кривых из целевых.

Амплитуды компонентов P300, N1 и LPP измеряли как максимальное либо минимальное значение в индивидуально подобранном для каждого участника временном окне. Амплитуды компонента P300 были измерены в каналах Cz и Pz, амплитуды компонентов N1 и LPP — в каналах PO7, PO8, O1 и O2. Не все компоненты проявлялись у каждого из испытуемых и во всех каналах, поэтому в описании результатов указывали число испытуемых ( $n$ ), у которых тот или иной анализ производили.

Чтобы оценить эффективность распознавания по ЭЭГ наличия особой реакции внимания к значимому стимулу, был смоделирован подход классификации целевых команд в ИМК-P300 на основе линейного дискриминанта Фишера. Обучение и тестирование классификатора происходило с использованием кросс-валидации по двум классам — целевым и нецелевым стимулам. В ходе тестирования в каждой попытке (одна запись) в соответствии с обученным классификатором определяли один наиболее выделяющийся из шести стимул. Если распознанное

таким образом стимул-изображение принадлежало к категории «значимые», то попытку классификации считали успешной.

По результатам вычисления амплитуд ПСС и точности классификации проводили статистический анализ данных с помощью пакета STATISTICA 7.0 (StatSoft; США), и рассчитывали средние значения для каждой величины в обоих блоках. При нормальном распределении выборок использовали парный критерий Стьюдента, в случае отклонения распределения от нормального — ранговый критерий Уилкоксона.

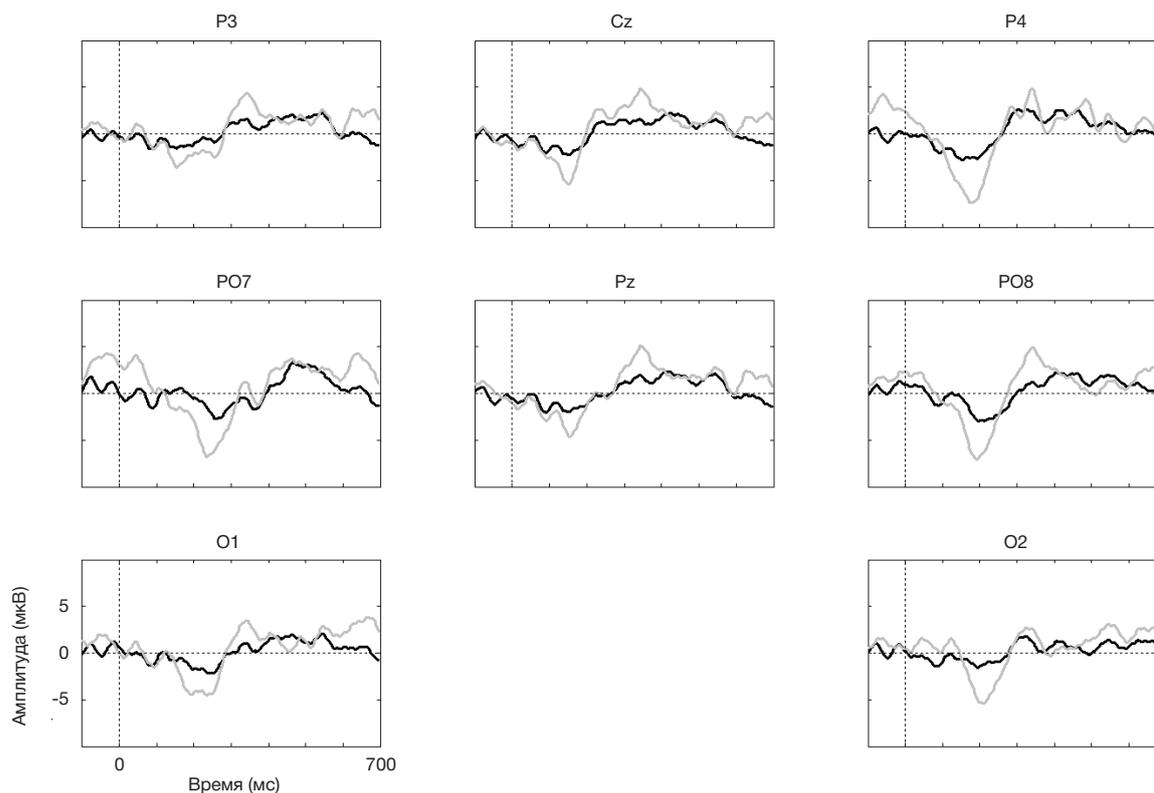
## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

У большинства пациентов с нервной анорексией на индивидуальных разностных кривых были идентифицированы пики N1 (латентность 120–180 мс), P300 (350–450 мс) и LPP (550–700 мс). Эти пики видны также на усредненных по всей группе целевых и нецелевых ПСС, а также разностных кривых (рис. 1). Соотношение амплитуд целевых и нецелевых ПСС, отображаемое на разностных кривых, позволяет судить о том, насколько сильно привлекали внимание значимые в контексте задания стимулы по сравнению с незначимыми. Поскольку индивидуальная латентность пиков варьировалась и не все пики можно наблюдать у всех испытуемых, на групповом усреднении компоненты ПСС в некоторых отведениях выглядят размытыми и мало выраженными, поэтому рис. 1 отражает лишь общую картину. Средние значения всех анализируемых компонентов в целевых, нецелевых и разностных кривых представлены в таблице.

В обоих блоках амплитуда компонента P300 на целевых кривых была выше, чем на нецелевых: как в канале Cz ( $p < 0,01$ ;  $n = 11$  и  $p < 0,01$ ,  $n = 12$ , парный критерий Стьюдента), так и в канале Pz ( $p < 0,01$ ,  $n = 12$  и  $p < 0,01$ ,  $n = 11$ ) при предъявлении изображений пищи и частей тела людей с истощением соответственно (таблица). При сравнении амплитуд P300 на разностных кривых между двумя типами стимулов не было выявлено значимых различий (рис. 2).

Амплитуды компонента N1 в целевых ПСС были выше, чем в нецелевых, как при предъявлении изображений пищи ( $p < 0,05$ ,  $n = 9$ ;  $p < 0,05$ ,  $n = 10$ ;  $p < 0,05$ ,  $n = 9$ ;  $p < 0,05$ ,  $n = 11$ , в отведениях PO7, PO8, O1, O2 соответственно, парный критерий Стьюдента), так и при предъявлении изображений частей тела ( $p < 0,01$ ,  $n = 9$ ;  $p < 0,01$ ,  $n = 12$ ;  $p < 0,01$ ,  $n = 12$ ;  $p < 0,01$ ,  $n = 11$ , критерий Уилкоксона). Несмотря на более высокие средние значения амплитуд N1 на разностных кривых для изображений частей тела по сравнению с изображениями пищи (рис. 1 и таблица), значимые различия между двумя типами стимулов выявлены только в отведении PO8 ( $p < 0,05$ ,  $n = 10$ ; критерий Уилкоксона) (рис. 2).

Компонент LPP имел наибольшую амплитуду в затылочных отведениях. Амплитуды LPP в целевых ПСС были выше, чем в нецелевых, как при предъявлении изображений пищи ( $p < 0,01$ ,  $n = 8$ ;  $p < 0,01$ ,  $n = 9$ ;  $p < 0,05$ ,  $n = 8$ ;  $p < 0,01$ ,  $n = 9$ , в отведениях PO7, PO8, O1, O2 соответственно, парный критерий Стьюдента), так и при предъявлении изображений частей тела ( $p < 0,01$ ,  $n = 9$ ;  $p < 0,01$ ,  $n = 10$ ;  $p < 0,01$ ,  $n = 10$ ;  $p < 0,01$ ,  $n = 10$ ). В среднем для изображений частей тела амплитуды LPP были выше, чем для изображений пищи, однако различия были значимы только в отведениях PO7 и PO8 ( $p < 0,05$ ,  $n = 7$ ;  $p < 0,05$ ,  $n = 8$  соответственно) (рис. 2).



**Рис. 1.** Усредненные по группе разностные ПСС ( $n = 10$ ). Черная линия — стимулы-изображения пищи, серая линия — стимулы-изображения частей тела людей с истощением. По вертикали — амплитуда (мкВ), по горизонтали — время (мс). Вертикальная пунктирная линия (0 мс) соответствует времени подачи стимула. Над каждой кривой указано название отведения ЭЭГ

На рис. 3 представлены средние значения точности классификации значимых стимулов среди нейтральных в двух блоках. Средняя точность распознавания классификатором стимулов с изображениями пищи составила  $59,1 \pm 5,3\%$  и была ниже, чем для стимулов с изображениями частей тела людей с истощением, для которых составила  $89,1 \pm 2,3\%$  ( $p = 0,0002$ ,  $n = 12$ , парный критерий Стьюдента).

**ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ**

Главным результатом работы стал ряд выявленных особенностей ПСС при пассивном восприятии эмоционально

значимых изображений, а также показанная возможность распознавания ЭЭГ-реакций внимания к таким стимулам среди нейтрального стимульного контента с точностью, близкой к современным ИМК-системам.

Известно, что для людей, относящихся к высокой группе риска развития расстройств пищевого поведения, характерна повышенная восприимчивость к эмоционально значимым стимулам, которые связаны с формой и массой тела [19]. Такую особую субъективную значимость подобных стимулов для больных с нервной анорексией можно объяснить тем, что в ее развитии важную роль играет особое отношение к своему телу с формированием синдрома дисморфофобии/дисморфомании на фоне

**Таблица.** Значения амплитуд компонентов P300, N1 и LPP в ответ на предъявление стимулов с изображениями пищи и частей тела людей с истощением (приведено среднее  $\pm$  стандартная ошибка среднего, мкВ)

	Изображения пищи			Изображения частей тела		
P300						
Отведение	Целевые	Нецелевые	Разностные	Целевые	Нецелевые	Разностные
Cz	4,5 $\pm$ 1,1	1,4 $\pm$ 0,7	5,8 $\pm$ 0,9	4,1 $\pm$ 0,6	0,6 $\pm$ 0,4	5,9 $\pm$ 0,9
Pz	5,0 $\pm$ 0,6	2,1 $\pm$ 0,6	5,5 $\pm$ 0,9	5,7 $\pm$ 0,8	2,2 $\pm$ 0,8	6,0 $\pm$ 0,8
N1						
PO7	-6,1 $\pm$ 1,6	-3,0 $\pm$ 0,9	-3,9 $\pm$ 1,0	-4,5 $\pm$ 1,8	0,5 $\pm$ 0,9	-7,3 $\pm$ 1,6
PO8	-5,8 $\pm$ 2,1	-2,7 $\pm$ 1,4	-4,7 $\pm$ 1,1	-6,6 $\pm$ 1,6	-2,2 $\pm$ 1,8	-8,7 $\pm$ 1,6
O1	-4,6 $\pm$ 2,2	-1,7 $\pm$ 1,6	-4,5 $\pm$ 1,1	-4,1 $\pm$ 1,8	0,1 $\pm$ 1,7	-6,3 $\pm$ 0,7
O2	-4,8 $\pm$ 2,3	-2,4 $\pm$ 1,8	-4,0 $\pm$ 0,8	-4,3 $\pm$ 1,9	-0,3 $\pm$ 2,2	-6,4 $\pm$ 0,6
LPP						
PO7	0,7 $\pm$ 0,8	-2,1 $\pm$ 0,9	4,2 $\pm$ 0,6	6,8 $\pm$ 2,7	-1,6 $\pm$ 0,8	10,9 $\pm$ 2,4
PO8	0,4 $\pm$ 1,2	-2,1 $\pm$ 0,9	4,1 $\pm$ 0,8	4,9 $\pm$ 1,0	-0,8 $\pm$ 1,0	8,0 $\pm$ 1,3
O1	-0,4 $\pm$ 1,3	-3,6 $\pm$ 1,2	4,4 $\pm$ 0,9	2,5 $\pm$ 1,4	-2,9 $\pm$ 0,8	8,4 $\pm$ 1,4
O2	-1,5 $\pm$ 1,0	-4,5 $\pm$ 1,1	4,5 $\pm$ 0,8	1,8 $\pm$ 1,2	-2,9 $\pm$ 0,9	8,5 $\pm$ 1,4

низкого уровня самооценки и самоуважения [19, 20]. Нами были выявлены более высокие амплитуды компонентов ПСС в ответ на предъявление изображений пищи или частей тела людей с истощением, что говорит о субъективной значимости этих стимулов для пациентов, хотя сила реакции в ответ на два типа изображений различалась.

Исходя из литературных данных, более высокую амплитуду ПСС в ответ на значимые стимулы можно было бы объяснить их редкостью среди нейтральных стимулов: в одбол-парадигме редкие целевые стимулы вызывают более высокие ответы [21]. При этом, в отличие от классической одбол-парадигмы с простыми сильно различающимися двумя классами стимулов, все изображения в нашей работе были одинаково разнородными как внутри классов значимые/незначимые, так и между классами. Это говорит о том, что полученные в работе различия не связаны с графическими особенностями изображений, а вызваны исключительно субъективной значимостью смыслового содержания этой группы стимулов для пациентов. Так, предъявление изображений частей тела вызывало существенно более сильную реакцию в ПСС по сравнению с изображениями пищи, несмотря на одинаковую вероятность появления значимого стимула в обоих случаях. Это может говорить о том, что реакция на выделяющийся из контекста стимул обусловлена не просто его редкостью, но и его особой эмоциональной значимостью для пациентов. Такое предположение подтверждается и тем, что амплитуда волны P300, которая отражает частотные характеристики стимула, не различалась для двух типов изображений, в то время как другие компоненты ПСС и точность классификации были чувствительны к типу стимула.

Одним из самых важных результатов описываемой работы можно считать крайне высокие значения точности классификации по ЭЭГ-реакциям субъективно значимых стимулов среди всех изображений. Точность для изображений пищи составила 59%, а для изображений частей тела — 89%. Следует отметить, что эти результаты получены в задании без привлечения активного внимания к стимулам. Такая точность не просто многократно превышает случайный уровень распознавания в 16,7%

(выбор одного из шести стимулов), но близка к значениям, достигаемым в ИМК-P300, где пользователь, напротив, активно фокусирует внимание на целевом стимуле-команде, игнорируя остальные стимулы [22, 23].

Описываемое в настоящей работе исследование является в большой мере пилотным, и его ценность определяется адаптацией существующих подходов ИМК для создания методик и систем детектирования субъективных фокусов внимания. Потому одним из ограничений работы является отсутствие контрольной группы здоровых испытуемых. При этом в качестве контроля можно рассматривать режим с предъявлением изображений пищи по сравнению с предъявлением изображений частей тела: компонентный состав ПСС различался между режимами, несмотря на одинаковые вероятностные характеристики значимого стимула и идентичный набор незначимых стимулов (см. выше). Полученные результаты можно также сравнить с результатами другой недавней работы авторского коллектива, где здоровые испытуемые выполняли похожее задание: пассивно наблюдали на экране различные изображения, часть из которых была эмоционально выделяющейся из контекста, но не несла для испытуемых субъективной значимости [12]. Амплитуды компонентов в ответ на выделяющиеся стимулы были значительно ниже, чем в настоящем исследовании, а точность классификации составляла 40–45%. По некоторым данным, у больных нервной анорексией наблюдали сниженные ПСС-ответы на пищевые зрительные стимулы по сравнению со здоровыми испытуемыми [24]. В нашем же исследовании изображения частей тела людей с истощением вызывали существенно более высокую реакцию, подтвержденную на ЭЭГ, чем изображения пищи. Это может свидетельствовать о способностях первых привлекать внимание в большей степени и подчеркивает их особую значимость для больных нервной анорексией.

Компонент N1 отражает процессы фиксации на определенном стимуле, а также связан с эмоциональным восприятием [25], что позволяет судить о наличии внимания пациентов к изображениям пищи и частей тела, а также о том, что значимость данных стимулов была обусловлена эмоциональной реакцией на них. Компонент

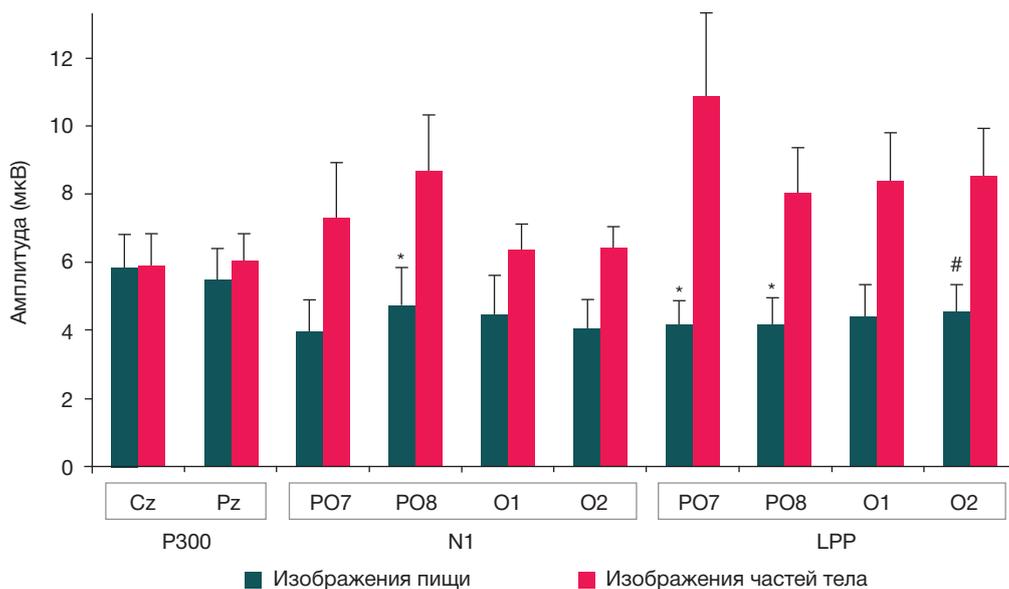


Рис. 2. Средняя по группе амплитуда компонентов P300, N1 и LPP для двух типов стимулов (изображения пищи и частей тела людей с истощением). Показаны среднее и стандартная ошибка среднего. Различия между блоками: \* —  $p < 0,05$ , # —  $p < 0,1$

LPP связывают с поздними стадиями эмоционального процессинга зрительных стимулов [26]. Это также может служить подтверждением того, что особая ЭЭГ-реакция в ответ на используемые в исследовании значимые изображения определяется особенностями когнитивной обработки, а не просто частотностью их появления среди остальных стимулов. В целом более высокие амплитуды компонентов N1 и LPP, а также значения точности классификации для изображений частей тела людей с истощением по сравнению с изображениями пищи подтверждают предположение о том, что основной причиной анорексии может являться особое отношение к своему телу, искаженное восприятие его формы и размера, навязчивое желание соответствовать определенным физическим стандартам, а не собственно неприятие пищи [19].

## Выводы

Использованный метод выявления непроизвольного внимания при предъявлении изображений пищи и частей тела истощенных людей обеспечил высокую точность классификации реакций непроизвольного внимания к эмоционально значимым стимулам у больных нервной анорексией. Развитие такой методики может способствовать созданию систем детектирования по ЭЭГ эмоциональных фокусов внимания. Подобные системы, в частности, могут быть использованы в диагностике

состояния пациентов для определения особенностей их эмоционального восприятия на разных этапах лечения. Была выявлена более сильная реакция, подтвержденная на ЭЭГ, в ответ на предъявление изображений частей тела истощенных людей по сравнению с изображениями пищи. Это, с одной стороны, может подтверждать известные данные о факторах развития нервной анорексии, а, с другой стороны, открывает потенциал использования соответствующего стимульного материала в упомянутых системах.

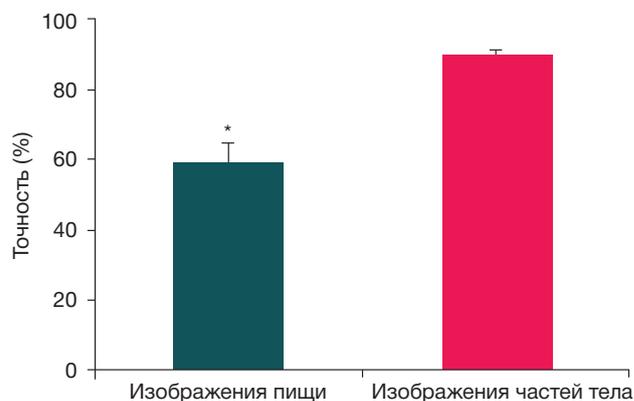


Рис. 3. Средняя по группе точность классификации с помощью алгоритма ИМК значимых стимулов среди нейтральных в двух блоках (изображения пищи и частей тела людей с истощением). Показаны среднее и стандартная ошибка среднего. Различия между блоками: \* —  $p < 0,05$

## Литература

- McFarland DJ, Vaughan TM. BCI in practice. Progress in brain research. 2016; 228: 389404. Available from: <https://doi.org/10.1016/bs.pbr.2016.06.005>.
- Wolpaw JR. Brain-computer interfaces as new brain output pathways. J Physiol. 2007; 579 (3): 613–9. Available from: <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2006.125948>.
- Alqasemi R, Dubey R. A 9-DoF Wheelchair-Mounted Robotic Arm System: Design, Control, Brain-Computer Interfacing, and Testing. Journal of Advances in Robot Manipulators In Tech. 2010: 51–78. Available from: <https://doi.org/10.5772/9678>.
- Lopes AC, Pires G, Vaz L, Nunes U. Wheelchair navigation assisted by human-machine shared-control and a P300-based brain computer interface. International Conference on Intelligent Robots and Systems (IROS). 2011: 2438–44. Available from: <https://doi.org/10.1109/iros.2011.6094748>.
- Vidaurre C, Klauer C, Schauer T, Ramos-Murguialday A, Müller KR. EEG-based BCI for the linear control of an upper-limb neuroprosthesis. Medical Engineering & Physics. 2016; 38 (11): 1195–204. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.medengphy.2016.06.010>.
- Rezeika A, Benda M, Stawicki P, Gemblar F, Saboor A, Volosyak I. Brain-Computer Interface Spellers: A Review. Brain Sciences. 2018; 8 (4): 57. Available from: <https://doi.org/10.3390/brainsci8040057>.
- Farwell LA, Donchin E. Talking off the top of your head: toward a mental prosthesis utilizing event-related brain potentials. Electroencephalography and Clinical Neurophysiology. 1988; 70: 510–23. Available from: [https://doi.org/10.1016/0013-4694\(88\)90149-6](https://doi.org/10.1016/0013-4694(88)90149-6).
- Asmaro D, Jaspers-Fayer F, Sramko V, Taake I, Carolan P, Liotti M. Spatiotemporal dynamics of the hedonic processing of chocolate images in individuals with and without trait chocolate craving. Appetite. 2012; 58 (3): 790–9. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.appet.2012.01.030>.
- Asmaro D, Carolan PL, Liotti M. Electrophysiological evidence of early attentional bias to drug-related pictures in chronic cannabis users. Addict Behav. 2014; 39 (1): 114–21. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.addbeh.2013.09.012>.
- Olofsson, JK, Nordin S, Sequeira H, Polich J. Affective picture processing: an integrative review of ERP findings. Biological psychology. 2008; 77 (3): 247–65. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2007.11.006>.
- Ohman A, Flykt A, Esteves F. Emotion drives attention: detecting the snake in the grass. Journal of experimental psychology: general. 2001; 130 (3): 466–78. Available from: <https://doi.org/10.1037//0096-3445.130.3.466>.
- Ганин И. П., Косиченко Е. А., Каплан А. Я. Особенности электроэнцефалографических реакций на эмоционально значимые стимулы в технологии интерфейса мозг-компьютер на волне P300. Журн. высш. нерв. деят. 2017; 67 (4): 453–63. Available from: <https://doi.org/10.7868/s0044467717040074>.
- Singh M, Singh M, Goyal M. Selection of attribute combinations of ERP's for classification of emotions along arousal axis. International Journal of Information Technology & Knowledge Management. 2015; 8 (2): 142–9. Available from: <https://doi.org/10.141079/IJITKM.2015.801>.
- Liu TL, Wang PW, Yang YC, Hsiao RC, Su YY, Shyi GC, Yen CF. Deficits in facial emotion recognition and implicit attitudes toward emotion among adolescents with high functioning autism spectrum disorder. Compr Psychiatry. 2019; (90): 7–13. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.comppsy.2018.12.010>.
- Stavropoulos KK, Viktorinova M, Naples A, Foss-Feig J, McPartland JC. Autistic traits modulate conscious and nonconscious face perception. Soc Neurosci. 2016; (10): 1–12. Available from: <https://doi.org/10.1080/17470919.2016.1248788>.
- Hatch A, Madden S, Kohn MR, Clarke S, Touyz S, Gordon E et al. Emotion brain alterations in anorexia nervosa: a candidate biological marker and implications for treatment. Journal of psychiatry & neuroscience: JPN. 2010; 35 (4): 267–74. Available from: <https://doi.org/10.1503/jpn.090073>.
- Bradley SJ, Taylor MJ, Rovet JF, Goldberg E, Hood J, Wachsmuth R, et al. Assessment of brain function in adolescent anorexia nervosa before and after weight gain. Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology. 1997; 19 (1): 20–33. Available from: <https://doi.org/10.1080/01688639708403833>.

18. Lang PJ, Bradley MM, Cuthbert BN. International affective picture system (IAPS): Affective ratings of pictures and instruction manual. Technical Report A-8. University of Florida, Gainesville, FL. 2008.
19. Meijboom A, Jansen A, Kampman M, Schouten E. An experimental test of the relationship between self-esteem and concern about body shape and weight in restrained eaters. *International Journal of Eating Disorders*. 1999; 25 (3): 327–34. Available from: [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1098-108x\(199904\)25:3<327::aid-eat11>3.0.co;2-5](https://doi.org/10.1002/(sici)1098-108x(199904)25:3<327::aid-eat11>3.0.co;2-5).
20. Blechert J, Ansoorge U, Beckmann S, & Tuschen-Caffier B. The undue influence of shape and weight on self-evaluation in anorexia nervosa, bulimia nervosa and restrained eaters: a combined ERP and behavioral study. *Psychological Medicine*. 2011; 41 (1): 185–94. Available from: <https://doi.org/10.1017/s0033291710000395>.
21. Squires NK, Squires KC, Hillyard SA. Two Varieties of Long-latency positive Waves Evoked by Unpredictable Auditory Stimuli in Man. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*. 1975; (38): 387–401. Available from: [https://doi.org/10.1016/0013-4694\(75\)90263-1](https://doi.org/10.1016/0013-4694(75)90263-1).
22. Guger C, Daban S, Sellers E, Holzner C, Krausz G, Carabalona R, et al. How many people are able to control a P300-based brain-computer interface (BCI)? *Neurosci Lett*. 2009; 462 (1): 94–8. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2009.06.045>.
23. Ганин И. П., Каплан А. Я. Интерфейс мозг-компьютер на основе волны P300: предъявление комплексных стимулов «подсветка + движение». *Журнал высшей нервной деятельности*. 2014; 64 (1): 32–40. Доступно по ссылке: <https://doi.org/10.7868/s0044467714010067>.
24. Nikendei C, Friederich HC, Weisbrod M, Walthert S, Sharma A, Herzog W, et al. Event-related potentials during recognition of semantic and pictorial food stimuli in patients with anorexia nervosa and healthy controls with varying internal states of hunger. *Psychosomatic medicine*. 2012; 74 (2): 136–145. Available from: <https://doi.org/10.1097/psy.0b013e318242496a>.
25. Sprengelmeyer R, Jentzsch I. Event related potentials and the perception of intensity in facial expressions. *Neuropsychologia*. 2006; (44): 2899–06. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2006.06.020>.
26. Foti D, Hajcak G, Dien J. Differentiating neural responses to emotional pictures: Evidence from temporal-spatial PCA. *Psychophysiology*. 2009; 46 (3): 521–30. Available from: <https://doi.org/10.1111/j.1469-8986.2009.00796.x>.

## References

1. McFarland DJ, Vaughan TM. BCI in practice. *Progress in brain research*. 2016; 228: 389404. Available from: <https://doi.org/10.1016/bs.pbr.2016.06.005>.
2. Wolpaw JR. Brain-computer interfaces as new brain output pathways. *J Physiol*. 2007; 579 (3): 613–9. Available from: <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2006.125948>.
3. Alqasemi R, Dubey R. A 9-DoF Wheelchair-Mounted Robotic Arm System: Design, Control, Brain-Computer Interfacing, and Testing. *Journal of Advances in Robot Manipulators In Tech*. 2010: 51–78. Available from: <https://doi.org/10.5772/9678>.
4. Lopes AC, Pires G, Vaz L, Nunes U. Wheelchair navigation assisted by human-machine shared-control and a P300-based brain computer interface. *International Conference on Intelligent Robots and Systems (IROS)*. 2011: 2438–44. Available from: <https://doi.org/10.1109/iros.2011.6094748>.
5. Vidaurre C, Klauer C, Schauer T, Ramos-Murguialday A, Müller KR. EEG-based BCI for the linear control of an upper-limb neuroprosthesis. *Medical Engineering & Physics*. 2016; 38 (11): 1195–204. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.medengphy.2016.06.010>.
6. Rezeika A, Benda M, Stawicki P, Gemblar F, Saboor A, Volosyak I. Brain-Computer Interface Spellers: A Review. *Brain Sciences*. 2018; 8 (4): 57. Available from: <https://doi.org/10.3390/brainsci8040057>.
7. Farwell LA, Donchin E. Talking off the top of your head: toward a mental prosthesis utilizing event-related brain potentials. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*. 1988; 70: 510–23. Available from: [https://doi.org/10.1016/0013-4694\(88\)90149-6](https://doi.org/10.1016/0013-4694(88)90149-6).
8. Asmaro D, Jaspers-Fayer F, Sramko V, Taake I, Carolan P, Liotti M. Spatiotemporal dynamics of the hedonic processing of chocolate images in individuals with and without trait chocolate craving. *Appetite*. 2012; 58 (3): 790–9. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.appet.2012.01.030>.
9. Asmaro D, Carolan PL, Liotti M. Electrophysiological evidence of early attentional bias to drug-related pictures in chronic cannabis users. *Addict Behav*. 2014; 39 (1): 114–21. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.addbeh.2013.09.012>.
10. Olofsson, JK, Nordin S, Sequeira H, Polich J. Affective picture processing: an integrative review of ERP findings. *Biological psychology*. 2008; 77 (3): 247–65. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.biopsycho.2007.11.006>.
11. Ohman A, Flykt A, Esteves F. Emotion drives attention: detecting the snake in the grass. *Journal of experimental psychology: general*. 2001; 130 (3): 466–78. Available from: <https://doi.org/10.1037//0096-3445.130.3.466>.
12. Ганин И. П., Косиченко Е. А., Каплан А. Я. Особенности электроэнцефалографических реакций на эмоциональные значимые стимулы в технологии интерфейса мозг-компьютер на волне P300. *Журнал высшей нервной деятельности*. 2017; 67 (4): 453–63. Available from: <https://doi.org/10.7868/s0044467717040074>.
13. Singh M, Singh M, Goyal M. Selection of attribute combinations of ERP's for classification of emotions along arousal axis. *International Journal of Information Technology & Knowledge Management*. 2015; 8 (2): 142–9. Available from: <https://doi.org/10.141079/IITKM.2015.801>.
14. Liu TL, Wang PW, Yang YC, Hsiao RC, Su YY, Shyi GC, Yen CF. Deficits in facial emotion recognition and implicit attitudes toward emotion among adolescents with high functioning autism spectrum disorder. *Compr Psychiatry*. 2019; (90): 7–13. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.comppsy.2018.12.010>.
15. Stavropoulos KK, Viktorinova M, Naples A, Foss-Feig J, McPartland JC. Autistic traits modulate conscious and nonconscious face perception. *Soc Neurosci*. 2016; (10): 1–12. Available from: <https://doi.org/10.1080/17470919.2016.1248788>.
16. Hatch A, Madden S, Kohn MR, Clarke S, Touyz S, Gordon E et al. Emotion brain alterations in anorexia nervosa: a candidate biological marker and implications for treatment. *Journal of psychiatry & neuroscience: JPN*. 2010; 35 (4): 267–74. Available from: <https://doi.org/10.1503/jpn.090073>.
17. Bradley SJ, Taylor MJ, Rovet JF, Goldberg E, Hood J, Wachsmuth R, et al. Assessment of brain function in adolescent anorexia nervosa before and after weight gain. *Journal of Clinical and Experimental Neuropsychology*. 1997; 19 (1): 20–33. Available from: <https://doi.org/10.1080/01688639708403833>.
18. Lang PJ, Bradley MM, Cuthbert BN. International affective picture system (IAPS): Affective ratings of pictures and instruction manual. Technical Report A-8. University of Florida, Gainesville, FL. 2008.
19. Meijboom A, Jansen A, Kampman M, Schouten E. An experimental test of the relationship between self-esteem and concern about body shape and weight in restrained eaters. *International Journal of Eating Disorders*. 1999; 25 (3): 327–34. Available from: [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1098-108x\(199904\)25:3<327::aid-eat11>3.0.co;2-5](https://doi.org/10.1002/(sici)1098-108x(199904)25:3<327::aid-eat11>3.0.co;2-5).
20. Blechert J, Ansoorge U, Beckmann S, & Tuschen-Caffier B. The undue influence of shape and weight on self-evaluation in anorexia nervosa, bulimia nervosa and restrained eaters: a combined ERP and behavioral study. *Psychological Medicine*. 2011; 41 (1): 185–94. Available from: <https://doi.org/10.1017/s0033291710000395>.
21. Squires NK, Squires KC, Hillyard SA. Two Varieties of Long-latency positive Waves Evoked by Unpredictable Auditory Stimuli in Man. *Electroencephalography and Clinical Neurophysiology*. 1975; (38): 387–401. Available from: [https://doi.org/10.1016/0013-4694\(75\)90263-1](https://doi.org/10.1016/0013-4694(75)90263-1).
22. Guger C, Daban S, Sellers E, Holzner C, Krausz G, Carabalona R,

- et al. How many people are able to control a P300-based brain-computer interface (BCI)? *Neurosci Lett.* 2009; 462 (1): 94–8. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2009.06.045>.
23. Ganin IP, Kaplan AY. Interfejs mozg-komp'yuter na osnove volny P300: pred'javlenie kompleksnyh stimulov «podsvetka + dvizhenie». *Zhurnal vysshej nervnoj dejatel'nosti.* 2014; 64 (1): 32–40. Dostupno po ssylke: <https://doi.org/10.7868/s0044467714010067>.
24. Nikendei C, Friederich HC, Weisbrod M, Walther S, Sharma A, Herzog W, et al. Event-related potentials during recognition of semantic and pictorial food stimuli in patients with anorexia nervosa and healthy controls with varying internal states of hunger. *Psychosomatic medicine.* 2012; 74 (2): 136–145. Available from: <https://doi.org/10.1097/psy.0b013e318242496a>.
25. Sprengelmeyer R, Jentsch I. Event related potentials and the perception of intensity in facial expressions. *Neuropsychologia.* 2006; (44): 2899–06. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.neuropsychologia.2006.06.020>.
26. Foti D, Hajcak G, Dien J. Differentiating neural responses to emotional pictures: Evidence from temporal-spatial PCA. *Psychophysiology.* 2009; 46 (3): 521–30. Available from: <https://doi.org/10.1111/j.1469-8986.2009.00796.x>.

## ВЛИЯНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ПРОТЕЗИРОВАНИЯ ЗУБОВ НА ДИНАМИКУ РАННИХ ПРЕДИКТОРОВ ВОСПАЛИТЕЛЬНО-ДЕСТРУКТИВНОГО ПРОЦЕССА В ПЕРИИМПЛАНТАТНОЙ ЗОНЕ

В. П. Тлустенко, И. М. Байриков, Д. А. Трунин, О. А. Гусякова, С. С. Комлев ✉

Самарский государственный медицинский университет, Самара, Россия

Объективная оценка морфофункциональных характеристик состояния мягких тканей и костных структур, прилежащих к дентальному имплантату, позволяет контролировать динамику процессов остеоинтеграции в системе челюсть — дентальный имплантат. Целью работы было исследовать уровни маркеров  $\beta$ -CrossLaps, C-реактивный белок (СРБ), остеокальцин после ортопедического лечения пациентов с применением усовершенствованных технологий протезирования зубов с опорой на дентальные имплантаты. Провести биохимический анализ ротовой жидкости пациентов после протезирования на дентальных имплантатах и новых разборных дентальных имплантатах. Пациентам основной группы (52 человека) изготовили съемные ортопедические конструкции с металлическим каркасом и фиксирующими элементами с опорой на разборные дентальные имплантаты и съемные ортопедические конструкции с опорой на серийно выпускаемые дентальные имплантаты. Для пациентов контрольной группы (12 человек) были изготовлены съемные ортопедические конструкции из акриловых пластмасс с опорой на дентальные имплантаты, выпускаемые серийно. Всем пациентам через 6 месяцев исследовали уровни маркеров  $\beta$ -CrossLaps, СРБ, остеокальцин в ротовой жидкости. У пациентов основной группы содержание  $\beta$ -CrossLaps в среднем составило  $0,0126 \pm 0,002$  нг/мл, в контрольной группе —  $0,0147 \pm 0,002$  нг/мл. Содержание СРБ у пациентов основной группы в среднем составило  $0,358 \pm 0,019$  мг/л, у пациентов контрольной группы —  $0,78 \pm 0,01$  мг/л. В основной группе содержание остеокальцина в среднем составило  $1,46 \pm 0,25$  нг/мл, в контрольной группе пациентов —  $1,98 \pm 0,31$  нг/мл. Показано, что биохимические маркеры ротовой жидкости можно использовать для прогнозирования осложнений после установки дентальных имплантатов. Протезирование усовершенствованными конструкциями на разборных дентальных имплантатах сопряжено с меньшим количеством осложнений.

**Ключевые слова:** съемные ортопедические конструкции, разборный дентальный имплантат, метаболические показатели  $\beta$ -CrossLaps, СРБ, остеокальцин

**Информация о вкладе авторов:** В. П. Тлустенко, И. М. Байриков, Д. А. Трунин, С. С. Комлев — разработка концепции и дизайна исследования, хирургическое и ортопедическое лечение пациентов; О. А. Гусякова, И. М. Байриков, С. С. Комлев — сбор и обработка материала, биохимическое исследование ротовой жидкости, статистическая обработка результатов.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено этическим комитетом Самарского государственного медицинского университета (протокол № 2018/196). Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании (проведение операции дентальной имплантации и ортопедическое лечение, сбор образцов ротовой жидкости).

✉ **Для корреспонденции:** Сергей Сергеевич Комлев  
ул. Чапаевская, д. 89, г. Самара, 443099; stomat.ks@mail.ru

**Статья получена:** 27.11.2018 **Статья принята к печати:** 03.04.2019 **Опубликована онлайн:** 13.04.2019

**DOI:** 10.24075/vrgmu.2019.025

## INFLUENCE OF DENTAL PROSTHETICS TECHNOLOGY ON THE DYNAMICS OF EARLY PREDICTORS OF DESTRUCTIVE INFLAMMATORY PROCESS IN THE PERIIMPLANT ZONE

Tlustenko VP, Bayrikov IM, Trunin DA, Gusyakova OA, Komlev SS ✉

Samara State Medical University, Samara, Russia

An objective assessment of the morphofunctional characteristics of the state of soft tissues and bone structures adjacent to the dental implant allows to control the dynamics of the processes of osseointegration in the jaw-dental implant system. The aim of the work was to investigate the level of the  $\beta$ -CrossLaps, C-reactive protein (CRP), osteocalcin markers after orthopedic treatment of patients using dental implant supported advanced dental restoration technologies, to perform a biochemical analysis of the oral fluid of patients after restoration using dental implants and new two-part dental implants. In patients of the index group (52 people), the removable prostheses with metal frame and fixing elements or the commercially available dental implant supported removable prostheses were installed. For the patients of the control group (12 people), the commercially available dental implant supported removable prostheses of acrylic plastics were constructed. For all the patients after 6 months the level of  $\beta$ -CrossLaps, CRP, osteocalcin markers in the oral fluid was analysed. In patients of the index group, the average content of  $\beta$ -CrossLaps was  $0.0126 \pm 0.002$  ng/ml, in the control group it was  $0.0147 \pm 0.002$  ng/ml. The average content of the CRP in patients of the index group was  $0.358 \pm 0.019$  mg/l, in patients of the control group it was  $0.78 \pm 0.01$  mg/l. In patients of the index group, the average content of osteocalcin was  $1.46 \pm 0.25$  ng/ml, in the control group it was  $1.98 \pm 0.31$  ng/ml. It has been shown that biochemical markers of the oral fluid can be used to predict complications after the dental implants installation. Restoration with two-part dental implants of modern design is associated with fewer complications.

**Keywords:** removable dental prostheses, two-part dental implant,  $\beta$ -CrossLaps, CRP, osteocalcin metabolic markers

**Author contribution:** Tlustenko VP, Bayrikov IM, Trunin DA, Komlev SS — concept and research design, surgical and orthopedic treatment of patients; Gusyakova OA, Bayrikov IM, Komlev SS — collection and processing of material, biochemical analysis of oral fluid, statistical processing of results.

**Compliance with ethical standards:** the study was approved by the Ethics Committee of Samara State Medical University (protocol № 2018/196). All patients signed a voluntary informed consent to participate in the study (dental implantation and orthopedic treatment, collection of oral fluid samples).

✉ **Correspondence should be addressed:** Sergey S. Komlev  
Chapayevskaya 89, Samara, 443099; stomat.ks@mail.ru

**Received:** 27.11.2018 **Accepted:** 03.04.2019 **Published online:** 13.04.2019

**DOI:** 10.24075/brsmu.2019.025

При лечении пациентов с частичным и полным отсутствием зубов ортопедическими конструкциями с опорой на дентальные имплантаты важны планирование оперативного вмешательства, выбор имплантационной системы и ортопедической конструкции, прогнозирование

исхода избранного комплекса мероприятий. Актуальна объективная оценка морфофункциональных характеристик состояния мягких тканей и костных структур, прилежащих к дентальному имплантату. Она позволяет предотвратить ошибки, которые могут приводить к нарушению процессов

остеоинтеграции в системе челюсть — дентальный имплантат и способствовать развитию ранних и поздних воспалительно-деструктивных осложнений [1].

После имплантации серийно выпускаемых дентальных имплантатов, разборных дентальных имплантатов и ортопедического лечения усовершенствованными ортопедическими конструкциями необходимо изучать факторы, служащие индикаторами доклинической стадии развития деструктивно-воспалительных нарушений. С этой целью проводят изучение ротовой жидкости как биосреды, обеспечивающей гомеостаз тканей периимплантатной зоны [2–4].

Регенерация костной ткани вокруг имплантата после операции дентальной имплантации представляет собой совокупность процессов структурного и функционального восстановления после повреждения. В основе репарации кости лежат механизмы трансформации недифференцированных клеток в остеобласты, процесс остеоиндукции, а также возникновение матрикса, обеспечивающего отложение костного вещества. К показателям, отражающим процессы деструкции и состояние минерализации–деминерализации костной ткани, относятся остеокальцин, С-реактивный белок (СРБ), продукт расщепления С-телопептида коллагена I типа ( $\beta$ -CrossLaps) [5–8].

Остеокальцин представляет собой неколлагеновый кальцийсвязывающий белок костного матрикса, состоящий из 49 аминокислотных остатков. Он синтезируется почти исключительно остеобластами и участвует в процессах минерализации, является маркером костного ремоделирования.  $\beta$ -CrossLaps — маркер резорбции костной ткани. СРБ — классический белок острой фазы воспаления, который рассматривают как наиболее чувствительный лабораторный маркер инфекции, воспаления и тканевого повреждения. По структуре СРБ состоит из пяти идентичных полипептидных субъединиц, образующих циклическую дискообразную пентамерную структуру. Синтез СРБ происходит в гепатоцитах и регулируется провоспалительными цитокинами. На фоне воспаления, инфекции или травматического повреждения уровень СРБ быстро возрастает. В ротовой жидкости после активации его синтеза в гепатоцитах уровень СРБ достигает максимальных значений через 24 ч [9–12].

Осложнения при дентальной имплантации возникают в 6–23% случаев. По данным эпидемиологических исследований, у пациентов, длительно пользующихся протезами с опорой на дентальные имплантаты, признаки мукозита присутствуют в 80% наблюдений, а периимплантита — в 28–56%. Клинические проявления дентального периимплантита обусловлены наличием воспалительно-деструктивного процесса. Значительное число публикаций свидетельствует о большой информативности оценки качественных и количественных показателей ротовой жидкости пациентов, возможности использовать показатели ротовой жидкости с прогностической целью при дентальной имплантации [13–15].

Целью работы было определить уровни маркеров  $\beta$ -CrossLaps, СРБ, остеокальцина после ортопедического лечения пациентов с применением усовершенствованных технологий протезирования с опорой на дентальные имплантаты.

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В исследование вошли 52 пациента основной и 12 пациентов контрольной групп. Критерии включения

пациентов в исследование: любой пол; частичное отсутствие зубов I и II классов по Кеннеди. Критерии исключения: наличие зубочелюстных аномалий; наличие заболеваний эндокринной системы, желудочно-кишечного тракта.

Пациенты основной группы были разделены на две подгруппы: основная группа 1 и основная группа 2. В основную группу 1 вошли 12 пациентов: 4 мужчин и 8 женщин в возрасте 45–65 лет. Пациентам этой группы установили съемные ортопедические конструкции с металлическим каркасом и фиксирующими элементами. Использовали телескопические коронки и замковые крепления. Было установлено 28 разборных дентальных имплантатов нашей конструкции (Патент РФ № 2593349).

В основную группу 2 вошли 40 пациентов: 15 мужчин и 25 женщин в возрасте 45–65 лет. Пациентам этой группы установили съемные ортопедические конструкции с опорой на серийно выпускаемые дентальные имплантаты (85 дентальных имплантатов). Фиксирующие элементы располагались в металлическом каркасе съемного протеза.

Пациентам основной группы изготавливали съемные протезы из термопластов, нейлона с металлическим каркасом (Патент РФ № 2588488). Введение в термопласт литых каркасов позволило равномерно распределить нагрузку на опорные зубы и дентальные имплантаты, получить возможность стабилизации по плоскости, повысить фиксацию протеза.

Контрольную группу составили 12 пациентов: 3 мужчин и 9 женщин в возрасте 45–65 лет, которым были изготовлены съемные ортопедические конструкции из акриловых пластмасс с опорой на дентальные имплантаты, выпускаемые серийно. Фиксирующие элементы располагались в базе съемной ортопедической конструкции; в зависимости от дефекта зубного ряда устанавливали 2–3 дентальных имплантата.

При обследовании пациентов оценивали стоматологический статус. Всем участникам проводили биохимический анализ образцов ротовой жидкости путем определения метаболических показателей:  $\beta$ -CrossLaps, СРБ, остеокальцина. Изучение метаболических процессов гомеостаза полости рта представляет собой неинвазивный метод исследования. Оценка метаболических процессов в костной ткани пациентов контрольной и основной групп проводили через 6 месяцев после ортопедического лечения. На этапе биохимического исследования слюны у пациентов не было признаков острых соматических заболеваний.

Определение количественного содержания в составе ротовой жидкости  $\beta$ -CrossLaps и остеокальцина осуществляли твердофазным пробирочным методом в электрохемилюминесцентной реакции на основе стрептавидин-биотиновой технологии с рутениевой меткой на автоматизированном электрохемилюминесцентном лабораторном комплексе «Elecys-2010» (F. Hoffmann-La Roche; Швейцария). Определение СРБ проводили на биохимическом анализаторе Cobas Integra 400 plus (F. Hoffmann La Roche; Швейцария). Использовали диагностические наборы (F. Hoffmann La Roche; Швейцария): набор калибраторов для определения  $\beta$ -CrossLaps, N-MID остеокальцина, набор реагентов для количественного определения  $\beta$ -CrossLaps, N-MID остеокальцина, С-реактивный белок Lx.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием *t*-критерия Стьюдента на персональном компьютере под управлением операционной

системы Microsoft Windows 10 с применением статистического пакета SPSS Statistics 21.0 (лицензия № 20130626-3; США).

Применяли параметрический *t*-критерий Стьюдента, а также непараметрический дисперсионный анализ Краскела–Уоллиса и тест Манна–Уитни.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В таблице представлены значения метаболических показателей образцов ротовой жидкости у пациентов контрольной и основной групп через 6 месяцев после ортопедического лечения.

В основной группе содержание  $\beta$ -CrossLaps в ротовой жидкости в среднем составило  $0,0126 \pm 0,002$  нг/мл, в контрольной группе —  $0,0147 \pm 0,002$  нг/мл. В процессе резорбции костной ткани тепопептиды с остатками молекул коллагена попадают в ротовую жидкость.

Содержание СРБ в ротовой жидкости у пациентов основной группы в среднем составило  $0,358 \pm 0,019$  мг/л, у пациентов контрольной группы —  $0,78 \pm 0,01$  мг/л.

Для оценки метаболических процессов в костной ткани пациентов после проведенного ортопедического лечения нами была проведена оценка содержания остеокальцина в ротовой жидкости. В основной группе оно составило в среднем  $1,46 \pm 0,25$  нг/мл, в контрольной группе — в среднем  $1,98 \pm 0,31$  нг/мл. Остеокальцин, белок костного матрикса, содержащий  $\gamma$ -карбоксиглутаминовую кислоту, способствует фиксации ионов кальция и создает условия для минерализации. Остеокальцин обладает хемотаксическими свойствами по отношению к клеткам-предшественницам остеобластов и остеокластов, привлекая их в зону остеогенеза.

В основной группе биохимические показатели у 3 пациентов имели следующие значения:  $\beta$ -CrossLaps —  $0,0295 \pm 0,002$  нг/мл, СРБ —  $1,17 \pm 0,03$  мг/л, остеокальцина —  $2,92 \pm 0,11$  нг/мл. В контрольной группе у 3 пациентов значения составили:  $\beta$ -CrossLaps —  $0,0463 \pm 0,002$  нг/мл, СРБ —  $1,49 \pm 0,01$  мг/л, остеокальцина —  $3,11 \pm 0,17$  нг/мл. Полученные результаты значений метаболических показателей пациентов контрольной группы свидетельствуют о деструктивных процессах в костной ткани, характерных для периимплантита. Количество осложнений в основной и контрольной группах пациентов составило 5,8 и 16,7% соответственно.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Состояние гомеостаза полости рта после операции дентальной имплантации изучали путем определения показателей метаболизма ротовой жидкости пациентов контрольной и основной групп, отражающих наличие процессов деструкции, состояние минерализации и

деминерализации костной ткани. Исследование ранних предикторов [2, 6, 11] воспалительно-деструктивного процесса в периимплантатной зоне позволяет осуществлять контроль динамики процессов остеоинтеграции в системе челюсть — дентальный имплантат. Метаболические показатели  $\beta$ -CrossLaps, СРБ, остеокальцина отражали интенсивность воспалительной реакции, характерную для травматического процесса при операции дентальной имплантации.

Анализ СРБ представляется объективным методом скрининга активности воспалительного процесса у пациентов контрольной и основной групп после проведения дентальной имплантации с использованием серийно выпускаемых дентальных имплантатов, разборных дентальных имплантатов и проведенного ортопедического лечения с использованием усовершенствованных ортопедических конструкций.

Для оценки метаболических процессов в костной ткани пациентов после операции дентальной имплантации нами была проведена оценка содержания остеокальцина.

Метод изучения ротовой жидкости как основной гомеостатической среды полости рта объективно отразил реакцию тканей полости рта при воспалительно-деструктивных процессах, которые возникали у пациентов контрольной и основной групп после проведения операции дентальной имплантации. При наличии незначительных воспалительных явлений происходили изменения метаболических показателей ротовой жидкости, связанные с поступлением фрагментов деструкции белковых макромолекул, недоокисленных продуктов обмена.

Увеличение уровня остеокальцина в ротовой жидкости свидетельствовало о снижении минерализации в периимплантатной зоне и пластических ресурсов костной ткани у пациентов контрольной группы. Повышенное содержание СРБ отражает выраженность воспалительной реакции, что позволило получить дополнительные оценочные критерии для характеристики патологического процесса. У пациентов контрольной группы через 3 месяца противовоспалительной и антимикробной терапии произошло снижение уровня биохимических показателей.

Более низкие уровни показателей воспаления у пациентов основной группы по сравнению с контрольной мы связываем с использованием усовершенствованных ортопедических конструкций и фиксирующих элементов с опорой на титановые абатменты разборных дентальных имплантатов.

При анализе результатов содержания белков остеома матрикса в слюне установлено резкое увеличение фрагментов распада  $\beta$ -CrossLaps и рост концентрации остеокальцина и СРБ. Эти данные свидетельствуют о специфике выявленных нарушений биохимического состава ротовой жидкости при ускорении остекластических процессов у пациентов с осложнениями.

**Таблица 1.** Метаболические показатели  $\beta$ -CrossLaps, СРБ, остеокальцина у пациентов контрольной и основной групп через 6 месяцев после дентальной имплантации

Параметры	Референсные значения	Основная группа		Контрольная группа
		1	2	
$\beta$ -CrossLaps (нг/мл)	$0,01 \pm 0,001$	$0,0123 \pm 0,002^*$	$0,0128 \pm 0,002^*$	$0,0147 \pm 0,002$
СРБ (мг/л)	$0,1 \pm 0,001$	$0,241 \pm 0,013^*$	$0,476 \pm 0,024^*$	$0,78 \pm 0,01$
Остеокальцин (нг/мл)	$1,11 \pm 0,11$	$1,33 \pm 0,26^*$	$1,58 \pm 0,24$	$1,98 \pm 0,31$

**Примечание:** \* — достоверность различий по сравнению с данными лиц контрольной группы ( $p < 0,05$ ).

Характерным показателем усиленной резорбции костной ткани является установленное увеличение содержания фрагментов коллагена ( $\beta$ -CrossLaps), остеокальцина, СРБ.

## ВЫВОДЫ

Результаты наших исследований подтвердили, что такие метаболические показатели, как  $\beta$ -CrossLaps, СРБ, остеокальцин, у пациентов после дентальной имплантации

информативны относительно прогнозирования осложнений при использовании различных видов дентальных имплантатов. Более низкий процент осложнений и меньшее отклонение от нормы уровня показателей воспаления у пациентов основной группы по сравнению с контрольной предположительно связаны с использованием усовершенствованных ортопедических конструкций и фиксирующих элементов с опорой на титановые абатменты разборных дентальных имплантатов.

## Литература

1. Aziz S. Hard and soft tissue surgical complications in dental implantology. *Oral Maxillofac. Surg Clin North Am.* 2015; 27 (2): 313–8.
2. Guobis Z, Pacauskiene I, Astramskaite I. General diseases influence on peri-implantitis development: a systematic review. *J Oral Maxillofac Res.* 2016; 7 (5): 9–14.
3. Lohmann CH, Rampal S, Lohrengel M, Singh G. Imaging in peri-prosthetic assessment: an orthopaedic perspective. *EFORT Open Rev.* 2017; 2 (5): 117–25.
4. Greenstein G, Carpentieri J, Cavallaro J. Nerve damage related to implant dentistry: incidence, diagnosis, and management. *Compend Contin Educ Dent.* 2015; 36 (9): 652–9.
5. Alikhasi M, Alsharbaty MHM, Moharrami M. Digital Implant Impression Technique Accuracy: A Systematic Review. *Implant Dent.* 2017; 26(6): 929–35. DOI: 10.1097/ID.0000000000000683.
6. Атрушкевич В. Г., Школьная К. Д. Особенности минерального и костного обмена у пациентов в зависимости от характера течения пародонтита. Лечение и профилактика. 2017; 2 (22): 85–92.
7. Alrabeah GO, Brett P, Knowles JC, Petridis H. The effect of metal ions released from different dental implant-abutment couples on osteoblast function and secretion of bone resorbing mediators. *J Dent.* 2017; 66: 91–101. DOI: 10.1016/j.jdent.2017.08.002.
8. Boronat-Catala M, Catala-Pizarro M, Bagan Sebastian J. Salivary and crevicular fluid interleukins in gingivitis. *J Clin Exp Dent.* 2014; 6 (1): 175–9.
9. Casado PL, Aguiar DP, Costa LC. Different contribution of BRINP3 gene in chronic periodontitis and periimplantitis: a cross-sectional study. *BMC Oral. Health.* 2015; (15): 33. DOI 10.1186/s12903-015-0018-6.
10. Плюхин Д. В. Содержание продуктов свободнорадикального окисления в костной ткани и исход дентальной имплантации. Медицинская наука и образование Урала. 2016; 1 (85): 105–7.
11. Козлова М. В., Мкртумян А. М., Белякова А. С. Регуляция метаболических процессов кости при дентальной имплантации. Кремлевская медицина. Клинический вестник. 2018; (2): 30–9.
12. Riega-Torres JC, Villarreal-Gonzalez AJ, Ceceñas-Falcon LÁ, Salas-Alanis JC. Sjögren's syndrome (SS), a review of the subject and saliva as a diagnostic method. *Gac Med Mex.* 2016; 152 (3): 371–80.
13. Modi A, Morou-Bermudez E, Vergara J, et al. Validation of two point-of-care tests against standard lab measures of NO in saliva and in serum. *Nitric Oxide.* 2017; (64): 16–21. DOI: 10.1016/j.niox.2017.01.009.
14. Alkan EA, Tüter G, Parlar A, et al. Evaluation of peri-implant crevicular fluid prostaglandin levels in augmented extraction sockets by different biomaterials. *Acta Odontol Scand.* 2016; 74 (7): 532–8.
15. Fernandes MH, Gomes PS. Bone Cells Dynamics during Peri-Implantitis: a Theoretical Analysis. *J Oral Maxillofac Res.* 2016; 7 (3): e6.

## References

1. Aziz S. Hard and soft tissue surgical complications in dental implantology. *Oral Maxillofac. Surg Clin North Am.* 2015; 27 (2): 313–8.
2. Guobis Z, Pacauskiene I, Astramskaite I. General diseases influence on peri-implantitis development: a systematic review. *J Oral Maxillofac Res.* 2016; 7 (5): 9–14.
3. Lohmann CH, Rampal S, Lohrengel M, Singh G. Imaging in peri-prosthetic assessment: an orthopaedic perspective. *EFORT Open Rev.* 2017; 2 (5): 117–25.
4. Greenstein G, Carpentieri J, Cavallaro J. Nerve damage related to implant dentistry: incidence, diagnosis, and management. *Compend Contin Educ Dent.* 2015; 36 (9): 652–9.
5. Alikhasi M, Alsharbaty MHM, Moharrami M. Digital Implant Impression Technique Accuracy: A Systematic Review. *Implant Dent.* 2017; 26(6): 929–35. DOI: 10.1097/ID.0000000000000683.
6. Атрушкевич В. Г., Школьная К. Д. Особенности минерального и костного обмена у пациентов в зависимости от характера течения пародонтита. Лечение и профилактика. 2017; 2 (22): 85–92.
7. Alrabeah GO, Brett P, Knowles JC, Petridis H. The effect of metal ions released from different dental implant-abutment couples on osteoblast function and secretion of bone resorbing mediators. *J Dent.* 2017; 66: 91–101. DOI: 10.1016/j.jdent.2017.08.002.
8. Boronat-Catala M, Catala-Pizarro M, Bagan Sebastian J. Salivary and crevicular fluid interleukins in gingivitis. *J Clin Exp Dent.* 2014; 6 (1): 175–9.
9. Casado PL, Aguiar DP, Costa LC. Different contribution of BRINP3 gene in chronic periodontitis and periimplantitis: a cross-sectional study. *BMC Oral. Health.* 2015; (15): 33. DOI 10.1186/s12903-015-0018-6.
10. Plyuhin DV. Soderzhanie produktov svobodnoradikal'nogo oksigenija v kostnoj tkani i ishod dental'noj implantacii. *Medicinskaja nauka i obrazovanie Urala.* 2016; 1 (85): 105–7.
11. Kozlova MV, Mkrumyan AM, Belyakova AS. Reguljacija metabolicheskikh processov kosti pri dental'noj implantacii. *Kremlevskaja medicina. Klinicheskij vestnik.* 2018; (2): 30–9.
12. Riega-Torres JC, Villarreal-Gonzalez AJ, Ceceñas-Falcon LÁ, Salas-Alanis JC. Sjögren's syndrome (SS), a review of the subject and saliva as a diagnostic method. *Gac Med Mex.* 2016; 152 (3): 371–80.
13. Modi A, Morou-Bermudez E, Vergara J, et al. Validation of two point-of-care tests against standard lab measures of NO in saliva and in serum. *Nitric Oxide.* 2017; (64): 16–21. DOI: 10.1016/j.niox.2017.01.009.
14. Alkan EA, Tüter G, Parlar A, et al. Evaluation of peri-implant crevicular fluid prostaglandin levels in augmented extraction sockets by different biomaterials. *Acta Odontol Scand.* 2016; 74 (7): 532–8.
15. Fernandes MH, Gomes PS. Bone Cells Dynamics during Peri-Implantitis: a Theoretical Analysis. *J Oral Maxillofac Res.* 2016; 7 (3): e6.

## ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ ДЛЯ ОЦЕНКИ ХРОНИЧЕСКОГО ГЕНЕРАЛИЗОВАННОГО ПАРОДОНТИТА У ПАЦИЕНТОВ С МЕТАБОЛИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ

Н. Б. Петрухина<sup>1,2</sup>, О. А. Зорина<sup>1,2</sup>, Е. В. Ших<sup>1</sup>, Е. В. Картышева<sup>1</sup>✉, А. В. Кудрявцев<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия

<sup>2</sup> Центральный научно-исследовательский институт стоматологии и челюстно-лицевой хирургии, Москва, Россия

Патогенез пародонтита включает сложный иммунный воспалительный каскад, который инициируется бактериями биопленки, а восприимчивость или вероятность развития заболевания определяется реакцией организма человека, в частности, величиной воспалительного ответа и дифференциальной активацией иммунных путей. Цель исследования — разработать прогностическую модель для оценки риска развития тяжелой степени хронического генерализованного пародонтита в зависимости от содержания фактора некроза опухоли- $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ ) в экссудате пародонтального кармана (ПК) пациента. При клинико-инструментальном обследовании 537 пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом и метаболическим синдромом установлено, что уровень повышения ФНО- $\alpha$  в содержимом ПК коррелировал со степенью тяжести хронического генерализованного пародонтита (ХГП): более высокие значения цитокина соответствовали более тяжелой степени. Разработанная в программе Statistica.10 прогностическая модель дала возможность использовать уровень ФНО- $\alpha$  в содержимом ПК пациента в качестве прогностического критерия течения ХГП. Определено критическое значение, при превышении которого с диагностической чувствительностью 91,2% и специфичностью 70,8% можно заключить о высоком риске развития тяжелой степени ХГП. Созданное окно в программе Microsoft Excel 2010 позволяет автоматически рассчитывать риск развития тяжелой степени ХГП в зависимости от индивидуального значения концентрации ФНО- $\alpha$  в содержимом ПК пациента, что делает данную модель удобной для применения врачами-стоматологами.

**Ключевые слова:** пародонтит, метаболический синдром, цитокины, фактор некроза опухоли, ФНО, прогностическая модель

**Информация о вкладе авторов:** Н. Б. Петрухина, Е. В. Ших — планирование исследования, анализ и интерпретация данных; О. А. Зорина — анализ и интерпретация данных; Е. В. Картышева — сбор данных, анализ и интерпретация данных; А. В. Кудрявцев — черновик рукописи, анализ литературы.

**Соблюдение этических стандартов:** этический комитет Первого МГМУ им. И. М. Сеченова (Сеченовский Университет) (протокол № 10–15 от 18 ноября 2015 г.); все пациенты подписали добровольное согласие на участие в исследовании.

✉ **Для корреспонденции:** Екатерина Владимировна Картышева, ул. Большая Пироговская, д. 2, стр. 4, г. Москва, 119991; 89057676464@mail.ru

**Статья получена:** 24.09.2018 **Статья принята к печати:** 31.03.2019 **Опубликована онлайн:** 14.04.2019

**DOI:** 10.24075/vrgmu.2019.026

## A PROGNOSTIC MODEL FOR THE PREDICTION OF GENERALIZED CHRONIC PERIODONTITIS IN PATIENTS WITH METABOLIC SYNDROME

Petrukhina NB<sup>1,2</sup>, Zorina OA<sup>1,2</sup>, Shikh EV<sup>1</sup>, Kartysheva EV<sup>1</sup>✉, Kudryavtsev AV<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia

<sup>2</sup> Central Research Institute of Dentistry and Maxillofacial Surgery, Moscow, Russia

The pathogenesis of periodontitis involves a complex inflammatory cascade initiated by biofilm bacteria. The susceptibility to or the risk of developing the disease is determined by the body's response to the invasion, specifically, by the strength of the inflammatory response and the differential activation of immune pathways. In this paper, we propose a model for predicting the risk of severe chronic generalized periodontitis (GCP) in patients with metabolic syndrome based on the levels of tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ) in the periodontal pocket exudate. The analysis of oral cavity cytokine profiles conducted in 537 patients with GCP and comorbid metabolic syndrome showed that increased TNF- $\alpha$  correlated with the severity of GCP: higher levels of TNF- $\alpha$  were observed in patients whose condition was more severe. The prognostic model built in Statistica. 10 allowed us to use TNF- $\alpha$  as a prognostic criterium for GCP severity. We determined the cut-off point above which a high risk of severe GCP can be concluded with 91.2% sensitivity and 70.8% specificity. The spreadsheet in Microsoft Excel 2010 automatically computed the risk of severe GCP from a patient's TNF- $\alpha$  concentrations in the PP, which makes the model convenient for routine clinical use in dentistry.

**Keywords:** periodontitis, metabolic syndrome, cytokines, tumor necrosis factor, TNF, prognostic model

**Author contribution:** Petrukhina NB and Shikh EV conceived the study, analyzed and interpreted the obtained data; Zorina OA analyzed and interpreted the obtained data; Kartysheva EV collected the samples, analyzed the literature and interpreted the obtained data; Kudryavtsev AV prepared the manuscript draft and analyze the literature.

**Compliance with ethical standards:** the study was approved by the Ethics Committee of I.M.Sechenov First Moscow State Medical University (Protocol No. 10–15 dated November 18, 2015). All patients gave informed consent to participate.

✉ **Correspondence should be addressed:** Ekaterina V. Kartysheva, Bolshaya Pirogovskaya 2, bld. 4, Moscow, 119991; 89057676464@mail.ru

**Received:** 24.09.2018 **Accepted:** 31.03.2019 **Published online:** 14.04.2019

**DOI:** 10.24075/brsmu.2019.026

Фактор некроза опухоли- $\alpha$  (ФНО- $\alpha$ ) является одним из ключевых ранних воспалительных цитокинов при деструктивных заболеваниях пародонта [1]. Клиническими исследованиями доказано, что повышенный уровень ФНО- $\alpha$  является фактором риска для развития заболеваний пародонта. Объясняется это тем, что ФНО- $\alpha$ , обладая различными эффектами, вызывает деструктивные изменения в пародонтальном комплексе

как минимум двумя путями. Первое, ФНО- $\alpha$  стимулирует образование остеокластов, что приводит к разрушению альвеолярной кости [2, 3]. Второе, ФНО- $\alpha$ , как один из ранних промоторов реакции организма на внедрение пародонталопатогенов, регулирует синтез матриксных металлопротеиназ (ММП), которые способны разрушать соединительные ткани. Помимо этого, клиническими исследованиями было доказано, что уровень ФНО- $\alpha$

системно повышен как при ожирении, так и при метаболическом синдроме [4]. Объясняется это тем, что адипоциты жировой ткани выделяют ФНО- $\alpha$ , и, следовательно, избыток жира при ожирении приводит к системному хроническому воспалению [5, 6]. Позднее было установлено, что уровни ФНО- $\alpha$  также коррелируют с инсулинорезистентностью [7]. ФНО- $\alpha$  является паракринным медиатором в адипоцитах и действует локально для снижения чувствительности адипоцитов к инсулину [8]. Существует двунаправленная связь между заболеваниями пародонта и метаболическим синдромом. Тяжесть системного воспаления при метаболическом синдроме может регулировать воспалительный процесс в пародонте, а продукты воспаления пародонта повышают уровень системных цитокинов. Целью исследования было разработать прогностическую модель для оценки риска развития тяжелой степени хронического генерализованного пародонтита в зависимости от содержания ФНО- $\alpha$  в экссудате пародонтального кармана (ПК) пациента.

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Нами были обследованы 537 пациентов с диагнозом хронический генерализованный пародонтит (ХГП) и метаболический синдром в возрасте 35–65 лет. В исследовании приняли участие 243 женщины (45,25%) и 294 мужчины (54,75%). Кроме деления по половому признаку были сформированы три возрастные группы пациентов: 1-я группа — пациенты 35–44 лет (средний возраст  $41,7 \pm 2,1$ ); 2-я группа 45–54 года (средний возраст  $52,2 \pm 1,2$ ); 3-я группа — пациенты в возрасте 55–65 лет (средний возраст  $63,4 \pm 1,1$ ). Критерии включения пациентов в исследование: наличие письменного информированного согласия пациента для участия в исследовании; возраст 35–65 лет; пол — мужчины и женщины; наличие установленного диагноза ХГП в сочетании с метаболическим синдромом; индекс массы тела  $\geq 25$  кг/м<sup>2</sup>. Критерии исключения пациентов: возраст моложе 35 лет; наличие заболеваний крови и кроветворных органов; наличие заболеваний центральной нервной системы (как врожденные, так и приобретенные); наличие злокачественных новообразований различных органов и систем (рак, саркома); наличие хронических соматических заболеваний в стадии декомпенсации (инфаркт миокарда, системный тромбоз/эмболия); период беременности.

Для получения содержимого ПК использовали стерильные полоски фильтровальной бумаги, которые вводили в ПК на 30 с, затем помещали в пробирку эппендорф со стерильным физиологическим раствором (1 мл) на 40 мин. Спустя указанное время, с помощью пинцета полоски бумаги вынимали, содержимое пробирки эппендорфа анализировали. Определение уровня цитокина

ФНО- $\alpha$  в исследуемых образцах содержимого ПК проводили методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием соответствующих тест-систем фирмы BIOSOURCE (Europe S. A.; Бельгия). Учет результатов иммуноферментного анализа осуществляли с использованием фотометра для микропланшетов при длине волны 450 нм. Концентрацию цитокинов определяли по калибровочной кривой в пг/мл.

Для создания модели по прогнозированию неблагоприятного течения ХГП в зависимости от концентрации ФНО- $\alpha$  была создана статистическая матрица первичных данных в программе Statistica.10 (StatSoft; США). В окне итоговых результатов рассчитывали коэффициенты модели, которые включали в соответствующее математическое выражение. Далее осуществляли построение характеристической кривой (ROC-кривая или Receiver Operator Characteristic curve) с помощью ROC-анализа для расчета порога отсечения (cut-off). Порог отсечения позволяет применять модель на практике: относить новые примеры к одному из двух классов в зависимости от соотношения величины показателя с точкой cut-off. Кроме того, с помощью анализа ROC-кривых проводили оценку диагностической эффективности модели путем определения площади под ROC-кривой (AUC или Area Under Curve), которая рассчитывается автоматически методом трапеций.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На основе полученных данных (табл. 1) нами была разработана прогностическая модель оценки риска развития тяжелой степени ХГП.

Представленное математическое выражение позволяет рассчитать риск утяжеления деструктивного поражения пародонтального комплекса в зависимости от уровня ФНО- $\alpha$  в содержимом ПК. При анализе содержимого ПК пациента измеряют концентрацию ФНО- $\alpha$  и подставляют это значение в математическое выражение:

$$W = -3,2 + 1,2 \cdot \log_{10}(Y),$$

где  $W$  — риск развития тяжелой степени ХГП в зависимости от цитокинового профиля полости рта;  $Y$  — концентрация ФНО- $\alpha$  в содержимом ПК в пг/мл.

Графическая иллюстрация зависимости риска тяжелого течения ХГП от концентрации ФНО- $\alpha$  в содержимом ПК представлена на рис. 1. С повышением концентрации ФНО- $\alpha$  в содержимом ПК риск развития тяжелой степени ХГП возрастает.

Для каждого больного в исследовательской группе был рассчитан риск  $W$  развития тяжелой степени ХГП от концентрации ФНО- $\alpha$  в содержимом ПК. Далее методом ROC-анализа определено критическое значение  $W$

**Таблица 1.** Содержание ведущего провоспалительного иммуноцитокина ФНО- $\alpha$  в содержимом ПК у пациентов с ХГП и метаболическим синдромом

Показатель	35–44 года		45–54 года		55–65 лет	
	М	Ж	М	Ж	М	Ж
Легкая степень ХГП						
ФНО- $\alpha$ (пг/мл)	576,80 $\pm$ 19,49	584,96 $\pm$ 21,54	611,78 $\pm$ 21,67	634,57 $\pm$ 23,5	645,67 $\pm$ 23,7	678,45 $\pm$ 24,9
Средняя степень ХГП						
ФНО- $\alpha$ (пг/мл)	845,44 $\pm$ 32,76	876,5 $\pm$ 33,7	848,34 $\pm$ 24,5	998,56 $\pm$ 21,5*	945,81 $\pm$ 32,33	1045,33 $\pm$ 31,56
Тяжелая степень ХГП						
ФНО- $\alpha$ (пг/мл)	878,93 $\pm$ 32,11	911,23 $\pm$ 31,67	905,78 $\pm$ 35,6	1145,87 $\pm$ 35,11*	1234,56 $\pm$ 33,17	1341,54 $\pm$ 33,98

**Примечание:** \* — достоверные различия по полу.

(точка cut-off), равное 0,3, при превышении которого с максимальными диагностической чувствительностью и специфичностью было сформировано заключение о высоком риске развития тяжелой степени ХГП.

Если  $W \geq 0,3$ , то риск развития тяжелой степени ХГП высокий, а при  $W < 0,3$  — низкий. Данное заключение формируется с диагностической чувствительностью 91,2% и специфичностью 70,8%.

На рис. 2 представлена ROC-кривая при различных значениях коэффициента прогноза  $W$ . В табл. 2 отражены значения диагностической чувствительности и специфичности, согласно которым величина  $W$ , равная 0,3, имела наибольшие чувствительность и специфичность.

Площадь под ROC-кривой имела высокое значение  $0,862 \pm 0,05$  ( $z = 7,3$ ;  $p < 0,001$ ) с доверительным интервалом 0,765–0,959, что свидетельствовало о высокой диагностической значимости определения риска  $W$  развития тяжелой степени ХГП по цитокиновому профилю полости рта.

Для автоматического расчета  $W$  (риска развития тяжелой степени ХГП) использовали окно в программе

Microsoft Excel 2010, куда в маркированную цветом область вводили индивидуальные значения концентрации ФНО- $\alpha$  в содержимом ПК (рис. 3).

### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В патогенезе заболеваний пародонта ФНО- $\alpha$  играет ключевую роль. Если липополисахариды бактерий проникают в ткани пародонта, то при участии лимфоцитов с кластером дифференцировки CD14 макрофаги через специфичные для распознавания рецепторы активируют ряд врожденных и адаптивных механизмов защиты. Чрезмерный иммунный ответ служит причиной хронического воспаления и развития деструктивных процессов в пародонте [9, 10]. Простагландин E2, IL1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$  являются ключевыми воспалительными медиаторами, способствующими посредством индукции тканевых металлопротеиназ активации остеокластической резорбции и деструкции пародонта [11]. Ряд неиммунных клеток пародонта (эпителиальные клетки, фибробласты) могут распознавать и реагировать на действие

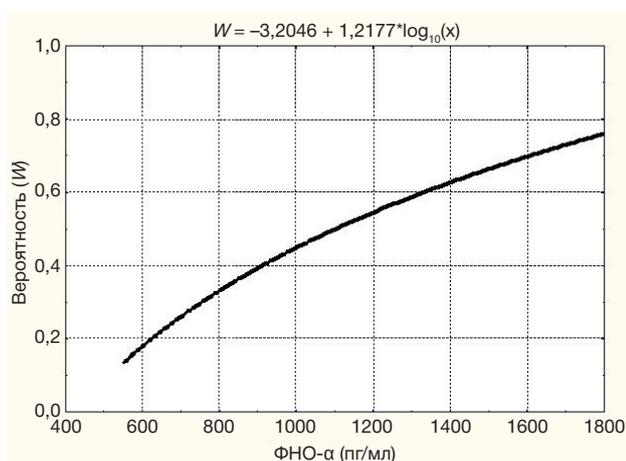


Рис. 1. График зависимости риска развития тяжелой степени ХГП от концентрации ФНО- $\alpha$  в содержимом ПК

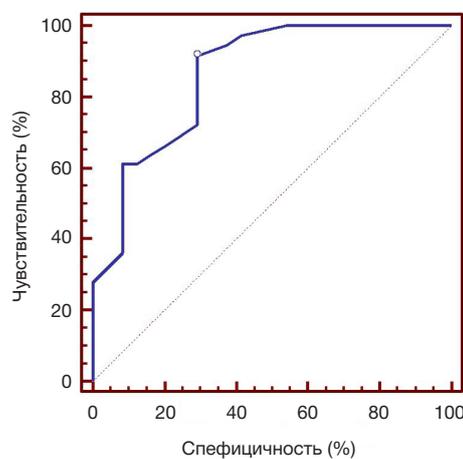


Рис. 2. ROC-кривая как соотношение диагностической чувствительности и специфичности для определения риска развития тяжелой степени ХГП по цитокиновому профилю полости рта

Таблица 2. Соотношение чувствительности и специфичности при различных значениях коэффициента прогноза  $W$  для определения риска развития тяжелой степени ХГП по цитокиновому профилю полости рта

Показатель $W$	Диагностическая чувствительность	ДИ ДЧ	Диагностическая специфичность	ДИ ДС
> 0,29	94,44	81,3 – 99,3	62,5	40,6 – 81,2
> 0,3*	91,67	77,5 – 98,2	70,83	48,9 – 87,4
> 0,32	86,11	70,5 – 95,3	70,83	48,9 – 87,4
> 0,33	83,33	67,2 – 93,6	70,83	48,9 – 87,4
> 0,34	80,56	64,0 – 91,8	70,83	48,9 – 87,4
> 0,35	72,22	54,8 – 85,8	70,83	48,9 – 87,4
> 0,36	69,44	51,9 – 83,7	75	53,3 – 90,2
> 0,38	66,67	49,0 – 81,4	79,17	57,8 – 92,9
> 0,4	63,89	46,2 – 79,2	83,33	62,6 – 95,3
> 0,41	61,11	43,5 – 76,9	87,5	67,6 – 97,3
> 0,45	61,11	43,5 – 76,9	91,67	73,0 – 99,0
> 0,46	55,56	38,1 – 72,1	91,67	73,0 – 99,0
> 0,5	44,44	27,9 – 61,9	91,67	73,0 – 99,0
> 0,51	36,11	20,8 – 53,8	91,67	73,0 – 99,0
> 0,52	27,78	14,2 – 45,2	100	85,8 – 100,0

Примечание: \* — разделительная точка cut-off.



Рис. 3. Окно в программе Microsoft Excel 2010 для автоматического расчета риска развития тяжелой степени ХГП по цитокиновому профилю полости рта

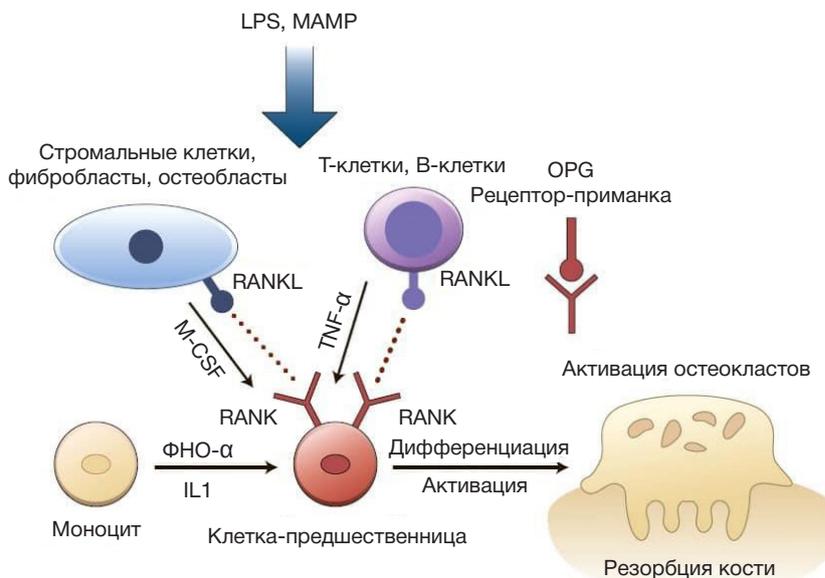


Рис. 4. Интеграция провоспалительных и остеотропных медиаторов при резорбции кости

воспалительных медиаторов IL1β и ФНО-α. Тканевые металлопротеиназы, вырабатываемые нейтрофилами, макрофагами, фибробластами, остеокластами, способствуя протеолизу коллагена, желатина, эластина, разрушают в большей мере соединительнотканые элементы опорных структур зуба. К семейству ФНО-α относятся остеотропные медиаторы — лиганды рецептора-активатора ядерного транскрипционного фактора NF-κB (RANKL), сами рецепторы RANKL, которые синтезируются остеокластами и способствуют остеорезорбции [12]. Связывание RANK-лиганда с RANK-рецептором сопровождается слиянием нескольких клеток-предшественниц в один зрелый многоядерный остеокласт, который начинает разрушать костную ткань (рис. 4).

В связи с этим изучение показателя ФНО-α в содержимом ПК конкретного пациента открывает новые возможности для прогнозирования тяжести течения ХГП.

## ВЫВОДЫ

В результате исследования установлено, что уровень повышения ФНО-α в содержимом ПК коррелировал со степенью тяжести ХГП у пациентов на фоне метаболического синдрома: более высокие значения цитокина соответствовали более тяжелой степени. Разработанная прогностическая модель дает возможность использовать уровень ФНО-α в содержимом ПК в качестве прогностического критерия течения ХГП. Определение уровня этого цитокина является перспективным информативным и одновременно неинвазивным методом, позволяющим оценивать прогноз заболевания. Преимущества использования данной прогностической модели: относительная невысокая стоимость и доступность метода, возможность быстрого получения результата, простота расчета, что является залогом успешного применения в каждодневной практике врача-стоматолога.

## Литература

1. Graves D, Cochran D. The contribution of interleukin-1 and tumor necrosis factor to periodontal tissue destruction. *J Periodontol.* 2003; 74 (3): 391–401.
2. Аганов Д. С., Тыренко В. В., Цыган Е. Н., Топорков М. М., Бологов С. Г. Роль цитокиновой системы RANKL/RANK/OPG в регуляции минерального обмена костной ткани. *Гены и клетки.* 2014; (4): 50–2.
3. Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor-alpha: direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science.* 1993; 259 (5091): 87–91.
4. Петрухина Н. Б., Рабинович И. М., Зорина О. А. Нарушение микробиоценоза рта у пациентов с метаболическим синдромом (часть 1). *Институт стоматологии.* 2014; 1 (62): 54–7.
5. Hivert MF, Sullivan LM, Fox CS, Nathan DM, D'Agostino RB Sr,

- Wilson PW et al. Associations of adiponectin, resistin, and tumor necrosis factor-alpha with insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008; 93 (8): 3165–72.
6. Hotamisligil GS, Arner P, Caro JF, Atkinson RL, Spiegelman BM. Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor-alpha in human obesity and insulin resistance. *J Clin Invest.* 2005; 95 (5): 2409–15.
  7. Gregor MF, Hotamisligil GS. Inflammatory mechanisms in obesity. *Annu Rev Immunol.* 2011; (29): 415–45.
  8. Kobayashi K, Takahashi N, Jimi E, Udagawa N, Takami M, Kotake S. et al. Tumor necrosis factor alpha stimulates osteoclast differentiation by a mechanism independent of the ODF/RANKL-RANK interaction. *J Exp Med.* 2000; 191 (2): 275–86.
  9. Lau DC, Dhillon B, Yan H, Szmitko PE, Verma S. Adipokines: molecular links between obesity and atherosclerosis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2005; 288 (5): 2031–41.
  10. Зорина О. А., Рабинович И. М., Петрухина Н. Б., Кудрявцева Е. В. Сравнительные результаты антропометрии и биоимпедансного исследования у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом и метаболическим синдромом. *Стоматология.* 2016; 95 (2): 91–2.
  11. Барер Г., Григорян С., Постнова Н. Роль интерферона и других цитокинов в возникновении и развитии заболеваний пародонта. *Cathedra.* 2006; 5 (3): 54–60.
  12. Sagalovsky S, Schönert M. RANKL-RANK-OPG system and bone remodeling: a new approach on the treatment of osteoporosis. *Clin Exptl Pathol.* 2011; 2 (10): 146–153.

## References

1. Graves D, Cochran D. The contribution of interleukin-1 and tumor necrosis factor to periodontal tissue destruction. *J Periodontol.* 2003; 74 (3): 391–401.
2. Aganov DS, Tyrenko VV, Cygan EN, Toporkov MM, Bologov SG. Rol' citokinovoj sistemy RANKL/RANK/OPG v regulyacii mineral'nogo obmena kostnoj tkani. *Geny i kletki.* 2014; (4): 50–2. Russian.
3. Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM. Adipose expression of tumor necrosis factor-alpha: direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science.* 1993; 259 (5091): 87–91.
4. Petrukhina NB, Rabinovich IM, Zorina OA. Narushenie mikrobiocenoza rta u pacientov s metabolicheskim sindromom (chast'1). *Institut stomatologii.* 2014; 1 (62): 54–7. Russian.
5. Hivert MF, Sullivan LM, Fox CS, Nathan DM, D'Agostino RB Sr, Wilson PW et al. Associations of adiponectin, resistin, and tumor necrosis factor-alpha with insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008; 93 (8): 3165–72.
6. Hotamisligil GS, Arner P, Caro JF, Atkinson RL, Spiegelman BM. Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor-alpha in human obesity and insulin resistance. *J Clin Invest.* 2005; 95 (5): 2409–15.
7. Gregor MF, Hotamisligil GS. Inflammatory mechanisms in obesity. *Annu Rev Immunol.* 2011; (29): 415–45.
8. Kobayashi K, Takahashi N, Jimi E, Udagawa N, Takami M, Kotake S. et al. Tumor necrosis factor alpha stimulates osteoclast differentiation by a mechanism independent of the ODF/RANKL-RANK interaction. *J Exp Med.* 2000; 191 (2): 275–86.
9. Lau DC, Dhillon B, Yan H, Szmitko PE, Verma S. Adipokines: molecular links between obesity and atherosclerosis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2005; 288 (5): 2031–41.
10. Zorina OA, Rabinovich IM, Petrukhina NB, Kudryavtseva EV. Sravnitel'nye rezul'taty antropometrii i bioimpedansnogo issledovaniya u pacientov s hronicheskim generalizovannym parodontitom i metabolicheskim sindromom. *Stomatologiya.* 2016; 95 (2): 91–2. Russian.
11. Barer G, Grigoryan S, Postnova N. Rol' interferona i drugih citokinov v vzniknovenii i razvitii zaboolevanij parodonta. *Cathedra.* 2006; 5 (3): 54–60. Russian.
12. Sagalovsky S, Schönert M. RANKL-RANK-OPG system and bone remodeling: a new approach on the treatment of osteoporosis. *Clin Exptl Pathol.* 2011; 2 (10): 146–53.

## АНАЛИЗ УГЛОВЫХ ОТКЛОНЕНИЙ МЕЖДУ ОСЯМИ ДЕНТАЛЬНЫХ ИМПЛАНТАТОВ, УСТАНОВЛЕННЫХ ПО КЛАССИЧЕСКОЙ МЕТОДИКЕ

А. В. Иващенко, А. Е. Яблоков <sup>✉</sup>, И. М. Федяев, В. П. Тлустенко, Н. Е. Ротин, В. В. Тугушев

Самарский государственный медицинский университет, Самара, Россия

Наиболее распространенной сложностью при постановке имплантатов является затрудненный выбор пространственного положения имплантатов. При интеграции имплантатов в полость рта две трети успеха операции зависят от того, насколько точно врач выберет позицию и угол наклона имплантата. Одной из важных проблем при установке имплантатов является их позиционирование в костном ложе. Целью работы было провести сравнительный анализ угловых отклонений дентальных имплантатов, установленных по классической методике, по «методу свободной руки» («free hand»). Использовали следующий алгоритм исследования. В декартовой системе координат на КТ-снимке в плоскости XOY (горизонтальная плоскость) определяли координаты шеек сравниваемых имплантатов у 34 исследуемых пациентов. Затем находили координаты апикальных частей всех исследуемых имплантатов. Полученные координаты помещали в разработанную нами программу ЭВМ № 2018661716 «Программа расчета угловых отклонений дентальных имплантатов», которая автоматически вычисляла угловое отклонение между осями установленных имплантатов. Расчет угловых отклонений между осями дентальных имплантатов у пациентов в послеоперационном периоде показал в 87% случаев значительное отклонение угла (до 27°) между осями имплантатов по сравнению с общепринятыми в дентальной имплантологии пределами (до 7°). В 100% изучаемых случаев не было отмечено параллельной установки дентальных имплантатов; анализ результатов дентальной имплантации в 1-м секторе выявил угловые отклонения в 27° 4'.

**Ключевые слова:** дентальная имплантация, навигационная платформа, метод свободной руки

**Информация о вкладе авторов:** А. В. Иващенко — написание статьи, разработка дизайна исследования, подбор клинического материала; А. Е. Яблоков — написание статьи, подбор клинического материала, анализ полученных данных; И. М. Федяев — разработка дизайна исследования, редактирование статьи; В. П. Тлустенко — редактирование, анализ полученных данных; Н. Е. Ротин — разработка дизайна исследования, подбор клинического материала; В. В. Тугушев — разработка дизайна исследования, редактирование.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование проведено в соответствии с этическими стандартами оказания специализированной медицинской помощи (Приказ Министерства здравоохранения России от 24 декабря 2012 г. № 1525н) и одобрено этическим комитетом Самарского государственного медицинского университета (протокол № 673/17 от 11 сентября 2018 г.). Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

✉ **Для корреспонденции:** Алексей Евгеньевич Яблоков  
ул. Чапаевская, д. 89, г. Самара, 443099; s1131149@yandex.ru

**Статья получена:** 26.10.2018 **Статья принята к печати:** 04.04.2019 **Опубликована онлайн:** 15.04.2019

**DOI:** 10.24075/vrgmu.2019.027

## ANALYSIS OF DIVERGENCE BETWEEN THE AXES OF DENTAL IMPLANTS INSTALLED USING A CLASSIC FREEHAND TECHNIQUE

Ivaschenko AV, Yablokov AE <sup>✉</sup>, Fedyayev IM, Tlustenko VP, Rotin NE, Tugushev VV

Samara State Medical University, Samara, Russia

Accuracy is a common challenge in dental implant placement. A successful clinical outcome is largely determined by accurate positioning of the implant at the prepared site and proper angulation. This study aimed to compare the divergence between the axes of the implants installed using a classic freehand technique. Cartesian coordinates of implant necks were determined on the CT images of 34 patients in the XOY (horizontal) plane, followed by the coordinates of implant apices. The obtained data were submitted to the original software developed by the authors (patent 2018661716) that automatically computed an angle between the insertion axes of the installed implants. We found that in 87% of cases, this angle was significantly greater (up to 27°) than recommended by implantation dentistry guidelines (7°). In 100% of the studied cases, the implants were not parallel; in sector 1, the deviation was 27° 4'.

**Keywords:** dental implantation, navigation system, freehand placement

**Author contribution:** Ivaschenko AV — study design, data acquisition, manuscript draft; Yablokov AE — data acquisition and analysis, manuscript draft; Fedyayev IM — study design, manuscript editing; Tlustenko VP — data analysis, manuscript editing; Rotin NE — study design, data acquisition; Tugushev VV — study design, manuscript editing.

**Compliance with ethical standards:** this study was conducted in compliance with the ethical standards for specialized medical care (Order 1525n of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, dated December 2012) and approved by the Ethics Committee of Samara State Medical University (Protocol 673/17 dated September 11, 2018). The patients gave written informed consent to participate.

✉ **Correspondence should be addressed:** Alexey E. Yablokov  
Chapaevskaya 89, Samara, 443099; s1131149@yandex.ru

**Received:** 26.10.2018 **Accepted:** 04.04.2019 **Published online:** 15.04.2019

**DOI:** 10.24075/brsmu.2019.027

Правильная позиция и осевое расположение имплантата — одни из составляющих элементов успеха лечения, т. е. длительного функционирования имплантата и ортопедической конструкции. Самым распространенным способом установки дентальных имплантатов и «золотым стандартом» отечественной имплантологии является метод «свободной руки» («free hand») [1]. Врач, руководствуясь своими знаниями и опытом, делает заключение о точном месте позиционирования дентальных имплантатов. Проблема неправильного позиционирования дентальных

имплантатов актуальна в современной стоматологии, поскольку от угла установки дентального имплантата зависит успешность ортопедического лечения в дальнейшем. По современным стандартам допустимый угол отклонения имплантата составляет 7° [1]. Ряд авторов отмечает, что в клинической практике при применении данного метода погрешность позиционирования имплантата может достигать 35° [2].

Для решения данной проблемы в клинической имплантологии применяют навигационные шаблоны

и дентальные навигационные платформы [3, 4]. Применение данных методов позволяет позиционировать имплантаты с допустимой погрешностью до 7° [5–7]. Указанные методы не получили широкого применения в связи с высокой стоимостью и необходимостью иметь специально обученную команду специалистов, умеющих работать с данными системами [8–11]. Таким образом, в настоящее время наиболее распространенным методом позиционирования дентальных имплантатов является метод «free hand», который при отсутствии должных навыков у врача накладывает значительный негативный отпечаток на результат лечения [12–15].

Для оценки стабильности дентальных имплантатов применяют прямые цифровые методы. Они позволяют оценить степень остеоинтеграции установленных имплантатов. К таким методам относят периотестометрию с использованием аппаратов Periotest и Osstell ISQ [16, 17].

Целью работы было провести сравнительный анализ угловых отклонений дентальных имплантатов, установленных по классической методике («free hand»).

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Сбор клинического материала проводили на базе отделения челюстно-лицевой хирургии Самарского государственного медицинского университета в период с 2015 по 2018 г. Все пациенты проходили комплексное обследование. Происходящие изменения фиксировали в медицинской карте стоматологического больного (форма 043/у-4). Обследование включало сбор анамнеза, жалоб, вредных привычек, выяснение сопутствующих заболеваний, которые могут стать причиной осложнений и противопоказаний к операции дентальной имплантации. Исследуемая группа включала 32 пациента, которым была проведена дентальная имплантация по методу «free hand». Критерии отбора пациентов: пациенты любого пола; возраст 18–65 лет; частичное отсутствие зубов; отсутствие соматической патологии. Основной контингент пациентов (53,1%), которым была проведена операция дентальной

имплантации по классической методике, составили женщины в возрасте 26–44 лет (табл. 1). Пациентам проводили компьютерно-томографическое исследование с применением томографа Vatech Pax Duo (Vatech; Корея).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

После установки дентальных имплантатов оценивали наличие жалоб, болевого синдрома, температуру тела, конфигурацию лица, клиническую картину тканей в периимплантационной области, экскурсию имплантата, состояние линии швов и формирователей десны.

Дентальные имплантаты (MISS и DENTIUM; Израиль) устанавливали по традиционному двухэтапному хирургическому протоколу. Установку имплантатов всем пациентам проводил хирург-имплантолог. Распределение дентальных имплантатов по диаметру и количеству в исследуемой группе представлено в табл. 2.

Методом случайной выборки у 10 пациентов было проведено компьютерно-томографическое исследование с применением томографа Vitech Pax Duo с целью определения среднего углового отклонения между осями установленных имплантатов. Расчет угловых отклонений между осями имплантатов проводили по следующему математическому алгоритму (программа ЭВМ № 2018661716):

$$\alpha = \arccos \frac{|\vec{a} \cdot \vec{b}|}{|\vec{a}| \cdot |\vec{b}|} = \arccos \frac{|a_x \cdot b_x + a_y \cdot b_y + a_z \cdot b_z|}{\sqrt{a_x^2 + a_y^2 + a_z^2} \cdot \sqrt{b_x^2 + b_y^2 + b_z^2}}, \text{ где}$$

$$\vec{a} = (a_x, a_y, a_z) \text{ и } \vec{b} = (b_x, b_y, b_z),$$

$$\cos \alpha = \frac{|\vec{a} \cdot \vec{b}|}{|\vec{a}| \cdot |\vec{b}|} = \frac{|a_x \cdot b_x + a_y \cdot b_y + a_z \cdot b_z|}{\sqrt{a_x^2 + a_y^2 + a_z^2} \cdot \sqrt{b_x^2 + b_y^2 + b_z^2}}.$$

В результате исследования была проанализирована позиция 22 установленных имплантатов у 10 пациентов.

Алгоритм исследования проводили следующим образом. В декартовой системе координат на компьютерно-томографическом снимке в плоскости XOY

Таблица 1. Характеристика пациентов по возрастному и гендерному признакам

Возраст \ Пол	18–25	26–44	45–65	Всего	Количество пациентов, %
Мужчины	1	3	4	8	25
Женщины	1	17	6	24	75
Всего	2	20	10	32	100

Таблица 2. Соотношение количества установленных дентальных имплантатов с их диаметром

Диаметр \ Количество	Один имплантат	Два имплантата	Три имплантата	Всего	Количество, %
3,3 • 10,0 («MISS»)	4	2	0	6	16,2
3,6 • 7,0 («Dentium»)	0	1	0	1	2,7
3,75 • 8,0 («MISS»)	6	2	0	8	21,6
3,75 • 10,0 («MISS»)	2	2	0	4	10,8
3,75 • 11,5 («MISS»)	5	1	0	6	16,2
4,0 • 10,0 («MISS»)	0	0	1	1	2,7
4,2 • 8,0 («MISS»)	4	1	0	5	13,5
4,2 • 10,0 («MISS»)	3	0	0	3	8,1
4,2 • 11,5 («MISS»)	3	0	0	3	8,1
Всего	27	9	1	37	100,0

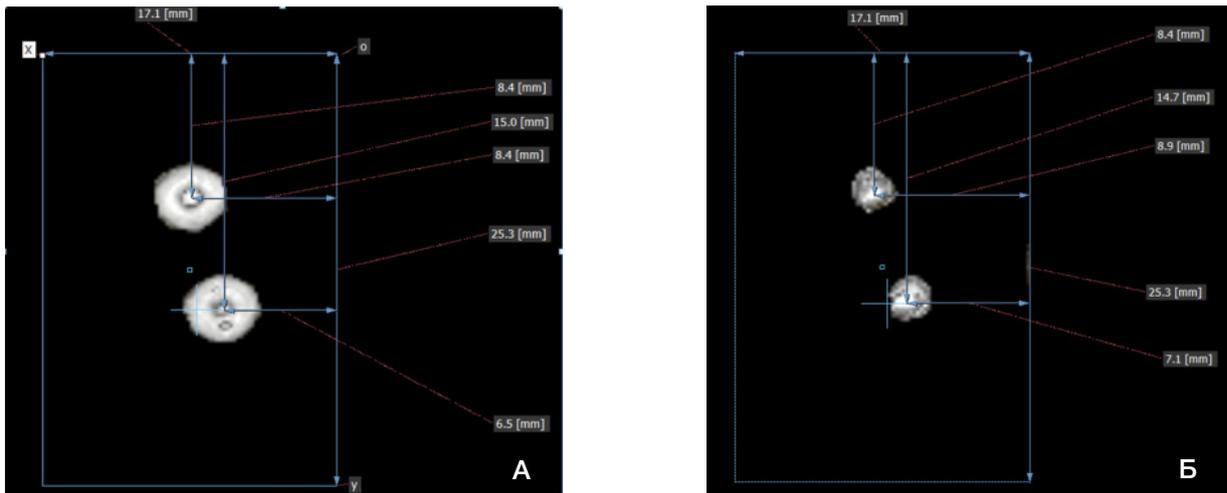


Рис. 1. Схематичное изображение системы измерений авторской программы ЭВМ. А. Координаты шеек сравниваемых имплантатов. Б. Координаты апикальных частей исследуемых имплантатов

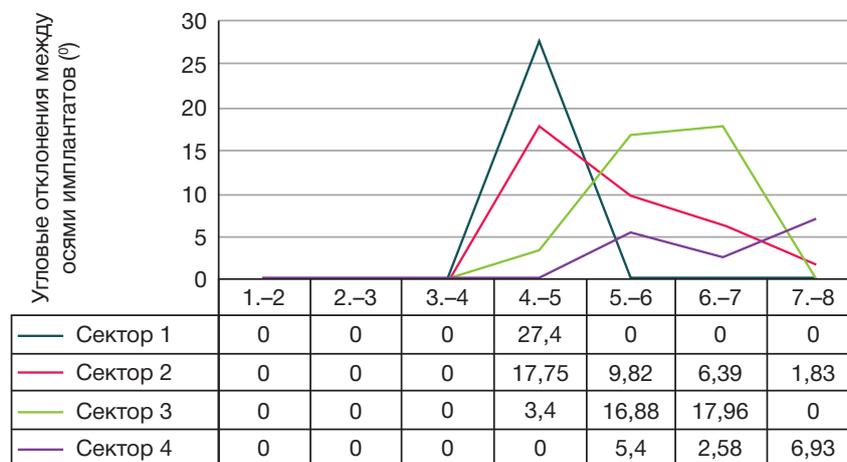


Рис. 2. Статические значения расчетных показателей угловых отклонений

(горизонтальная плоскость) определяли координаты шеек сравниваемых имплантатов (рис. 1А). Затем находили координаты апикальных частей всех исследуемых имплантатов (рис. 1Б). Полученные координаты помещали в разработанную нами программу (патент на ЭВМ № 2018661716 от 12 сентября 2018 г.), которая автоматически вычисляла угловое отклонение между осями установленных имплантатов.

Полученные данные структурировали и подвергали анализу, в результате которого была выявлена динамика угловых отклонений дентальных имплантатов в исследуемой группе.

В 100% изучаемых случаев не было отмечено параллельной установки дентальных имплантатов. В 4-м секторе были отмечены наименьшие угловые отклонения между осями установленных имплантатов. Средний угол конвергенции между осями имплантатов варьировал в пределах от  $2^{\circ} 58'$  до  $5^{\circ} 4'$ . В связи с этим можно сделать заключение, что данный диапазон соответствует общепринятым параметрам угловых отклонений при дентальной имплантации. Во 2-м и 3-м секторах был отмечен диапазон среднего угла конвергенции от  $3^{\circ} 4'$  до  $17^{\circ} 96'$  (3-й сектор) и от  $1^{\circ} 83'$  до  $17^{\circ} 75'$  (2-й сектор), что свидетельствует об неудовлетворительных угловых отклонениях. Анализ результатов дентальной имплантации в 1-м секторе выявил угловые отклонения в  $27^{\circ} 4'$ . Скорее всего, это связано со сложным анатомическим доступом.

Таким образом, можно сделать вывод, что наибольшие угловые отклонения наблюдались в 1-м секторе.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Расчет угловых отклонений между осями дентальных имплантатов у пациентов в послеоперационном периоде показал в 87% случаев значительное отклонение угла ( $27^{\circ} 4'$ ) между осями имплантатов по сравнению с общепринятыми в дентальной имплантологии пределами (рис. 2). Под осью имплантата понимали геометрический центр фигуры правильной цилиндрической формы в виде имплантата.

Наибольшие угловые отклонения между осями установленных дентальных имплантатов можно наблюдать в проекции первого сектора, что согласуется с данными ряда авторов [6, 12, 15]. Минимальные статистически достоверные показатели составляли  $\pm 0,5^{\circ}$ . В настоящем исследовании зубной ряд пациентов для удобства расчета делили на четыре квадранта (сектора) по общепринятой классификации ВОЗ зубных рядов: 1-й сектор — от зуба 1.1 до 1.8; 2-й сектор — от зуба 2.1 до 2.8; 3-й сектор — от зуба 3.1 до 3.8; 4-й сектор — от зуба 4.1 до 4.8.

Четкое понимание и соблюдение допустимых угловых отклонений при дентальной имплантации способствует соблюдению биофизических параметров при дальнейшем ортопедическом лечении, что в свою

очередь, создает благоприятные условия для физиологического функционирования всей зубочелюстной системы в целом.

## ВЫВОДЫ

В ходе работы научно обоснована динамика угловых отклонений между осями денальных имплантатов,

установленных по классической методике. Дальнейшее развитие темы состоит в усовершенствовании метода «free hand» за счет применения механических устройств, а также полуавтоматических и автоматических систем установки денальных имплантатов. Рекомендуем предложенную авторскую математическую модель для оценки угловых отклонений между осями денальных имплантатов.

## Литература

1. Клинические рекомендации (протоколы лечения) при диагнозе полное отсутствие зубов (полная вторичная адентия, потеря зубов вследствие несчастного случая, удаления или локализованного пародонтита). Утверждены постановлением № 15 совета ассоциации общественных объединений «Стоматологическая ассоциация России» от 30 сентября 2014 г. Доступно по ссылке: [www.e-stomatology.ru](http://www.e-stomatology.ru).
2. Потапов И. В., Иващенко А. В., Байриков А. И., Монаков Д. В., Монаков В. А. Обоснование использования навигационной системы в денальной имплантологии. Институт стоматологии. 2014; (4): 83–5.
3. Амхадова М. А., Игнатов А. Ю. Денальная имплантация с применением навигационного имплантологического шаблона, изготовленного по технологии CAD/CAM. Стоматология. 2011; (2): 49–52.
4. Олесова В. Н., Кашенко П. В., Бронштейн Д. А., Магамедханов М. Ю., Хавкин В. А. Компьютерное планирование внутрикостной денальной имплантации. Стоматология. 2011; (2): 43–8.
5. Федяев И. М., Хамадеева А. М., Никольский В. Ю., Ганжа И. Р. Вторичная адентия при денальной имплантации (эпидемиологическое и социологическое исследование с помощью метода телефонного интервью). Стоматология. 2004; 83 (6): 65–8.
6. Нестеров А. П., Лепилин А. В., Нестеров А. В., Ульянова С. П. Взаимосвязь положения имплантатов в нижней челюсти. Вестник медицинского стоматологического института. 2016; 2 (37): 17–20.
7. Фазуллин Ф. З., Галиева Э. И., Рябых Л. А. Снижение риска развития осложнений денальной имплантации. В сборнике: Материалы XXIV Международного симпозиума «Инновационные технологии в стоматологии», посвященного 60-летию стоматологического факультета Омского государственного медицинского университета. Омск: Издательский центр «КАН», 2017; 501–5.
8. Кан И. В., Кареров М. Р., Самотесов П. А., Шевченко Д. П., Мартыничук Д. В. Выбор оптимального диаметра имплантата при непосредственной стоматологической имплантации. Журнал анатомии и гистопатологии. 2018; 7 (1): 47–52.
9. Ушаков Р. В., Коркин В. В., Ушаков А. Р., Ляхович А. А. Комплексная реабилитация пациентов с полным отсутствием зубов. Российский медицинский журнал. 2011; (1): 34–7.
10. Ахмадова А. М., Мохов А. В., Музаева З. Р., Оздемиров М. И., Шалабаева К. З. Способ увеличения кератинизированной десны в области имплантатов с использованием небного соединительнотканного трансплантата. Медицинский алфавит. 2015; 3 (13): 28–30.
11. Саакян Ш. Х., Каламкаргов А. Э. Структура изменений в альвеолярной кости при ортопедическом лечении пациентов с дефектами зубных рядов с использованием. Вестник стоматологии и внутрикостных имплантатов. Российский стоматологический журнал. 2014; (2): 13–16.
12. Матвеева А. И., Фролов В. А., Гветадзе Р. Ш., Борисов А. Г. Влияние имплантата параметров на напряженно-деформированное состояние костной ткани зоны имплантации. Стоматология. 2010; (1): 54–5.
13. Чуйко А. Н. и др. Термины: фиксация и стабилизация с позиции биохимического анализа. Молодой ученый. 2013; (9): 98–108.
14. Кончаковский А. В., Кончаковский А. А. Одномоментная имплантация в лунку удаленного зуба и непосредственное предварительное имплантационное протезирование акриловыми конструкциями. Современная наука: актуальные проблемы теории и практики. Серия: Естественные и технические науки. 2018; (7): 199–204.
15. Байриков И. М., Иващенко А. В., Лайва О. В., Кондрашин Д. В., Федяев И. М., Нестеров А. М. Клинические возможности навигационной системы при установке денальных имплантатов. В сборнике: Актуальные вопросы стоматологии. Сборник научных трудов, посвященный 50-летию стоматологического образования в СамГМУ. 2016; 124–134.
16. Sarmiento HR, Dantas RVF, Pereira-Cenci T, Faot F. Elements of implant-supported rehabilitation planning in patients with bruxism. Journal of Craniofacial Surgery. 2012; 23 (6): 1905–9.
17. Ерошин В. А., Джалалова М. В., Арутюнов С. Д., Степанов А. Г., Багдасарян Г. Г. Подвижность и критерии готовности денальных имплантатов к функциональным нагрузкам. Современные проблемы науки и образования. 2018; (2): 53.

## References

1. Klinicheskie rekomendacii (protokoly lechenija) pri diagnoze polnoe otsutstvie zubov (polnaja vtorichnaja adentija, poterja zubov vsledstvie neschastnogo sluchaja, udalenija ili lokalizovannogo parodontita). Utverzhdeny postanovleniem # 15 soвета ассоциции obshhestvennyh ob"edinenij «Stomatologicheskaja ассоциация Rossii» ot 30 sentjabrja 2014 g. Dostupno po ssylke: [www.e-stomatology.ru](http://www.e-stomatology.ru).
2. Potapov IV, Ivashhenko AV, Bajrikov AI, Monakov DV, Monakov VA. Obosnovanie ispol'zovanija navigacionnoj sistemy v dental'noj implantologii. Institut stomatologii. 2014; (4): 83–5.
3. Amhadova MA, Ignatov AYU. Dental'naja implantacija s primeneniem navigacionnogo implantologicheskogo shablona, izgotovlennogo po tehnologii CAD/CAM. Stomatologija. 2011; (2): 49–52.
4. Olesova VN, Kashenko PV, Bronshtejn DA, Magamedhanov MYU, Havkin VA. Komp'yuternoe planirovanie vnutrikostnoj dental'noj implantacii. Stomatologija. 2011; (2): 43–8.
5. Fedyaev IM, Hamadeeva AM, Nikolskij VYU, Ganzha IR. Vtorichnaja adentija pri dental'noj implantacii (jepidemiologicheskoe i sociologicheskoe issledovanie s pomosh'h'ju metoda telefonnogo interv'ju). Stomatologija. 2004; 83 (6): 65–8.
6. Nesterov AP, Lepilin AV, Nesterov AV, Ulyanova SP. Vzaimosvjaz' polozhenija implantatov v nizhnej cheljusti. Vestnik medicinskogo stomatologicheskogo instituta. 2016; 2 (37): 17–20.

7. Fazullin FZ, Galieva Yel, Rjabyh LA. Snizhenie riska razvitiya oslozhnenij dental'noj implantacii. V sbornike: Materialy HHIV Mezhdunarodnogo simpoziuma «Innovacionnye tehnologii v stomatologii», posvjashhennogo 60-letiju stomatologicheskogo fakul'teta Omskogo gosudarstvennogo medicinskogo universiteta. Omsk: Izdatel'skij centr «KAN», 2017; 501–5.
8. Kan IV, Karerov MR, Samotesov PA, Shevchenko DP, Martynchuk DV. Vybor optimal'nogo diametra implantata pri neposredstvennoj stomatologicheskoy implantacii. Zhurnal anatomii i gistopatologii. 2018; 7 (1): 47–52.
9. Ushakov RV, Korkin VV, Ushakov AR, Lyahovich AA. Kompleksnaja rehabilitacija pacientov s polnym otsutstviem zubov. Rossijskij medicinskij zhurnal. 2011; (1): 34–7.
10. Ahmadova AM, Mohov AV, Muzaeva ZR, Ozdemirov MI, Shalabaeva KZ. Sposob uvelichenija keratinizirovannoj desny v oblasti implantatov s ispol'zovaniem nebnogo soedinitel'notkannogo transplantata. Medicinskij alfavit. 2015; 3 (13): 28–30.
11. Saakjan ShH, Kalamkarov AYe. Struktura izmenenij v al'veoljarnoj kosti pri ortopedicheskom lechenii pacientov s defektami zubnyh rjadov s ispol'zovaniem. Vestnik stomatologii i vnutrikostnyh implantatov. Rossijskij stomatologicheskij zhurnal. 2014; (2): 13–16.
12. Matveeva AI, Frolov VA, Gvetadze RSh, AG. Borisov Vlijanie implantata parametrov na naprjazhenno-deformirovannoe sostojanie kostnoj tkani zony implantacii. Stomatologija. 2010; (1): 54–5.
13. Chuyko AN i dr. Terminy: fiksacija i stabilizacija s pozicii biokhimicheskogo analiza. Molodoy uchenyy. 2013; (9): 98–108.
14. Konchakovskiy AV, Konchakovskiy AA. Odnomomentnaja implantacija v lunku udalennogo zuba i neposredstvennoe predvaritel'noe implantacionnoe protezirovanie akrilovymi konstrukcijami. Sovremennaja nauka: aktual'nye problemy teorii i praktiki. Serija: Estestvennye i tehniczeskie nauki. 2018; (7): 199–204.
15. Bayrikov IM, Ivashhenko AV, Layva OV, Kondrashin DV, Fedyaev IM, Nesterov AM. Klinicheskie vozmozhnosti navigacionnoj sistemy pri ustanovke dental'nyh implantatov. V sbornike: Aktual'nye voprosy stomatologii. Sbornik nauchnyh trudov, posvjashhennyj 50-letiju stomatologicheskogo obrazovanija v SamGMU. 2016; 124–134.
16. Sarmento HR, Dantas RVF, Pereira-Cenci T, Faot F. Elements of implant-supported rehabilitation planning in patients with bruxism. Journal of Craniofacial Surgery. 2012; 23 (6): 1905–9.
17. Eroshin VA, Dzhalalova MV, Arutjunov SD, Stepanov AG, Bagdasarjan GG. Podvizhnost' i kriterii gotovnosti dental'nyh implantatov k funkcional'nym nagruzkam. Sovremennye problemy nauki i obrazovanija. 2018; (2): 53.

## ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ СЪЕМНЫХ КОНСТРУКЦИЙ И ДЕНТАЛЬНЫХ ИМПЛАНТАТОВ НА МИКРОБИОЦЕНОЗ ПОЛОСТИ РТА ПРИ ОРТОПЕДИЧЕСКОМ ЛЕЧЕНИИ

В. П. Тлустенко, И. М. Байриков, Д. А. Трунин, С. С. Комлев ✉, А. В. Жестков, А. В. Лямин

Самарский государственный медицинский университет, Самара, Россия

Проблема осложнений, возникающих после проведения дентальной имплантации, остается актуальной. Целью работы было исследовать влияние различных видов съемных конструкций и дентальных имплантатов на микробиоценоз полости рта при ортопедическом лечении 64 человек: 12 пациентов 1-й основной группы, 40 пациентов 2-й основной группы и 12 человек группы контроля. Через 6 месяцев после установки имплантатов в результате микробиологического исследования полости рта были выявлены различия в качественном составе микрофлоры слизистой оболочки вокруг шейки дентального имплантата. В основной группе 1 преобладали представители нормальной микрофлоры. В 100% случаев выделен *Streptococcus vestibularis*, более чем у половины пациентов выделены *S. oralis*, *S. mitis*, *Rothia mucilaginosa*, *S. gordonii* выделен у одного пациента. В основной группе 2 отмечено значительное разнообразие видов микроорганизмов, включая энтеробактерии, которые были выделены у 22,5% обследованных. В контрольной группе помимо представителей нормальной микрофлоры слизистой оболочки полости рта обнаружены *S. vestibularis* (75,5%), *S. oralis* (50,0%), *Neisseria subflava* (66,7%) и *Haemophilus parainfluenzae* (50,0%). У всех пациентов контрольной группы были выделены *S. gordonii*, а также другие виды потенциально патогенных стрептококков — *S. anginosus* и *S. constellatus* по 66,7%. Вид используемых съемных конструкций и дентальных имплантатов влияет на состав микрофлоры полости рта, а, следовательно, на дальнейший прогноз и риск развития осложнений. Съемные ортопедические конструкции с металлическим каркасом и фиксирующими элементами, телескопическими коронками и замковыми креплениями с опорой на разборные дентальные имплантаты менее других видов конструкций изменяют качественный состав микрофлоры слизистой оболочки полости рта вокруг шейки дентального имплантата.

**Ключевые слова:** микробиоценоз, дентальная имплантация, разборный дентальный имплантат, съемные ортопедические конструкции

**Информация о вкладе авторов:** В. П. Тлустенко, И. М. Байриков, Д. А. Трунин, С. С. Комлев — разработка концепции и дизайна исследования, хирургическое и ортопедическое лечение пациентов; И. М. Байриков, С. С. Комлев, А. В. Жестков, А. В. Лямин — сбор и обработка материала, микробиологическое исследование клинического материала, статистическая обработка.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено этическим комитетом Самарского государственного медицинского университета (протокол № 2018/197). Все пациенты подписали информированное согласие на проведение операции дентальной имплантации и ортопедическое лечение и участие в исследовании.

✉ **Для корреспонденции:** Сергей Сергеевич Комлев  
ул. Чапаевская, д. 89, г. Самара, 443099; stomat.ks@mail.ru

**Статья получена:** 27.01.2019 **Статья принята к печати:** 08.04.2019 **Опубликована онлайн:** 17.04.2019

**DOI:** 10.24075/vrgmu.2019.029

## EFFECT OF VARIOUS TYPES OF REMOVABLE APPLIANCES AND DENTAL IMPLANTS ON THE ORAL MICROBIOCENOSIS DURING ORTHOPEDIC TREATMENT

Tlustenko VP, Bairikov IM, Trunin DA, Komlev SS ✉, Zhestkov AV, Lyamin AV

Samara State Medical University, Samara, Russia

The problem of complications arising after dental implantation is still relevant. The aim of the work was to investigate the effect of various types of removable appliances and dental implants on the oral microbiocenosis during orthopedic treatment of 64 people: 12 patients of the first index group, 40 patients of the second index group and 12 people of the control group. 6 months after the implants were installed, as a result of a microbiological study of the oral cavity, the differences were found in the qualitative composition of the microflora of the mucous membrane around the neck of the dental implant. In the first index group representatives of normal microflora prevailed. In 100% of cases *Streptococcus vestibularis* was isolated, from more than half patients *S. oralis*, *S. mitis*, *Rothia mucilaginosa* were isolated, *S. gordonii* was isolated from one patient. In the second index group, a significant diversity of microbial species was observed, including enterobacteria, which were isolated from 22.5% of the examined patients. In the control group, in addition to representatives of the normal microflora of the oral mucosa *S. vestibularis* (75.5%), *S. oralis* (50.0%), *Neisseria subflava* (66.7%) and *Haemophilus parainfluenzae* (50.0%) were found. From all patients of the control groups *S. gordonii* was isolated, as well as the other potentially pathogenic streptococci species, *S. anginosus* and *S. constellatus* by 66.7%. The type of removable appliances and dental implants used affects the microflora composition of the oral cavity, and, consequently, the further prognosis and the risk of complications. Collapsible dental implant supported removable prosthetic appliances with a metal frame and fixing elements, telescopic crowns and clasps less than other types of prosthetic appliances change the qualitative composition of the microflora of the oral mucosa around the neck of the dental implant.

**Keywords:** microbiocenosis, implantation, collapsible dental implant, removable prosthetic appliances

**Author contribution:** Tlustenko VP, Bairikov IM, Trunin DA, Komlev SS — concept and research design, surgical and orthopedic treatment of patients; Bairikov IM, Komlev SS, Zhestkov AV, Lyamin AV — collection and processing of material, microbiological investigation of clinical material, statistical processing of results.

**Compliance with ethical standards:** the study was approved by the Ethics Committee of Samara State Medical University (protocol № 2018/197). All patients signed a voluntary informed consent for the dental implantation operation, orthopedic treatment and participation in the study.

✉ **Correspondence should be addressed:** Sergey S. Komlev  
Chapayevskaya 89, Samara, 443099; stomat.ks@mail.ru

**Received:** 27.01.2019 **Accepted:** 08.04.2019 **Published online:** 17.04.2019

**DOI:** 10.24075/brsmu.2019.029

Несмотря на значительные достижения в решении технических вопросов, в современной дентальной имплантологии остается актуальной проблема осложнений после установки дентальных имплантатов [1]. Наиболее

часто встречаются мукозиты и периимплантиты, в развитии которых активное участие принимают микроорганизмы, как в норме представленные в полости рта, так и колонизирующие поверхности материалов, из

которых выполнены дентальные имплантаты и съемные конструкции [2–5].

В литературе описана способность микроорганизмов адгезироваться на поверхности абатментов дентальных имплантатов и съемных ортопедических конструкций. В качестве тестовых микроорганизмов чаще всего оценивают бактерии, которые не являются основополагающими с точки зрения развития патологических процессов, связанных с использованием дентальных имплантатов [6–8].

Дополнительные сложности в оценке микробиоты полости рта при использовании съемных ортопедических конструкций и дентальных имплантатов возникают в результате несовершенства применяемых методов лабораторной диагностики и неправильно построенного дизайна исследований. Как правило, исследователи ограничиваются общей оценкой анаэробной и/или аэробной микрофлоры без учета ее видового разнообразия; использованием только методов, основанных на обнаружении ДНК микроорганизмов представителей патогенных комплексов; в некоторых случаях используют заведомо неприемлемые с точки зрения оценки микрофлоры полости рта методы, например, тест-системы, разработанные для оценки микрофлоры других локусов организма человека [9–11].

Такие подходы могут приводить к получению противоречивых результатов при оценке качественного и количественного составов микрофлоры полости рта, а также затрудняют оценку роли представителей микрофлоры в развитии осложнений, связанных с установкой дентальных имплантатов; качественного и количественного состава микрофлоры при сравнении влияния однотипных ортопедических конструкций, выполненных из различных видов материала. При этом не учитывают факторы патогенности и сложноорганизованную архитектуру взаимодействия различных видов микроорганизмов в колонизации поверхностей дентальных имплантатов и съемных ортопедических конструкций нормальной, патогенной и транзитной микрофлорой.

Целью работы было оценить влияние использования различных видов дентальных имплантатов на микробиоценоз полости рта.

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Микробиологическое исследование проводили у 64 пациентов с различными видами дентальных имплантатов (22 мужчин и 42 женщин в возрасте 45–65 лет): 12 пациентов основной группы 1, 40 пациентов основной группы 2, 12 человек составили группу контроля. Критерии включения в исследование: наличие односторонних и двусторонних концевых дефектов зубных рядов. Критерии исключения: наличие заболеваний кровеносной системы; наличие онкологических заболеваний.

Сбор и транспортировку биологического материала проводили в соответствии с требованиями МУ 4.2.2039-05 «Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории». Образцы материала для микробиологического исследования собирали со слизистой оболочки полости рта вокруг шейки дентального имплантата стерильными ватными тампонами, которые сразу же после сбора помещали в транспортные среды для аэробных и анаэробных микроорганизмов. Транспортировку материала в лабораторию осуществляли в течение 2 ч в изотермических условиях при температуре 22–24 °С.

В лаборатории материал засеивали на плотные питательные среды: кровяной агар, универсальную среду для дифференциации ХайХром (HiMedia; Индия), агар для анаэробных микроорганизмов (HiMedia; Индия), селективные среды для выделения стафилококков — маннит-солевой агар (HiMedia; Индия), грибов — агар Сабуро (HiMedia; Индия), энтеробактерий — среда Эндо (HiMedia; Индия), неферментирующих грамотрицательных бактерий — цетримидный агар (HiMedia; Индия). Культивирование проводили в аэробных и анаэробных условиях с использованием анаэроостатов и газогенерирующих пакетов коммерческого производства BD GasPak™ EZ Container Systems (BD; США) в течение 48–72 ч при температуре 35–37 °С.

Выделенные микроорганизмы идентифицировали с использованием MALDI-ToF масс-спектрометрии на приборе Microflex LT (MALDI Biotyper 3.1, Bruker Daltonik GmbH; Германия).

Сбор материала проводили через 6 месяцев после ортопедического лечения пациентов. Качественный состав выделенной микрофлоры оценивали с учетом группировки микроорганизмов в зависимости от их потенциального патогенетического воздействия на слизистую оболочку полости рта и костную ткань.

Всего было выделено и идентифицировано 328 штаммов микроорганизмов 26 родов.

Оценку состава микрофлоры слизистой оболочки полости рта вокруг шейки дентального имплантата провели у 64 пациентов. В зависимости от конструкции дентального имплантата и съемной ортопедической конструкции все пациенты, которым проводили микробиологическое исследование, были разделены на три группы.

1. В 1-ю подгруппу основной группы (основная 1) вошли 12 пациентов, которым изготавливали съемные ортопедические конструкции с металлическим каркасом и фиксирующими элементами, использовали телескопические коронки и замковые крепления с опорой на разборные дентальные имплантаты (Патент РФ № 2593349). После операции имплантации и необратимой резорбции костной ткани с предложенной конструкцией имплантата стало возможным отсоединить от остеоинтегрированной апикальной части промежуточную часть и использовать апикальную часть для фиксации абатмента, съемной ортопедической конструкции.

2. Во 2-ю подгруппу основной группы (основная 2) вошли 40 пациентов, которым изготавливали съемные ортопедические конструкции с опорой на серийно выпускаемые дентальные имплантаты, фиксирующие замковые элементы располагались в металлическом каркасе съемного протеза.

3. В контрольную группу вошли 12 пациентов, которым были изготовлены съемные ортопедические конструкции из акриловых пластмасс с опорой на дентальные имплантаты, выпускаемые серийно, фиксирующие элементы располагались в базе съемной ортопедической конструкции.

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Все микроорганизмы, колонизирующие слизистые оболочки полости рта, могут обладать определенным патогенным потенциалом, однако у одних он выражен в большей степени, у других реализуется в редких случаях. В связи с этим выделенные микроорганизмы мы условно разделили на представителей нормобиоты

слизистых оболочек полости рта: *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus vestibularis*, *Streptococcus parasanguinis*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus mitis*, *Rothia dentocariosa*, *Rothia mucilaginosa*, *Neisseria macacae*, *Neisseria subflava*, *Neisseria flavescens*, *Haemophilus parainfluenzae*, *Lactobacillus salivarius*, *Gemella haemolysans*; микрофлору, которая принимает участие в патогенных процессах на различных уровнях: *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus constellatus*; микрофлору, в меньшей степени характерную для слизистой оболочки полости рта, но, как правило, не участвующую в патологических процессах: *Acinetobacter junii*, *Staphylococcus capitis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus warnerii*, *Streptococcus pneumoniae*; нетипичную для полости рта микрофлору с высоким патогенным потенциалом: *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, *Escherichia coli*. Отдельную группу составили грибы рода *Candida*.

При анализе качественного состава микрофлоры слизистой оболочки полости рта вокруг дентального имплантата у пациентов исследуемых групп были получены данные, представленные в таблице.

При анализе полученных данных были выявлены следующие особенности качественного состава микроорганизмов в структуре микробиоценоза слизистой оболочки полости рта вокруг шейки дентального имплантата.

Отличительной особенностью микрофлоры пациентов основной 1-й группы оказалось преобладание нормофлоры у значительной части обследованных. В 100% случаев

был выделен *Streptococcus vestibularis*, более чем у половины пациентов были выделены *Streptococcus oralis*, *Streptococcus mitis*, *Rothia mucilaginosa*. В данной группе пациентов не было выделено энтеробактерий и грибов рода *Candida*. Однако следует отметить достаточно частое выделение сапрофитной микрофлоры, нехарактерной для слизистой оболочки полости рта, которая была обнаружена у половины пациентов.

Основная 2-я группа характеризовалась значительным разнообразием микроорганизмов. У пациентов не было выявлено доминирующей группы микроорганизмов. Тем не менее микрофлора чаще была представлена нормальными микроорганизмами, характерными для слизистой оболочки полости рта, среди которых преобладали *Streptococcus vestibularis*. У трети пациентов были выделены микроорганизмы с потенциальным патогенным действием. Но, на наш взгляд, наибольшее значение в этой группе имел факт выделения у 9 пациентов энтеробактерий, нехарактерных для данного локуса и обладающих значительным патогенным потенциалом, как с точки зрения выделения протеолитических ферментов, так и с точки зрения непосредственного участия в развитии инфекционных осложнений различной локализации.

В контрольной группе преобладали *Streptococcus vestibularis* и *Streptococcus oralis*, а также *Neisseria subflava* и *Haemophilus parainfluenzae* в качестве представителей нормальной микрофлоры ротовой полости. Остальные представители нормофлоры были выделены менее чем у 50% обследованных из контрольной группы.

**Таблица.** Качественный состав микрофлоры слизистой оболочки вокруг дентального имплантата (количество штаммов в абсолютных числах и доля штаммов от общего числа микроорганизмов, выделенных в группе)

Вид микроорганизмов	Контрольная группа пациентов	Основная 1	Основная 2
<i>Streptococcus salivarius</i>	2 (16,7%)	2 (16,7%)	12 (30,0%)
<i>Streptococcus vestibularis</i>	9 (75,0%)	12 (100%)	24 (60,0%)
<i>Streptococcus parasanguinis</i>	0	2 (16,7%)	8 (20,0%)
<i>Streptococcus oralis</i>	6 (50,0%)	10 (83,3%)	12 (30,0%)
<i>Streptococcus sanguinis</i>	3 (25,0%)	0	15 (37,5%)
<i>Streptococcus mitis</i>	4 (33,3%)	6 (50,0%)	12 (30,0%)
<i>Streptococcus anginosus</i>	8 (66,7%)	0	0
<i>Streptococcus gordonii</i>	12 (100%)	1 (8,3%)	9 (22,5%)
<i>Streptococcus constellatus</i>	8 (66,7%)	0	0
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	3 (25,0%)	4 (33,3%)	4 (10,0%)
<i>Rothia dentocariosa</i>	3 (25,0%)	2 (16,7%)	3 (7,5%)
<i>Rothia mucilaginosa</i>	0	8 (66,7%)	18 (45,0%)
<i>Neisseria macacae</i>	3 (25,0%)	0	3 (7,5%)
<i>Neisseria subflava</i>	8 (66,7%)	2 (16,7%)	18 (45,0%)
<i>Neisseria flavescens</i>	0	2 (16,7%)	4 (10,0%)
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	6 (50,0%)	1 (8,3%)	8 (20,0%)
<i>Lactobacillus salivarius</i>	2 (16,7%)	4 (33,3%)	3 (7,5%)
<i>Gemella haemolysans</i>	0	2 (16,7%)	4 (10,0%)
<i>Acinetobacter junii</i>	0	1 (8,3%)	0
<i>Staphylococcus capitis</i>	0	2 (16,7%)	0
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	4 (33,3%)	2 (16,7%)	8 (20,0%)
<i>Staphylococcus warnerii</i>	3 (25,0%)	2 (16,7%)	0
<i>Enterobacter cloacae</i>	0	0	6 (15,0%)
<i>Citrobacter freundii</i>	0	0	2 (5,0%)
<i>Escherichia coli</i>	0	0	1 (2,5%)
<i>Candida albicans</i>	4 (33,3%)	0	0

Отличительной особенностью микрофлоры у пациентов контрольной группы оказалось широкое распространение микроорганизмов, имеющих большое значение в качестве триггеров в колонизации патогенной микрофлорой. У всех пациентов контрольной группы был выделен *Streptococcus gordonii*, обладающий повышенной адгезивной способностью, которая реализуется микроорганизмами с выраженным патогенным потенциалом. Кроме того, более чем у половины пациентов контрольной группы были выделены *Streptococcus anginosus* и *Streptococcus constellatus*. Только в контрольной группе были выделены грибы рода *Candida*, представленные у всех пациентов единственным видом — *Candida albicans* (были выделены у одной трети пациентов).

Таким образом, у пациентов основной 1-й группы проведенное имплантологическое лечение с использованием разборных дентальных имплантатов и ортопедическое лечение характеризуются наименьшим изменением качественного состава микрофлоры слизистой оболочки полости рта вокруг шейки дентального имплантата. Следует отметить, что у пациентов всех групп не было выделено представителей «красного» парадонтопатогенного комплекса.

Кроме качественного состава была проанализирована частота выделения микроорганизмов по группам и родам с учетом потенциального участия их в патологическом процессе. В связи со значительным влиянием некоторых видов стрептококков в патогенных процессах было принято решение разделить их на две группы: «имеющие потенциальное патогенное значение» и «представители нормофлоры».

Данные по частоте выделения у пациентов представителей различных групп микроорганизмов представлены на рис. 1.

Были выявлены следующие особенности микрофлоры. В основной 1-й группе при анализе частоты выделения представителей различных групп микроорганизмов было выявлено значительное преобладание нормальной микрофлоры, представленной стрептококками, лактобактериями, представителями родов *Rothia*, *Gemella*. Условно патогенные нейссерии встречались несколько реже, чем в контрольной группе, также меньше были распространены стафилококки.

В основной 2-й группе по частоте встречаемости лидировали стрептококки — представители нормальной

микрофлоры, нейссерии, а также бактерии из рода *Rothia*. Однако следует отметить, что это единственная группа пациентов, у которых были выделены энтеробактерии.

В контрольной группе у 100% обследованных были обнаружены стрептококки с потенциальным патогенным потенциалом, что, безусловно, может оказывать неблагоприятное влияние с точки зрения рисков развития осложнений в ранний период после установки имплантата. Стрептококки — представители нормофлоры были выделены более чем у 70% пациентов. Отмечено снижение частоты выделения других представителей нормальной микрофлоры, которые были выявлены менее чем у 50% обследованных из контрольной группы, за исключением представителей рода *Neisseria*. Как было описано выше, у одной трети пациентов были выделены грибы рода *Candida*.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

При анализе частоты распространения представителей различных групп микроорганизмов на слизистой оболочке полости рта вокруг шейки дентального имплантата были выявлены определенные закономерности. В контрольной группе преобладали микроорганизмы, обладающие потенциальным патогенным действием, характеризующиеся повышенной адгезивной активностью, а также грибы рода *Candida*, что возможно связано с особенностями расположения фиксирующих элементов в базисе акриловых протезов с опорой на кобальтохромовые абатменты серийных дентальных имплантатов. Отсутствие осложнений у пациентов, включенных в исследование, связано с тем, что наряду с потенциально агрессивной микрофлорой в контрольной группе достаточно широко были распространены представители и нормальной микрофлоры. В основной 1 группе были выявлены оптимальные микробиологические соотношения, как по качественному составу микрофлоры, так и по частоте высева нормальных обитателей микробиоты слизистой оболочки полости рта. В данной группе была наименьшей частота выделения стрептококков с потенциальным патогенным действием, не было высева кандид и энтеробактерий. Основная 2 группа характеризовалась максимальным разнообразием как качественного состава, так и частоты выделения различных групп

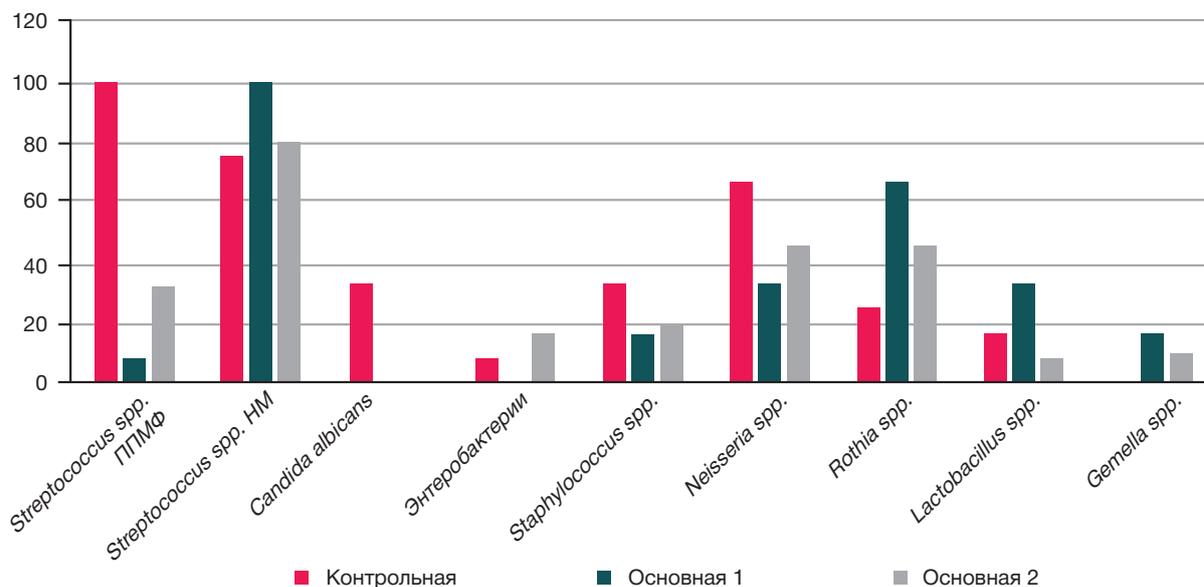


Рис. 1. Частота выделения микроорганизмов у пациентов различных групп (%). ППМФ — потенциальная патогенная микрофлора, НМ — нормальная микрофлора

микроорганизмов. Наряду с нормальной микрофлорой были выделены стрептококки с потенциальным патогенным действием, а также энтеробактерии, что, на наш взгляд, представляет наибольшую угрозу с точки зрения формирования постимплантационных осложнений [4, 7, 9–11].

Следует отметить, что практически все микроорганизмы, обладающие патогенным потенциалом, были выделены в строгих анаэробных условиях, что может быть косвенным признаком их активного участия в процессе адаптации к измененным условиям на слизистых оболочках вокруг шейки дентального имплантата. Значительные изменения в качественном составе микрофлоры и в частоте выделения различных групп микроорганизмов среди пациентов контрольной и основных групп демонстрируют необходимость тщательного подбора конструкции дентального имплантата, абатмента, съемной ортопедической конструкции. Основными целями в данном случае являются минимизация негативного воздействия «инородного» объекта (дентального имплантата) на межмикробные взаимодействия, способные привести к доминированию в микробиоценозе микроорганизмов с выраженными адгезивными свойствами, обладающими потенциальным патогенным действием, а также исключение колонизации слизистых оболочек транзитной микрофлорой с высоким патогенным потенциалом, которая может стать триггером в развитии мукозитов и периимплантитов. Негативное влияние имплантатов было подтверждено данными, полученными в ходе исследования: преобладанием микроорганизмов с высоким адгезивным потенциалом среди пациентов контрольной группы; большим разнообразием транзитной микрофлоры и энтеробактерий в основной 2-й группе.

Микрофлора полости рта является сложноорганизованной ассоциацией микроорганизмов, на качественный и количественный составы которой влияют различные экзогенные и эндогенные факторы. Протезирование с использованием съемных ортопедических конструкций с опорой на дентальные имплантаты неизбежно воздействует на микробиоту слизистых оболочек. Данные изменения могут быть условно «нейтральны» с точки зрения преобладающих групп микроорганизмов, а могут приводить к значительным изменениям в составе микрофлоры, при котором представителей нормальной микробиоты будут вытеснять транзитные микроорганизмы, количество которых значительно возрастает на слизистых оболочках полости рта по причине использования съемных ортопедических конструкций.

Необходимо отметить, что материал, из которого выполнены абатменты дентальных имплантатов, механизмы крепления и съемные ортопедические конструкции могут

влиять на перераспределение превалирующих групп микроорганизмов, увеличивая количество бактерий и грибов с повышенными адгезивными свойствами в популяции микроорганизмов на поверхности абатмента дентального имплантата и на слизистых оболочках полости рта, которая имеет непосредственный контакт с ними. Такие изменения могут длительное время оставаться субкомпенсированными за счет адаптационных механизмов выживания бактерий в биопленках, но рано или поздно будут приводить к накоплению патогенного потенциала микроорганизмов, изменению качественного состава микрофлоры, колонизирующей шейку дентального имплантата и слизистую оболочку полости рта вокруг нее. Вовлечение в процесс сначала потенциально патогенных стрептококков, к которым можно отнести *Streptococcus gordonii* и ряд других, выделенных у пациентов контрольной группы, микроорганизмов неизбежно приведет к повышению адгезивной способности других микроорганизмов, в частности с доказанным патогенным действием, что подтверждается данными, описанными в научной литературе [4, 7, 9]. Вовлечение в процесс колонизации и смены доминирующей микробной популяции энтеробактерий, стафилококков, грибов можно расценивать в качестве серьезного фактора риска развития постимплантационных осложнений.

## Выводы

Имплантологический и ортопедический виды лечения, проведенные пациентам основной 1-й группы, с использованием съемных конструкций с металлическим каркасом и фиксирующими элементами, телескопических коронок и замковых креплений с опорой на разборные дентальные имплантаты (Патент РФ № 2593349) меньше изменяло качественный состав микрофлоры слизистой оболочки полости рта вокруг шейки дентального имплантата по сравнению с другими методами ортопедического лечения. У данной группы пациентов в небольшом количестве была выявлена микрофлора, участвующая в адгезии парадонтопатогенных микроорганизмов к слизистым оболочкам полости рта, снижающей риск развития периимплантитов.

Полученные в исследовании данные свидетельствуют о влиянии вида ортопедических конструкций и дентальных имплантатов на микробиоценоз полости рта. Дальнейшие исследования в этой области позволят минимизировать негативное воздействие ортопедического лечения на качественный состав микрофлоры полости рта, снизить риск осложнений, развития мукозитов и периимплантитов.

## Литература

1. Гветадзе Р. Ш., Узунян Н. А., Лебеденко И. Ю. и др. Остеоинтеграция сверхупругих сплавов титана и ниобия. В сборнике: Актуальные вопросы стоматологии. Сборник научных трудов, посвященный основателю кафедры ортопедической стоматологии КГМУ профессору Исааку Михайловичу Оксману, Казань. 2018; 89–93.
2. Тлустенко В. П., Тлустенко В. С., Головина Е. С., Кошелев В. А. Влияние хронического локализованного пародонтита и дентального периимплантита на гомеостаз полости рта. Здоровье и образование в XXI веке. 2017; 19 (11): 102–6.
3. Утюж А. С., Юмашев А. В., Михайлова М. П. Ортопедические конструкции из сплавов титана при непереносимости традиционных зубных протезов. Врач. 2016; (7): 62–4.
4. Горобец С. М., Романенко И. Г., Джерелей А. А. и др. Факторы риска развития воспалительных осложнений дентальной имплантации. Таврический медико-биологический вестник. 2017; 20 (2): 208–14.
5. Alkan EA, Tüter G, Parlar A, et al. Evaluation of peri-implant crevicular fluid prostaglandin levels in augmented extraction sockets by different biomaterials. Acta Odontol. Scand. 2016; 74 (7): 532–8.

6. Саливончик М. С., Каливрадзиян Э. С., Рыжова И. П. Результаты микроскопии базисных полимеров. Современная ортопедическая стоматология. 2014; (22): 66–7.
7. Рыжова И. П., Присный А. А., Шинкаренко Н. Н., Саливончик М. С. Состояние микрофлоры полости рта под влиянием съемных конструкций зубных протезов. Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2014; (2): 151–3.
8. Riega-Torres JC, Villarreal-Gonzalez AJ, Cedeñas-Falcon LÁ, Salas-Alanis JC. Sjögren's syndrome (SS), a review of the subject and saliva as a diagnostic method. Gac Med Mex. 2016; 152 (3): 371–80.
9. Хабиллов Н. Л., Акбаров А. Н., Салимов О. Р. и др. Влияние съемных пластиночных протезов на микробиоценоз полости рта. Medicus. 2016; 6 (12): 82–5.
10. Зекий А. О., Зекий О. Е. Патогенная микрофлора и состояние периимплантационных тканей у пациентов с несъемными ортопедическими конструкциями с опорой на внутрикостные имплантаты при использовании герметизирующей силиконовой матрицы. Институт стоматологии. 2018; (1): 37–9.
11. Шишкова Ю. С., Бабикова М. С., Орнер И. Ю. и др. Особенности микробного спектра ротовой жидкости лиц, использующих стоматологические ортопедические конструкции. Медицинская наука и образование Урала. 2017; 1 (89): 32–6.

## References

1. Gvetadze RSh, Uzunjan NA, Lebedenko Iyu, et al. Osseointegration of superelastic alloys of titanium and niobium. In the collection: Actual issues of dentistry Collection of scientific papers dedicated to the founder of the Department of Prosthetic Dentistry KSMU Professor Isaak M. Oksman, Kazan. 2018; 89–93.
2. Tlustenko VP, Tlustenko VS, Golovina ES, Koshelev VA. Effect of chronic localized periodontitis and dental periimplantitis on oral homeostasis. Journal of Scientific Articles Health and Education in the XXI Century. 2017; 19 (11): 102–6.
3. Utjuzh AS, Jumashv AV, Mihajlova MP. Prosthetic appliances made of titanium alloys with intolerance to traditional dentures. Doctor. 2016; (7): 62–64.
4. Gorobec SM, Romanenko IG, Dzherelej AA, et al. Risk factors for the development of inflammatory complications after the implantation. Tavrichesky Medical-Biological Journal. 2017; 20 (2): 208–14.
5. Alkan EA, Tüter G, Parlar A, et al. Evaluation of peri-implant crevicular fluid prostaglandin levels in augmented extraction sockets by different biomaterials. Acta Odontol. Scand. 2016; 74 (7): 532–8.
6. Salivonchik MS, Kalivradzhiyan ES, Ryzhova IP. Results of microscopy of basic polymers. Modern prosthetic dentistry. 2014; (22): 66–7.
7. Ryzhova IP, Prisnyj AA, Shinkarenko NN, Salivonchik MS. The state of the oral microflora under the influence of removable dentures. Intern journals applied and basic research. 2014; (2): 151–3.
8. Riega-Torres JC, Villarreal-Gonzalez AJ, Cedeñas-Falcon LÁ, Salas-Alanis JC. Sjögren's syndrome (SS), a review of the subject and saliva as a diagnostic method. Gac Med Mex. 2016; 152 (3): 371–80.
9. Habilov NL, Akbarov AN, Salimov OR, et al. Influence of removable laminar prostheses on the oral microbiocenosis. Medicus. 2016; 6 (12): 82–5.
10. Zekij AO, Zekij OE. Pathogenic microflora and the state of peri-implantable tissues in patients with fixed prosthetic appliances with support on intraosseous implants using a silicone sealing matrix. Institute of Dentistry. 2018; (1): 37–9.
11. Shishkova YuS, Babikova MS, Orner Iyu, et al. Features of the microbial spectrum of the oral fluid of persons using dental prosthetic appliances. Medical science and education of the Urals. 2017; 1 (89): 32–6.

## ИЗУЧЕНИЕ ТИПА ПРОТИВОМИКРОБНОГО ДЕЙСТВИЯ НОВЫХ СОЕДИНЕНИЙ, СИНТЕЗИРОВАННЫХ НА ОСНОВЕ ЗАМЕЩЕННЫХ БЕНЗАМИНОИНДОЛОВ

И. С. Степаненко<sup>1</sup> ✉, С. А. Ямашкин<sup>2</sup>, Ю. А. Костина<sup>1</sup>, Е. Д. Слостников<sup>1</sup>, А. А. Батаршева<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Медицинский институт, Национальный исследовательский Мордовский государственный университет имени Н. П. Огарёва, Саранск, Россия

<sup>2</sup> Мордовский государственный педагогический институт имени М. Е. Евсевьева, Саранск, Россия

Исследование противомикробной активности новых соединений включает изучение как минимальной подавляющей концентрации вещества, так и других показателей, в том числе — определение типа противомикробного действия. Целью работы было определить тип противомикробного действия новых соединений, синтезированных на основе замещенных бензамининдолов. Тип противомикробного действия определяли при воздействии исследуемых соединений с лабораторными шифрами 5D, 7D, HD и S3 в коротких экспозициях с использованием тест-штамма микроорганизма *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P. Рост микроорганизмов в присутствии исследуемых соединений определяли невооруженным глазом в проходящем свете и по изменению оптической плотности культуральной среды фотокolorиметрически. Исследуемые соединения задерживали рост тест-штамма *S. aureus* в течение 2–3 и более суток и оказывали бактериостатическое действие в минимальных подавляющих концентрациях.

**Ключевые слова:** бензамининдолы, пирролохинолоны, противомикробная активность, тип противомикробного действия

**Информация о вкладе авторов:** И. С. Степаненко — участие в реализации эксперимента, анализ полученных результатов; С. А. Ямашкин — синтез тестируемых соединений и консультирование по идее исследования; Ю. А. Костина — разработка дизайна статьи и анализ полученных результатов; А. А. Батаршева и Е. Д. Слостников — участие в реализации эксперимента.

✉ **Для корреспонденции:** Ирина Семеновна Степаненко  
ул. Ульянова, д. 26, г. Саранск, 430032; ymahkina@mail.ru

**Статья получена:** 21.11.2018 **Статья принята к печати:** 07.04.2019 **Опубликована онлайн:** 21.04.2019

**DOI:** 10.24075/vrgmu.2019.030

## A STUDY OF THE TYPE OF ANTIMICROBIAL ACTION OF NOVEL COMPOUNDS SYNTHESIZED FROM SUBSTITUTED BENZAMINOINDOLES

Stepanenko IS<sup>1</sup> ✉, Yamashkin SA<sup>2</sup>, Kostina YuA<sup>1</sup>, Slastnikov ED<sup>1</sup>, Batarшева AA<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institute of Medicine, National Research Mordovia State University, Saransk, Russia

<sup>2</sup> Evseviev Mordovia State Institute of Pedagogy, Saransk, Russia

The antimicrobial activity of novel compounds is tested by determining the minimum inhibitory concentration of the agent in question and investigating a few other parameters, including the type of antimicrobial action the drug exhibits. The aim of this study was to determine the type of antimicrobial action of the compounds synthesized from the substituted benzaminoindoles. The strain of *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P was briefly exposed to the compounds with laboratory codes 5D, 7D, HD, and S3. Bacterial growth was evaluated macroscopically under transmitted light. Additionally, photoelectric colorimetry was applied to monitor changes in the optical density of the culture medium. The minimum inhibitory concentrations of the studied compounds delayed bacterial growth for 2–3 days and had a bacteriostatic effect on *S. aureus*.

**Keywords:** benzaminoindole, pyrroloquinoline, antimicrobial activity, antimicrobial activity type

**Author contribution:** Stepanenko IS conducted the experiment and analyzed its results; Yamashkin SA helped to design the experiment and synthesized the tested compounds; Kostina YuA analyzed the results of the experiment and wrote the article; Batarшева AA and Slastnikov ED conducted the experiment.

✉ **Correspondence should be addressed:** Irina S. Stepanenko  
Ulianova 26, Saransk, 430032; ymahkina@mail.ru

**Received:** 21.11.2018 **Accepted:** 07.04.2019 **Published online:** 21.04.2019

**DOI:** 10.24075/brsmu.2019.030

Борьба человечества с множеством патогенных микроорганизмов продолжается на протяжении многих веков. Открытие антимикробных агентов привело к успешному лечению и устранению некоторых бактериальных инфекций, однако выявило штаммы, устойчивые к противомикробным препаратам за счет многочисленных механизмов антибиотикорезистентности [1–3]. Проблема антибиотикорезистентности становится все более острой в XXI в., исследование механизмов приобретения устойчивости к антибиотикам лежит в основе разработки новых способов борьбы с данным явлением [4, 5]. Резистентность к лекарственным средствам представляет собой растущую глобальную угрозу для общественного здравоохранения, которая

затрагивает все основные патогенные микроорганизмы и противомикробные средства [6, 7].

При проведении микробиологического мониторинга в течение последних лет отмечена тенденция к увеличению количества полирезистентных штаммов. Например, метициллинрезистентные *S. aureus* по сравнению с метициллин-чувствительными штаммами отличаются существенно более высокой частотой устойчивости к гентамицину, клиндамицину, рифампицину, тетрациклину, хлорамфениколу, цефтаролину, ципрофлоксацину и эритромицину; *P. aeruginosa* проявляет нечувствительность к антисинегнойным цефалоспорином — цефепиму и цефтазидиму, а также пиперациллин-тазобактаму, имипенему, меропенему; представители семейства

*Enterobacteriaceae* устойчивы к трем и более традиционно применяемым антибиотикам, таким как цефотаксим, цефтазидим, цефепим, азтреонам и др. [8–10].

Поиск и разработка новых противомикробных средств — один из основополагающих принципов преодоления устойчивости микроорганизмов к антибиотикам. Необходимость поиска новых высокоэффективных и безопасных противомикробных соединений закреплена в Российской Федерации на законодательном уровне [11].

В результате реализации синтетических возможностей замещенных 4-, 5-, 6-, 7-аминоиндолы, используемых в качестве исходных веществ, нами была синтезирована серия индолиламидов и пирролохинолонов и доказано, что полученные новые соединения, представляющие собой различные замещенные циклические, нециклические *N*-(индолил)амиды и пирролохинолоны, обладают той или иной противомикробной активностью в отношении грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов [12–14].

Целью исследования было определить тип противомикробного действия новых соединений, синтезированных на основе замещенных аминокислот.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

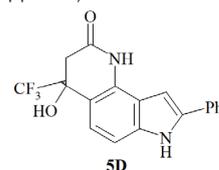
Определение типа противомикробного действия проводили с использованием тест-штамма микроорганизма *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-*P* (получен из коллекции музея живых культур ФБУН «ГНЦ ПМБ»). Для этого использовали методику воздействия исследуемых соединений в физиологическом растворе при комнатной температуре и коротких экспозициях [15]. Различные концентрации изучаемых соединений в физиологическом растворе разливали по пробиркам (по 1 мл). Контрольные пробы не содержали исследуемых соединений. Одновременно готовили взвесь бактерий в физиологическом растворе и добавляли по 1 мл в пробы, содержащие исследуемые соединения. Концентрация исследуемого микроорганизма в суспензии составляла  $1,5 \cdot 10^8$  КОЕ/мл. Мутность бактериальной суспензии с концентрацией исследуемого микроорганизма  $1,5 \cdot 10^8$  КОЕ/мл при визуальном контроле соответствует 0,5 по стандарту мутности МакФарланда [16, 17]. В работе использовали коммерческий набор для определения стандарта мутности 0,5 по МакФарланду (Sensititre; UK). Контроль оптической плотности суспензии также осуществляли спектрофотометрически (денситометрически). Бактериальную суспензию готовили из агаровой суточной культуры. Отмечали время, а затем через 5, 10, 15 и 30 мин, 1, 2 и 4 ч с помощью микропипетки вносили по 100 мкл физиологического раствора, содержащих микроорганизмы и исследуемое соединение, в пробы, содержащие 1 мл бульона Мюллера-Хинтона (МХБ) (M391; HiMedia Laboratories Pvt. limited; Индия). Использование нескольких временных экспозиций при определенной дозе вещества является основной предпосылкой для оценки возможных и фактических воздействий. Такой мониторинг позволяет выявить имеющиеся на данный момент воздействия минимальной подавляющей концентрации (МПК) соединения и их изменения во времени. Свойства веществ могут меняться в зависимости от свойств среды и микроорганизмов [15].

Конечная концентрация исследуемого микроорганизма в суспензии составила примерно  $5 \cdot 10^5$  КОЕ/мл в каждой пробирке. Концентрация исследуемых соединений для циклического амида 7D была равна 25 мкг/мл, для

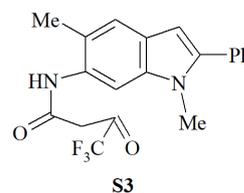
циклического амида 7D — 125 мкг/мл, для амида S3 — 62,5 мкг/мл, циклического амида HD — 59 мкг/мл, азитромицина — 1 мкг/мл [11–13]. В качестве препарата сравнения был выбран азитромицин — классический препарат с бактериостатическим действием, МПК<sub>90</sub> азитромицина для *S. aureus* составляет 0,01–2 мкг/мл [18]. Пробирки помещали в термостат при 37 °С и наблюдали наличие роста микроорганизмов в течение 5 суток. Для определения наличия роста микроорганизма пробирки с посевами культуры патогена просматривали в проходящем свете. Дополнительно рост микроорганизмов фиксировали по изменению оптической плотности культуральной среды с использованием фотоэлектроколориметра Ареп «АР-101» (ООО «Энергопромавтоматика»; Россия). Исследование проводили в объеме 1 мл в стерильных кюветах при длине волны 600 нм. Полученную оптическую плотность микроорганизмов, культивируемых в присутствии противомикробного соединения, сравнивали с оптической плотностью микроорганизмов, культивируемых без противомикробного соединения. В ходе исследования провели четыре серии эксперимента.

В работе исследовали соединения, полученные на основе замещенных 4-, 6- и 7-аминоиндолы.

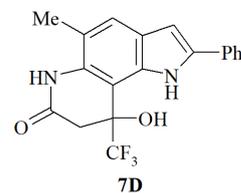
1. Производное замещенного 4-амино-2-фенилindoла 4-гидрокси-8-фенил-4-(трифторметил)-1,3,4,7-тетрагидро-2*H*-пирроло[2,3-*h*]хинолин-2-он — циклический амид (лабораторный шифр: 5D)



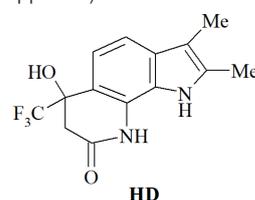
2. Производные замещенных 6-аминоиндолы: *N*-(1,5-диметил-2-фенил-1*H*-индол-6-ил)-4,4,4-трифтор-3-оксобутанамид — нециклический амид (лабораторный шифр: S3)



3. 9-гидрокси-5-метил-2-фенил-9-(трифторметил)-1,6,8,9-тетрагидро-7*H*-пирроло[2,3-*f*]хинолин-7-он — циклический амид (лабораторный шифр: 7D)



4. Производное замещенного 7-аминоиндола 6-гидрокси-2,3-диметил-6-(трифторметил)-1,6,7,9-тетрагидро-8*H*-пирроло[3,2-*h*]хинолин-8-он — циклический амид (лабораторный шифр: HD)



Обозначения для исследуемых соединений представлены в соответствии с правилами компьютерной программы ACDLABS IUPAC Name Generator версия MarvinSketch 4.7.7.0. (ChemAxon Ltd.; Венгрия), а структурные формулы соединений были нарисованы в компьютерной программе ISIS Draw 2.4. версия 2.4. (MDL Information Systems; США)

Статистическую обработку полученных результатов проводили методами вариационной статистики, достоверность

результатов оценивали с помощью метода определения *t*-критерия Стьюдента [16].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Видимый рост микроорганизмов в питательной среде наблюдали при показателях оптической плотности (*D*) культуральной среды более 0,21. Культуральная среда с «отрицательным» контролем микроорганизмов ( $5 \cdot 10^5$  КОЕ/мл

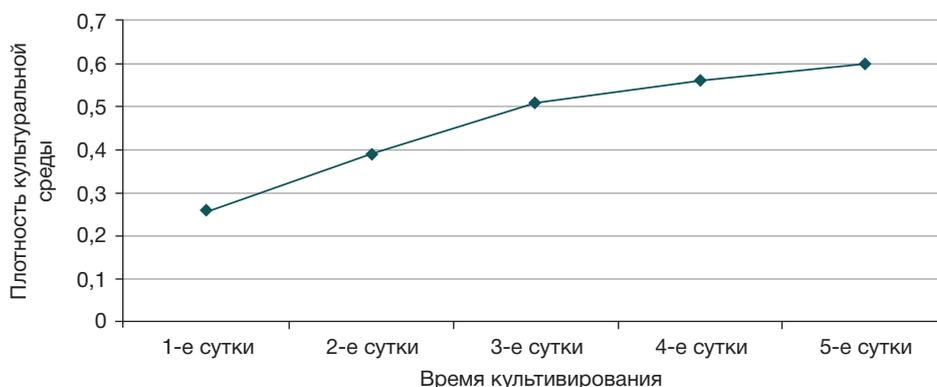


Рис. 1. Оптическая плотность культуральной среды с *S. aureus* ATCC 6538-*P* при культивировании в течение 5 суток

Таблица. Исследование роста *S. aureus* ATCC 6538-*P* по показателям оптической плотности культуральной среды

Время исследования	Контроль	Время экспозиции							
		Соединения	5 мин	10 мин	5 мин	30 мин	1 ч	2 ч	4 ч
1-е сутки	0,26 ± 0,03	Контроль	0,22 ± 0,01	0,22 ± 0,02	0,25 ± 0,04	0,26 ± 0,02	0,23 ± 0,05	0,27 ± 0,03	0,25 ± 0,02
		Азитромицин	0,05 ± 0,01*	0,05 ± 0,01*	0,05 ± 0,01*	0,05 ± 0,01*	0,07 ± 0,03*	0,07 ± 0,02*	0,06 ± 0,01*
		HD	0,07 ± 0,01*	0,07 ± 0,02*	0,07 ± 0,01*	0,08 ± 0,03*	0,07 ± 0,01*	0,06 ± 0,02*	0,05 ± 0,001*
		S3	0,12 ± 0,02*	0,12 ± 0,02*	0,10 ± 0,01*	0,10 ± 0,02*	0,09 ± 0,03*	0,09 ± 0,02*	0,09 ± 0,02*
		7D	0,07 ± 0,02*	0,07 ± 0,02*	0,07 ± 0,01*	0,08 ± 0,02*	0,06 ± 0,01*	0,06 ± 0,01*	0,06 ± 0,01*
		5D	0,010 ± 0,001*	0,010 ± 0,001*	0,010 ± 0,001*	0,010 ± 0,003*	0,010 ± 0,001*	0,010 ± 0,001*	0,010 ± 0,002*
2-е сутки	0,39 ± 0,06	Контроль	0,38 ± 0,07	0,38 ± 0,09	0,38 ± 0,12	0,37 ± 0,08	0,43 ± 0,09	0,39 ± 0,04	0,44 ± 0,01
		Азитромицин	0,09 ± 0,06*	0,09 ± 0,05*	0,12 ± 0,04*	0,15 ± 0,02*	0,15 ± 0,01*	0,15 ± 0,04*	0,11 ± 0,02*
		HD	0,18 ± 0,04*	0,18 ± 0,02*	0,15 ± 0,03*	0,14 ± 0,03*	0,09 ± 0,01*	0,08 ± 0,01*	0,07 ± 0,02*
		S3	0,25 ± 0,02	0,27 ± 0,02	0,24 ± 0,03	0,20 ± 0,01*	0,19 ± 0,03*	0,20 ± 0,01*	0,20 ± 0,01*
		7D	0,15 ± 0,04*	0,15 ± 0,02*	0,14 ± 0,03*	0,19 ± 0,04*	0,15 ± 0,02*	0,15 ± 0,01*	0,13 ± 0,03*
		5D	0,011 ± 0,002*	0,012 ± 0,001*	0,012 ± 0,002*	0,011 ± 0,002*	0,011 ± 0,001*	0,011 ± 0,003*	0,011 ± 0,002*
3-е сутки	0,51 ± 0,05	Контроль	0,45 ± 0,02	0,45 ± 0,04	0,48 ± 0,02	0,49 ± 0,08	0,51 ± 0,03	0,46 ± 0,02	0,51 ± 0,01
		Азитромицин	0,13 ± 0,07*	0,13 ± 0,05*	0,17 ± 0,02*	0,20 ± 0,01*	0,20 ± 0,01*	0,19 ± 0,02*	0,18 ± 0,02*
		HD	0,28 ± 0,11	0,28 ± 0,08	0,28 ± 0,02	0,24 ± 0,05*	0,22 ± 0,03*	0,21 ± 0,04*	0,23 ± 0,02*
		S3	0,32 ± 0,1	0,32 ± 0,07	0,34 ± 0,04	0,29 ± 0,5	0,29 ± 0,04	0,27 ± 0,05	0,26 ± 0,03
		7D	0,18 ± 0,03*	0,18 ± 0,02*	0,17 ± 0,01*	0,25 ± 0,04	0,20 ± 0,01*	0,19 ± 0,01*	0,18 ± 0,01*
		5D	0,014 ± 0,002*	0,013 ± 0,003*	0,014 ± 0,003*	0,02 ± 0,007*	0,014 ± 0,002*	0,02 ± 0,002*	0,02 ± 0,002*
4-е сутки	0,56 ± 0,02	Контроль	0,53 ± 0,01	0,53 ± 0,03	0,56 ± 0,03	0,56 ± 0,01	0,58 ± 0,01	0,54 ± 0,01	0,57 ± 0,01
		Азитромицин	0,24 ± 0,05*	0,25 ± 0,03*	0,27 ± 0,07	0,33 ± 0,03	0,34 ± 0,02	0,25 ± 0,03	0,23 ± 0,03*
		HD	0,35 ± 0,09	0,35 ± 0,12	0,36 ± 0,09	0,36 ± 0,10	0,32 ± 0,07	0,36 ± 0,09	0,30 ± 0,06
		S3	0,42 ± 0,03	0,42 ± 0,04	0,39 ± 0,02	0,36 ± 0,03	0,35 ± 0,06	0,35 ± 0,04	0,33 ± 0,04
		7D	0,27 ± 0,02	0,27 ± 0,04	0,27 ± 0,06	0,33 ± 0,03	0,33 ± 0,04	0,25 ± 0,03	0,23 ± 0,01*
		5D	0,03 ± 0,007*	0,03 ± 0,008*	0,03 ± 0,003*	0,04 ± 0,011*	0,07 ± 0,013*	0,07 ± 0,01*	0,09 ± 0,01*
5-е сутки	0,60 ± 0,02	Контроль	0,54 ± 0,03	0,54 ± 0,05	0,57 ± 0,03	0,57 ± 0,01	0,59 ± 0,01	0,55 ± 0,04	0,58 ± 0,03
		Азитромицин	0,25 ± 0,05*	0,26 ± 0,02*	0,28 ± 0,09	0,38 ± 0,1	0,36 ± 0,06	0,26 ± 0,02*	0,25 ± 0,01*
		HD	0,43 ± 0,05	0,43 ± 0,09	0,43 ± 0,06	0,53 ± 0,05	0,43 ± 0,09	0,46 ± 0,04	0,37 ± 0,9
		S3	0,43 ± 0,06	0,43 ± 0,05	0,40 ± 0,13	0,37 ± 0,11	0,36 ± 0,07	0,35 ± 0,04	0,35 ± 0,03
		7D	0,31 ± 0,12	0,31 ± 0,09	0,31 ± 0,04	0,42 ± 0,05	0,35 ± 0,02	0,31 ± 0,03	0,25 ± 0,02*
		5D	0,04 ± 0,009*	0,04 ± 0,01*	0,06 ± 0,012*	0,07 ± 0,011*	0,08 ± 0,002*	0,09 ± 0,01*	0,11 ± 0,01*

Примечание: \* — отличие от контроля статистически достоверно при *p* < 0,05.

микроорганизма), хранившаяся в холодильнике, имеет значение  $D = 0,003$ .

В контрольных пробирках видимый рост микроорганизмов наблюдали через сутки после посева (рис. 1). Показатели оптической плотности культуральной среды после первых суток культивирования демонстрировали прирост микробной массы до 0,26 и более (табл.). Через 2 суток культивирования значение  $D$  микробной популяции *S. aureus* ATCC 6538-Р достигло 0,39, через 3 суток — 0,51, через 4 суток — 0,56, через 5 суток культивирования этот показатель составил 0,6. Таким образом, в течение эксперимента наблюдали прирост микробной популяции на 50%, на 30%, на 9%, на 7% после 2, 3, 4 и 5 суток культивирования соответственно (рис. 2). Снижение интенсивности роста можно объяснить истощением ресурсов питательной среды.

Препарат сравнения азитромицин задерживал рост и размножение тест-штамма *S. aureus* в течение 3 суток. После 4-суточного культивирования с азитромицином в МПК наблюдали появление видимого роста микробной популяции в проходящем свете (рис. 3). Увеличение плотности культуральной среды после экспозиций с азитромицином наблюдали после 2 суток культивирования (табл.). Показатели величины  $D$  культуральной среды

статистически значимо отличались от таковых в контроле ( $p < 0,05$ ). После 4 суток культивирования тест-штамма отмечали увеличение плотности культуральной среды относительно исходной до 0,23–0,25, но задержка роста микробной популяции оставалась статистически значимо отличной от контроля в течение всего эксперимента. Запоздалый (через 4 суток) рост свидетельствует об отсутствии бактерицидного действия. МПК азитромицин задерживает рост и размножение микроорганизмов и оказывает в исследуемой концентрации бактериостатическое действие.

После экспозиции тест-штамма с циклическим амидом HD видимого в проходящем свете роста в первые сутки не наблюдали. Через 2 суток культивирования роста микроорганизмов во всех пробирках невооруженным глазом не выявили. Через 3 суток наблюдения обнаружили видимое помутнение среды во всех пробирках с посевами. Значение  $D$  культуральной среды после первых суток наблюдения свидетельствует о задержке роста и размножения тест-штамма *S. aureus* ATCC 6538-Р после экспозиций с исследуемым соединением (табл.; рис. 4). После культивирования в течение 2 суток циклический амид HD статистически значимо задерживал рост микробной популяции ( $p < 0,05$ ). В течение всего эксперимента

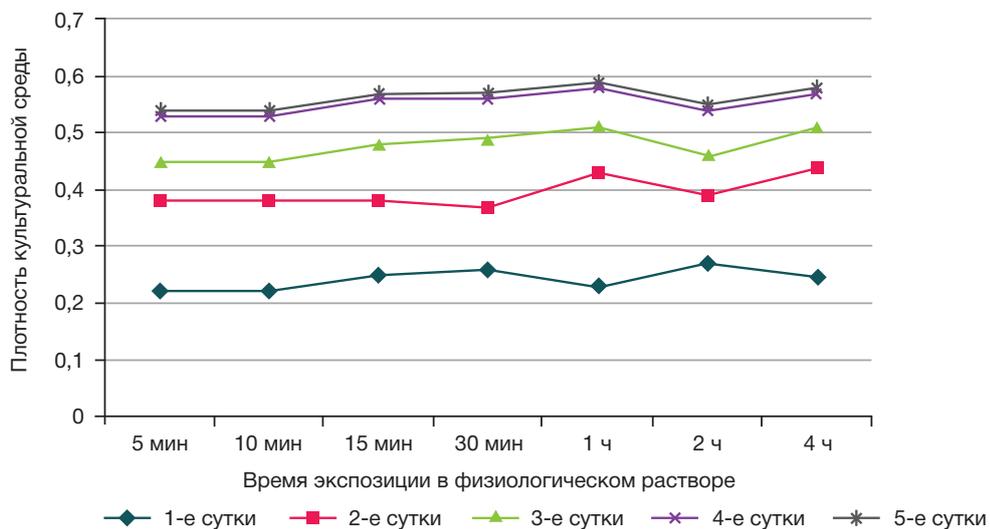


Рис. 2. Оптическая плотность культуральной среды с *S. aureus* ATCC 6538-Р после экспозиций в физиологическом растворе при культивировании в течение 5 суток

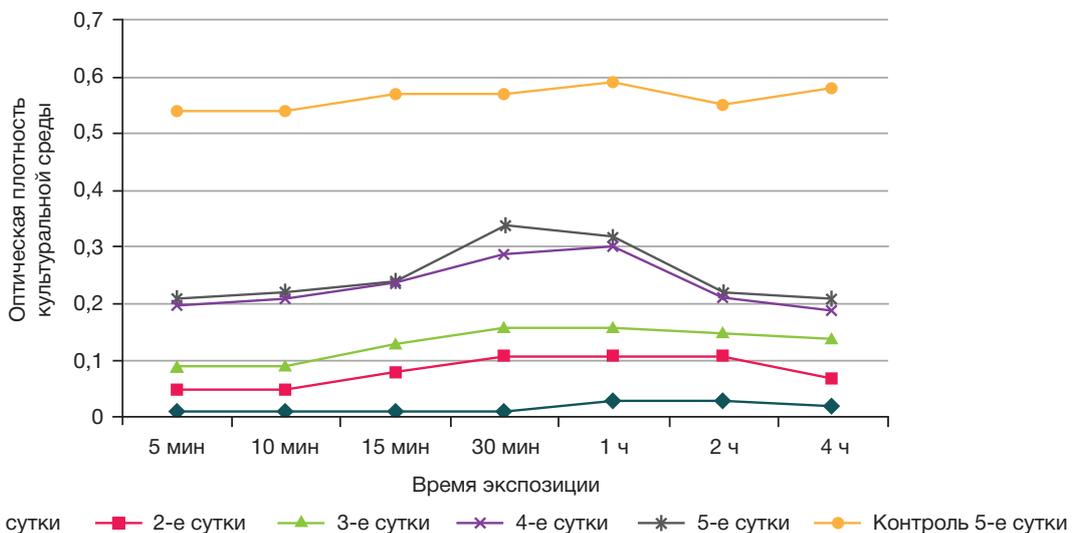


Рис. 3. Оптическая плотность культуральной среды с *S. aureus* ATCC 6538-Р после экспозиций с азитромицином

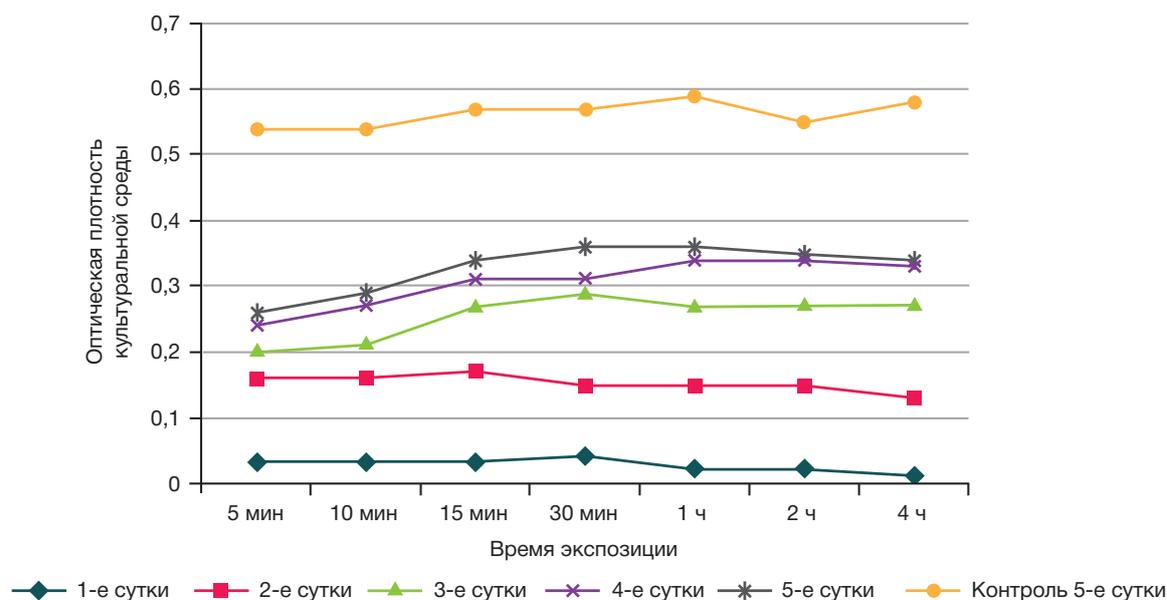


Рис. 4. Оптическая плотность культуральной среды с *S. aureus* ATCC 6538-P после экспозиций с соединением HD

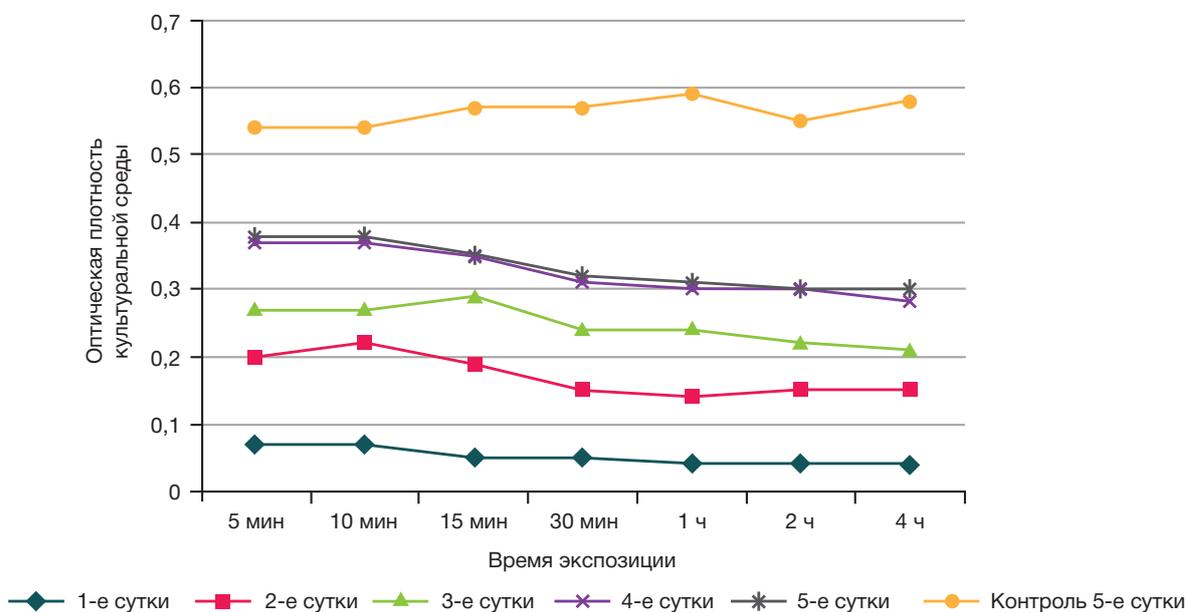


Рис. 5. Оптическая плотность культуральной среды с *S. aureus* ATCC 6538-P после экспозиций с соединением S3

плотность культуральной жидкости содержащей МПК изучаемого соединения была ниже, чем в контроле. МПК исследуемого соединения HD задерживает рост и размножение микроорганизмов и оказывает в исследуемой концентрации бактериостатическое действие.

После экспозиций тест-штамма с соединением S3 видимого в проходящем свете роста в первые сутки не обнаружили. Через 2 суток культивирования наблюдали видимый рост в пробирках после экспозиции исследуемых микроорганизмов с амидом S3 в течение 5 мин, 10 мин и 15 мин, в остальных пробирках рост не вооруженным глазом в проходящем свете не выявили. На 3 сутки наблюдения обнаружили видимое помутнение среды во всех пробирках с посевами микроорганизмов. Изучаемый амид S3 статистически значимо задерживал увеличение значения  $D$  культуральной среды с тест-штаммом *S. aureus* в первые и вторые сутки культивирования ( $p < 0,05$ ) (табл.; рис. 5). В течение последующих суток культивирования отмечали тенденцию к задержке степени увеличения  $D$  культуральной среды по сравнению с контролем.

Запоздалый (после 2 суток) рост микроорганизмов свидетельствует об отсутствии бактерицидного действия. МПК исследуемого соединения S3 задерживает рост и размножение микроорганизмов и оказывает в исследуемой концентрации бактериостатическое действие.

После экспозиций микроорганизмов с соединением 7D видимого в проходящем свете роста в первые сутки не наблюдали. Через 2 суток культивирования так же не выявили видимого не вооруженным глазом роста микроорганизмов. После 3 суток наблюдения обнаружили видимое помутнение среды с экспозицией вещества 7D в течение 30 мин. После 4 суток культивирования во всех пробирках наблюдали видимое в проходящем свете помутнение культуральной среды. Статистически значимое снижение плотности культуральной среды по сравнению с контролем наблюдали в течение 3 суток культивирования исследуемого тест-штамма *S. aureus* ATCC 6538-P после экспозиций с циклическим амидом 7D (табл.; рис. 6). На протяжении всего эксперимента наблюдали тенденцию к задержке роста микробной

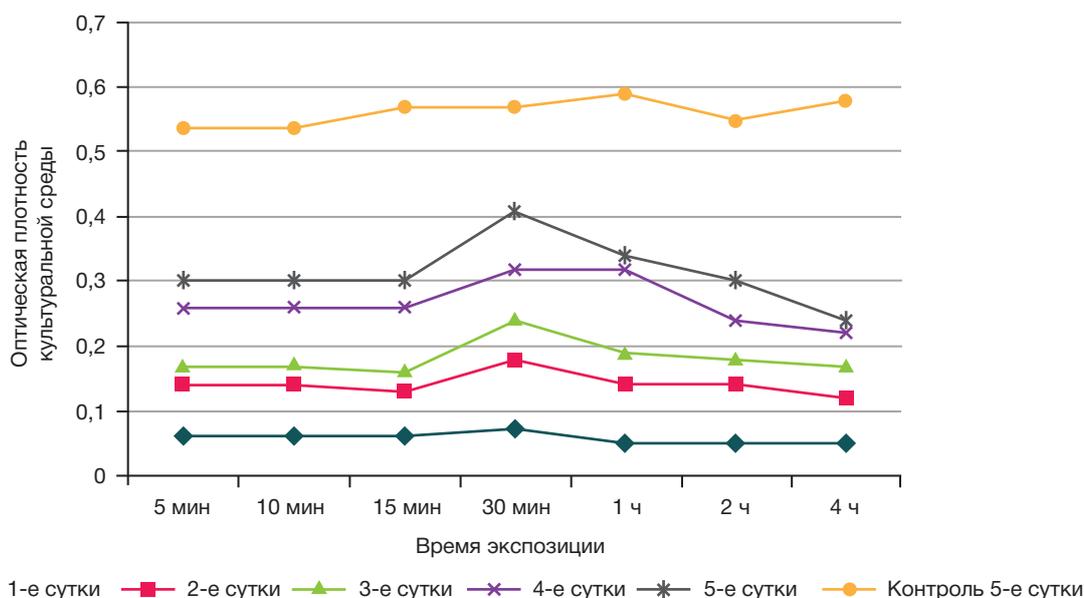


Рис. 6. Оптическая плотность культуральной среды с *S. aureus* ATCC 6538-*P* после экспозиций с соединением 7D

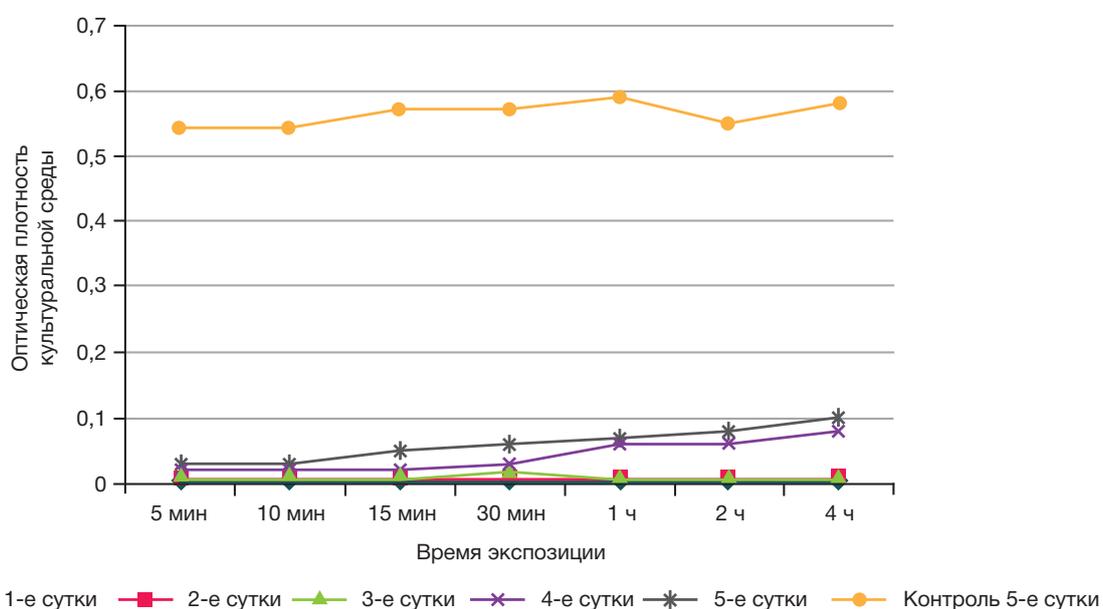


Рис. 7. Оптическая плотность культуральной среды с *S. aureus* ATCC 6538-*P* после экспозиций с соединением 5D

популяции в присутствии соединения 7D. Таким образом, МПК вещества 7D задерживает рост и размножение микроорганизмов и оказывает в исследуемой концентрации бактериостатическое действие.

Видимый в проходящем свете рост *S. aureus* ATCC 6538-*P* после экспозиций с циклическим амидом 5D в течение всего эксперимента не был обнаружен. Показатели оптической плотности культуральной среды в присутствии циклического амида 5D свидетельствовали о задержке роста и размножения исследуемого тест-штамма *S. aureus* в течение 5 суток культивирования (табл.; рис. 7). Величина D культуральной среды статистически значимо отличалась от таковой в контроле ( $p < 0,05$ ) в ходе эксперимента, но все же имела тенденцию к увеличению. Вероятно концентрация соединения 5D, полученная в среде, была близка к бактерицидной. Изучаемый циклический амид 5D задерживает рост и размножение микроорганизмов и оказывает в исследуемой концентрации бактериостатическое действие.

Таким образом, исследованные соединения, а именно циклический амид 5D (из группы соединений, полученных на основе 4-амино-фенилиндола), амид S3 и циклический амид 7D (из группы соединений, полученных на основе замещенных 6-аминоиндолов), а также циклический амид HD (из группы соединений, полученных на основе замещенных 7-аминоиндолов) в течение суток и более вызывали задержку роста и размножения тест-штамма *S. aureus* ATCC 6538-*P*. После культивирования в течение 2 суток все исследуемые соединения, кроме амида S3, продолжали подавлять рост исследуемого штамма микроорганизма. Видимый рост и соответствующее увеличение плотности культуральной среды через 2 суток наблюдали в пробирках с соединением S3 после экспозиций в течение 5 мин, 10 мин и 15 мин. После 3 суток видимый рост наблюдали во всех пробирках в присутствии циклического амида HD и амида S3. После 4 суток культивирования наблюдали видимый рост микроорганизмов в присутствии соединения 7D. Экспериментальное исследование в присутствии

циклического амида 5D сопровождалось отсутствием видимого роста *S. aureus* ATCC 6538-*P* в течение 5 суток культивирования, хотя был обнаружен прирост микробной популяции по показателям оптической плотности среды.

Изученный тип противомикробного действия новых соединений, синтезированных на основе замещенных 4-, 6-, 7-аминоиндолов, обладающих наиболее выраженным противомикробным действием, сходен с действием препарата сравнения (азитромицина), классическим противомикробным препаратом с бактериостатическим действием.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В течение последних десятилетий неизменно актуальными остаются работы в области химии индола и его производных. Это обусловлено тем, что индольная структура лежит в основе многих природных и синтетических физиологически активных веществ, например молекулы незаменимой аминокислоты триптофана, биогенного амина серотонина. Особый интерес представляют аминокислоты с аминной группой в бензольной части молекулы. Эти соединения, как любые ароматические амины, имеют различного рода производные с участием аминной группы [12–13]. Нами проводились исследования по изучению взаимодействия  $\beta$ -диоксо соединений с замещенными аминокислотами с различным положением аминной группы в бензольном кольце и были разработаны методы получения и синтезированы 16 исходных аминокислот и 32 их производных — индолиламинов, енаминов и пирролохинолинов. Определены МПК и спектры антимикробного действия полученных соединений.

В современной фармакологической науке исследование новых противомикробных соединений включает изучение МПК вещества, спектра противомикробного действия, типа противомикробного действия, механизма биологического действия и т. п. Методы определения типа противомикробного действия основаны на исследовании и сравнении МПК и минимальных бактерицидных концентраций (МБК) и дают возможность лишь условно классифицировать новое соединение по типу действия на бактериальную клетку

[16]. Методика определения типа противомикробного действия при воздействии исследуемых соединений в коротких экспозициях [15] позволила нам не только выявить тип противомикробного действия исследуемых соединений, но и доказать, что новые соединения при используемых временных экспозициях не изменяют свои противомикробные свойства, ни под действием окружающей среды, ни под действием микроорганизмов. В присутствии всех исследуемых соединений, независимо от наличия или отсутствия видимого роста микробной популяции, можно было наблюдать устойчивую тенденцию к задержке роста и размножения тест-штамма *S. aureus* ATCC 6538-*P* в течение всего эксперимента. Исходя из доказанного бактериостатического типа действия в МПК исследуемых соединений, можно предположить, что воздействие на клеточную стенку и цитоплазматическую мембрану микроорганизмов, приводящее к гибели микробной клетки, не является механизмом противомикробного действия группы изучаемых производных 4-, 6-, 7-аминоиндолов. Вероятно, активность исследуемых соединений обусловлена воздействием либо на ДНК микробной клетки (ДНК-повреждающее действие или дополнительный механизм, не сопровождающийся образованием разрывов ДНК), либо на процессы, связанные с белковым синтезом. Изучение механизма противомикробного действия производных 4-, 6-, 7-аминоиндолов будет следующим этапом нашего исследования.

## ВЫВОДЫ

В работе доказаны способность производных замещенных бензаминдолов в минимальных подавляющих концентрациях оказывать бактериостатическое действие и устойчивая тенденция к задержке роста и размножения тест-штаммов микроорганизмов в присутствии производных 4-, 6-, 7-аминоиндолов. Полученные результаты являются основанием для дальнейшего исследования синтетических производных 4-, 6-, 7-аминоиндолов с целью клинического применения изученных соединений в качестве противомикробных препаратов.

## Литература

1. Parhizgari N, Gouya MM, Mostafavi E. Emerging and re-emerging infectious diseases in Iran. *Iranian Journal of Microbiology*. 2017; 9 (3): 122–42.
2. Yokoyama M, Stevens E, Laabei M, Bacon L, Heesom K, Bayliss S et al. Epistasis analysis uncovers hidden antibiotic resistance-associated fitness costs hampering the evolution of MRSA. *Genome Biology*. 2018; 19 (1): 94.
3. Kumarasamy KK, Toleman MA, Walsh TR, Bagaria J, Butt F, Balakrishnan R et al. Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. *The Lancet Infectious Diseases*. 2010; 10 (9): 597–602.
4. McKeegan KS, Borges-Walmsley MI, Walmsley AR. Microbial and viral drug resistance mechanisms. *Trends in Microbiology*. 2002; (10): 8–14.
5. Savjani JK, Gajjar AK, Savjani KT. Mechanisms of resistance: useful tool to design antibacterial agents for drug — resistant bacteria. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*. 2009; 9 (2): 194–205.
6. Yadav N, Dubey A, Shukla S, Saini CP, Gupta G, Priyadarshini R et al. Graphene Oxide-Coated Surface: Inhibition of Bacterial Biofilm Formation due to Specific Surface-Interface Interactions. *ACS Omega*. 2017; 2 (7): 3070–82.
7. Obayiwana A, Ogunjobi M, Yang M, Ibekwe M. Characterization of Bacterial Communities and Their Antibiotic Resistance Profiles in Wastewaters Obtained from Pharmaceutical Facilities in Lagos and Ogun States. *Nigeria International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2018; 15 (7): 1365.
8. Козлов П. С. Антибиотикорезистентность грамположительных возбудителей осложненных интраабдоминальных инфекций в России. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2015; 17 (3): 227–34.
9. Романов А. В. Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов *Staphylococcus aureus* в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «Марафон» 2013–2014. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2017; 19 (1): 57–62.
10. Сухорукова М. В. Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов *Enterobacteriaceae* в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «Марафон»

- 2013–2014. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2017; 19 (1): 49–56.
11. Распоряжение Правительства РФ от 25 сентября 2017 г. № 2045-р «О стратегии предупреждения распространения антимикробной резистентности в РФ на период до 2030 г.». Доступно по ссылке: <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/71677266/>.
  12. Алямкина Е. А., Степаненко И. С., Ямашкин С. А., Юровская М. А. Соединения с потенциальной антимикробной активностью на основе 4-амино-2-фенилиндола. Вестник Московского университета. 2016; 57 (6): 410–17.
  13. Alyamkina EA, Yamashkin SA, Stepanenko IS, Yurovskaya MA. 4-amino-2-phenylindole-based compounds with potential antibacterial activity. Moscow University Chemistry Bulletin. 2017; 72 (1): 24–8.
  14. Stepanenko IS. A new group of compounds derived from 4-, 5-, 6- and 7-aminoindoles with antimicrobial activity. Research Results in Pharmacology. 2018; 4 (3): 17–26.
  15. Першин Г. Н. редактор. Практическое руководство. Методы экспериментальной химиотерапии. М.: Медицина, 1971; 541 с.
  16. Миронов А. Н., Бунятян Н. Д., Васильев А. Н., Верстакова О. Л., Журавлева М. В., Лепяхин В. К. и др. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. М.: Гриф и К, 2012; 944 с.
  17. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам. Методические указания МУК 4.2.1890-04. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2004; 6 (4): 303–402.
  18. Козлов Р. С., Сухорукова М. В., Эйдельштейн М. В., Иванчик Н. В., Скленова Е. Ю., Тимохова А. В. и др. Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам: клинические рекомендации. Смоленск: Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии. 2018; 206 с.

## References

1. Parhizgari N, Gouya MM, Mostafavi E. Emerging and re-emerging infectious diseases in Iran. Iranian Journal of Microbiology. 2017; 9 (3): 122–42.
2. Yokoyama M, Stevens E, Laabei M, Bacon L, Heesom K, Bayliss S et al. Epistasis analysis uncovers hidden antibiotic resistance-associated fitness costs hampering the evolution of MRSA. Genome Biology. 2018; 19 (1): 94.
3. Kumarasamy KK, Toleman MA, Walsh TR, Bagaria J, Butt F, Balakrishnan R et al. Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. The Lancet Infectious Diseases. 2010; 10 (9): 597–602.
4. McKeegan KS, Borges-Walmsley MI, Walmsley AR. Microbial and viral drug resistance mechanisms. Trends in Microbiology. 2002; (10): 8–14.
5. Savjani JK, Gajjar AK, Savjani KT. Mechanisms of resistance: useful tool to design antibacterial agents for drug — resistant bacteria. Mini-Reviews in Medicinal Chemistry. 2009; 9 (2): 194–205.
6. Yadav N, Dubey A, Shukla S, Saini CP, Gupta G, Priyadarshini R et al. Graphene Oxide-Coated Surface: Inhibition of Bacterial Biofilm Formation due to Specific Surface-Interface Interactions. ACS Omega. 2017; 2 (7): 3070–82.
7. Obayiuwana A, Ogunjobi M, Yang M, Ibekwe M. Characterization of Bacterial Communities and Their Antibiotic Resistance Profiles in Wastewaters Obtained from Pharmaceutical Facilities in Lagos and Ogun States. Nigeria International Journal of Environmental Research and Public Health. 2018; 15 (7): 1365.
8. Kozlov RS. Antibiotic resistance of gram-positive pathogens of complicated intra-abdominal infections in Russia. Clinical microbiology and antimicrobial chemotherapy. 2015; 17 (3): 227–34.
9. Romanov AV. Antibiotic resistance of nosocomial strains of *Staphylococcus aureus* in hospitals in Russia: results of the Marathon 2013–2014 multicenter epidemiological study. Clinical microbiology and antimicrobial chemotherapy. 2017; 19 (1): 57–62.
10. Sukhorukova MV. Antibiotic resistance of nosocomial *Enterobacteriaceae* strains in hospitals in Russia: the results of the Marathon 2013–2014 multicenter epidemiological study. Clinical microbiology and anti-microbial chemotherapy. 2017; 19 (1): 49–56.
11. Rasporyazheniye Pravitel'stva RF ot 25 sentyabrya 2017 g. № 2045-r «O strategii preduprezhdeniya rasprostraneniya antimikrobnoy rezistentnosti v RF na period do 2030 g.». Available from: <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/71677266/>. Russian.
12. Alyamkina EA, Stepanenko IS, Yamashkin SA, Yurovskaya MA. Soedineniya s potencial'noj antimikrobnoy aktivnost'yu na osnove 4-amino-2-fenilindola. Vestnik Moskovskogo universiteta. 2016; 57 (6): 410–7. Russian.
13. Alyamkina EA, Yamashkin SA, Stepanenko IS, Yurovskaya MA. 4-amino-2-phenylindole-based compounds with potential antibacterial activity. Moscow University Chemistry Bulletin. 2017; 72 (1): 24–8.
14. Stepanenko IS. A new group of compounds derived from 4-, 5-, 6- and 7-aminoindoles with antimicrobial activity. Research Results in Pharmacology. 2018; 4 (3): 17–26.
15. Pershin GN, redaktor. Prakticheskoe rukovodstvo. Metody ehksperimental'noj himioterapii. M.: Medicina, 1971; 541 s. Russian.
16. Mironov AN, Bunyatyan ND, Vasilyev AN, Verstakova OL, Zhuravleva VV, Lepakhin VK, i dr. Rukovodstvo po provedeniju doklinicheskikh issledovanij lekarstvennyh sredstv. M.: Grif i K, 2012; 944 s. Russian.
17. Opredelenie chuvstvitel'nosti mikroorganizmov k antibakterial'nym preparatam. Metodicheskie ukazaniya MUK 4.2.1890-04. Klinicheskaja mikrobiologija i antimikrobnaja himioterapija. 2004; 6 (4): 303–402. Russian.
18. Kozlov RS, Sukhorukova MV, Eidelstein MV, Ivanchik NV, Skleenova EYu, Timokhova AV, et al. Determination of the sensitivity of microorganisms to antimicrobial drugs: clinical recommendations. Smolensk: Interregional Association of Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy. 2018; 206 p.

## ДИНАМИКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ГЕМОСТАЗА И ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ ПРИ ТЕРМИЧЕСКОЙ ТРАВМЕ

В. В. Моррисон<sup>1</sup>, А. Ю. Божедомов<sup>2</sup> ✉

<sup>1</sup> Саратовский государственный медицинский университет имени В. И. Разумовского, Саратов, Россия

<sup>2</sup> Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва, Россия

Ожоги остаются причиной смертности сотен тысяч людей. Целью работы было изучить динамику изменений показателей системной воспалительной реакции, эндотелиальной дисфункции и нарушений гемостаза у пострадавших от ожогов. У 51 пациента в возрасте 16–80 лет с термическими ожогами средней и тяжелой степени изучали выраженность системного воспаления по уровням фактора некроза опухоли α (ФНОα), интерлейкинов (IL6, IL12), С-реактивного протеина, моноцитарного хемоаттрактантного протеина-1 (MCP-1). Состояние гемостаза оценивали на основании коагулометрических исследований (активированное парциальное тромбопластиновое время (АПТВ), протромбиновый индекс (ПТИ), протромбиновое время (ПТВ) и др.), количества тромбоцитов; дисфункцию эндотелия — по уровням васкулоэндотелиального ростового фактора (VEGF), общего эндотелина (ЭТ), циркулирующих эндотелиальных клеток. Показатели изучали в динамике на 1–45-е сутки с момента получения травмы. Наибольшую выраженность дисфункции эндотелия и воспалительной реакции выявили на 3–15-е сутки (VEGF  $828,9 \pm 993,2$  пг/мл, общий эндотелин  $3,0 \pm 1,7$  фмоль/мл, ЦЭК  $6,4 \pm 6,0 \cdot 10^4$ /л, IL6  $264,4 \pm 131,2$  пг/мл, ФНОα  $41,4 \pm 111,9$  пг/мл, С-реактивный белок  $128,3 \pm 52,4$  нмоль/мл). В этот же период было отмечено выраженное угнетение коагуляции (АЧТВ  $41,4 \pm 17,7$  с, ПТИ  $83,6 \pm 15,4\%$ , ПТВ  $22,3 \pm 10,0$  с). К 30–45-м суткам происходило уменьшение концентрации провоспалительных цитокинов и медиаторов воспаления в крови (ФНОα  $3,9 \pm 9,6$  пг/мл, IL6  $49,0 \pm 35,9$  пг/мл, С-реактивный белок  $81,9 \pm 34,1$  нмоль/мл) и дальнейшее снижение коагуляционного потенциала крови (АЧТВ  $51,8 \pm 34,1$  с, ПТИ  $82,9 \pm 19,4\%$ , ПТВ  $24,9 \pm 21,4$  с). Отмечено снижение показателей гемокоагуляции. Показано, что происходит повреждение эндотелия сосудов как продуктами, попадающими из ожоговых ран, так и медиаторами воспалительной реакции. Риск тромбозомболических и геморрагических осложнений максимален с 7-х по 15-е сутки ожоговой болезни. Требуются дальнейшие более детальные исследования механизмов повреждения эндотелия при ожогах.

**Ключевые слова:** ожоги, эндотелиальная дисфункция, гемостаз, гипокоагуляция, системная воспалительная реакция

**Информация о вкладе авторов:** Моррисон В. В. — планирование эксперимента, анализ материала, редактирование статьи; Божедомов А. Ю. — сбор и анализ материала, статистическая обработка, написание текста статьи.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено этическим комитетом Саратовского государственного медицинского университета им. В. И. Разумовского (протокол № 5 от 27 мая 2010 г.); пациенты, включенные в исследование, подписали согласие на публикацию и размещение в интернете информации о характере заболевания, проведенном лечении и его результатах с научной и образовательной целями.

✉ **Для корреспонденции:** Алексей Юрьевич Божедомов  
ул. Островитянова, д. 1, г. Москва, 117997; alecco\_84@mail.ru

**Статья получена:** 28.12.2018 **Статья принята к печати:** 26.03.2019 **Опубликована онлайн:** 07.04.2019

**DOI:** 10.24075/vrgmu.2019.021

## DYNAMICS OF HEMOSTASIS PARAMETERS AND ENDOTHELIAL DYSFUNCTION MARKERS IN PATIENTS WITH THERMAL INJURY

Morrison VV<sup>1</sup>, Bozhedomov AYU<sup>2</sup> ✉

<sup>1</sup> Saratov State Medical University, Saratov, Russia

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

Burn injuries kill thousands of people. The aim of this study was to investigate the dynamics of systemic inflammatory response parameters, endothelial dysfunction markers and hemostasis impairment in patients with thermal burn injuries. The study was conducted in 51 patients aged 16 to 80 years presenting with moderate to severe thermal burns. The systemic inflammatory response was assessed based on the levels of tumor necrosis factor α (TNFα), a number of interleukins (IL6, IL12), the C-reactive protein, and the monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1). Hemostatic impairments were inferred from the results of coagulation tests that measured the activated partial thromboplastin time (APTT), the prothrombin index (PI), the prothrombin time (PT) and the platelet count. Endothelial dysfunction was analyzed based on the levels of vascular endothelial growth factor (VEGF), total endothelin (TE) and circulating endothelial cells. The dynamics of the listed parameters were studied over 45 days following the injury. Endothelial dysfunction markers peaked on days 3–15 (VEGF  $828.9 \pm 993.2$  pg/mL, TE  $3.0 \pm 1.7$  fmol/mL, CEC  $6.4 \pm 6.0 \cdot 10^4$ /l, IL6  $264.4 \pm 131.2$  pg/mL, TNFα  $41.4 \pm 111.9$  pg/ml, C-reactive protein  $128.3 \pm 52.4$  nmol/mL). Coagulation was significantly impaired during the same period (APTT  $41.4 \pm 17.7$  s, PI  $83.6 \pm 15.4\%$ , PT  $22.3 \pm 10.0$  s). By day 30–35, blood concentrations of proinflammatory cytokines and inflammation mediators had declined (TNFα  $3.9 \pm 9.6$  pg/mL, IL6  $49.0 \pm 35.9$  pg/mL, C-reactive protein  $81.9 \pm 34.1$  nmol/ml); in that phase, the coagulation potential was continuing to decrease (APTT  $51.8 \pm 34.1$  s, PI  $82.9 \pm 19.4\%$ , PT  $24.9 \pm 21.4$  s). The study demonstrates that damage to the endothelium results from both injured tissue breakdown and inflammation mediators. The risk of thromboembolic and hemorrhagic complications is the highest on days 7 through 15 following thermal injury. Further research is needed to study the mechanisms of endothelial damage in patients with thermal burns.

**Keywords:** burns, endothelial dysfunction, hemostasis, hypocoagulation, systemic inflammatory response

**Author contribution:** Morrison VV — design of the experiment, data analysis, manuscript revision; Bozhedomov AYU — data collection and statistical analysis, manuscript draft.

**Compliance with ethical standards:** the study was approved by the Ethics Committee of Saratov State Medical University (Protocol № 5 dated May 27, 2010); the patients gave informed consent to participate in the study and to disclose information about their medical condition and treatment on the Internet for the sake of science.

✉ **Correspondence should be addressed:** Alexey Yu. Bozhedomov  
Ostrovityanova 1, Moscow, 117997; alecco\_84@mail.ru

**Received:** 28.12.2018 **Accepted:** 26.03.2019 **Published online:** 07.04.2019

**DOI:** 10.24075/brsmu.2019.021

Появляется все больше доказательств сопряжения системного воспаления, гемостаза и эндотелиальной дисфункции при развитии тяжелой патологии [1]. Не является исключением и ожоговая болезнь, возникающая при поражении ожогами более 10% поверхности тела. Главной причиной смерти пострадавших с ожогами является развитие синдрома полиорганной недостаточности (СПОН) вследствие срыва механизмов адаптации к травматическому повреждению, истощения энергетических и пластических резервов, а также токсического повреждения органов и тканей продуктами распада тканей из ожоговых ран [2, 3]. Несмотря на достаточную изученность патофизиологических изменений при термических поражениях, ожоги продолжают уносить жизни сотен тысяч людей трудоспособного возраста.

Движущей силой СПОН является феномен, известный под названием «цитокиновый шторм», возникающий вследствие гиперпродукции цитокинов, что ведет к системному повреждению эндотелия, расстройству микроциркуляции и трансапиллярного обмена [4, 5]. В связи с этим дисфункция эндотелия оказывается одним из важных проявлений и патогенетических звеньев СПОН [6].

Целью работы было определить динамику изменений показателей гемостаза, системной воспалительной реакции и эндотелиальной дисфункции у пострадавших с термической травмой.

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В проспективное исследование вошли пациенты (51 человек) в возрасте 16–80 лет, находившиеся на лечении в Саратовском центре термических поражений. Средний возраст пациентов составил  $40,5 \pm 36,2$  лет ( $M \pm \sigma$ ). Среди них было 37 мужчин и 14 женщин. Критерии включения в исследование: наличие термических ожогов (горячей жидкостью или племенем), оцененных по индексу Франка (площадь ожогов I–IIIa степени + утроенная площадь ожогов IIIb–IV степени) более чем 30 баллов; значение индекса Франка в среднем —  $80,1 \pm 63,2$  единиц ( $M \pm \sigma$ ). Критерии исключения: возраст пострадавших моложе 16 и старше 80 лет по причине существенного влияния возраста на реактивность организма; наличие электротермического поражения и ожога дыхательных путей, в связи с несоответствием между площадью ожога и общей тяжестью травмы; беременность; наличие декомпенсированных сопутствующих заболеваний на момент поступления. Летальность среди пациентов составила 37%.

Пациенты были доставлены в стационар в сроки от 1 ч до 3 суток с момента получения термической травмы. На анализаторе StatFax 2100 (Awareness Technology Inc.; США) с помощью количественных иммуноферментных тестов определяли содержание биомаркеров эндотелиальной

дисфункции в сыворотке крови, используя наборы реактивов: фактор роста эндотелия сосудов, или VEGF — реактивы фирмы Biosource, EuropeS.A (Biosource, EuropeS.A; Бельгия); моноклеточный хемотаттрактантный протеин-1, или MCP-1 — реактивы фирмы «Вектор Бест» («Вектор Бест»; Новосибирск); общий эндотелин — реактивы фирмы BiomedicaGruppe (BiomedicaGruppe; Австрия). Исследовали также уровни интерлейкинов IL6 и IL12, фактора некроза опухоли  $\alpha$ , или ФНО $\alpha$ , — реактивами фирмы Biosource, EuropeS.A (Biosource, EuropeS.A; Бельгия). Количество циркулирующих эндотелиальных клеток (ЦЭК) определяли по методике J. Hladovec в модификации Н. Н. Петрищева с применением фазово-контрастной микроскопии [7]. Выраженность воспалительной реакции выявляли по уровню С-реактивного белка (СРБ) методом количественного твердофазного иммуноферментного анализа с использованием тест-системы фирмы «Вектор-Бест» («Вектор-Бест»; Новосибирск). Показатели гемостаза оценивали по уровню фибриногена, протромбиновому времени (ПТВ) и индексу (ПТИ), активированному парциальному тромбластиновому времени (АПТВ), числу тромбоцитов. Характеристики исследованных факторов эндотелиальной дисфункции представлены в табл. 1.

Кровь отбирали из центральной или периферической вены в 8 ч утра натощак. Анализы проводили на 1-е, 3-и, 7-е, 15-е, 30-е и 45-е сутки с момента получения травмы. Изменение количества пациентов на различных этапах исследования обусловлено как поступлением новых больных в стационар позже чем в первые сутки, так и выбытием из стационара в связи с выпиской или наступлением летального исхода. Все больные получали лечение по стандартам, принятым в клинике.

Контролем служили образцы крови 20 добровольцев без термических повреждений. Из них было 12 мужчин и 8 женщин, средний возраст которых составил  $37,5 \pm 18,4$  лет. В группу контроля включали людей без сопутствующей патологии.

## Статистика

Статистическую обработку проводили на персональном компьютере с использованием пакета программ Statistica v10.0 (StatSoft; США). Данные представляли в виде среднего значения и стандартного отклонения ( $M \pm \sigma$ ). Сравнение между группами осуществляли при помощи критерия Стьюдента, который используют при анализе выборок с нормальным распределением. Достоверными считали различия при значениях  $p \leq 0,05$ , что является стандартом для медико-биологических исследований. Тип распределения определяли при помощи критерия Шапиро–Уилка. При значении  $p > 0,05$  считали, что выборка имеет нормальное распределение.

Таблица 1. Маркеры эндотелиальной дисфункции

Название	Характеристика
VEGF	Мощный ангиогенный, митогенный фактор; его уровень повышается в ответ на гипоксию различной этиологии, а также при злокачественных новообразованиях, при регенерации ран, гестозах. Секретируется эндотелиоцитами, макрофагами, фибробластами и другими клетками [8]
ЦЭК	Уровень повышается при повреждении эндотелия сосудов, при усилении некротических процессов в эндотелии, гипоксии, сепсисе, тяжелых интоксикациях, атеросклерозе и других сердечно-сосудистых заболеваниях, гестозе [9]
ЭТ	Местный регулятор сосудистого тонуса. Антагонист эндотелиального релаксирующего фактора (NO), косвенный показатель его активности. Фактор прогрессирования сердечно-сосудистой патологии. Один из факторов патогенеза централизации кровообращения при дефиците ОЦК. Секретируется эндотелиоцитами [10, 11]

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Показатели коагуляционного гемостаза были достаточно устойчивыми на протяжении всего посттравматического периода. Однако с увеличением времени, прошедшего с момента травмы, было отмечено постепенное снижение ПТИ, удлинение ПТВ и АПТВ, что, вероятнее всего, связано с истощением белковых резервов у данной категории пациентов, а также с проведением активной инфузионной и антитромботической терапии.

Наибольшее повышение уровня фибриногена, являющегося одним из острофазовых белков, наблюдали на 7-е сутки ( $5,6 \pm 2,2$  г/л) в период острой ожоговой токсемии.

Динамика изменения содержания тромбоцитов была несколько иной. Их количество наиболее значительно повышалось на 15–30-е сутки ( $555,3 \pm 344,9 \cdot 10^9$ /л). При этом отмечено значительное их возрастание у выживших пациентов и отсутствие увеличения у больных с неблагоприятным исходом.

Таким образом, наиболее выраженные изменения гемостаза наблюдали в период острой ожоговой токсемии и септикотоксемии (7–15-е сутки). При этом была отмечена склонность к гиперкоагуляции с повышением вероятности развития тромбоэмболических осложнений (табл. 2).

Анализ динамики изменения уровня провоспалительных цитокинов и медиаторов ответа острой фазы (ФНО $\alpha$ , СРБ, IL6) показал, что их максимальная концентрация наблюдалась на 3–7-е сутки, что соответствовало периоду острой ожоговой токсемии (табл. 3).

В отличие от них уровень IL12, основной точкой приложения которого является стимуляция пролиферации и дифференцировки лимфоцитов, достигал наибольших

значений в период реконвалесценции ( $131,3 \pm 70,7$  пг/мл), а в период острой ожоговой токсемии и септикотоксемии имел минимальные значения ( $35,7 \pm 22,9$  пг/мл).

Уровень моноцитарного хемоаттрактантного протеина-1, хемокина, который выделяется различными клетками, в первую очередь фибробластами, эндотелиальными клетками и макрофагами, и привлекает в очаг воспаления моноциты, имел два пика повышения: первый — в период острой ожоговой токсемии ( $381,7 \pm 560,49$  пг/мл), второй — более выраженный — в период реконвалесценции ( $514,7 \pm 740,9$  пг/мл).

При изучении динамики уровня маркеров дисфункции эндотелия было отмечено, что наибольшей концентрации он достигает на 3–7-е сутки. Так на 7-е сутки уровень VEGF возрос почти в 30 раз по сравнению с контролем ( $828,9 \pm 993,2$  пг/мл). В эти сроки установлено статистически значимое повышение количества десквамированных эндотелиоцитов в плазме крови до  $5,9 \pm 6,0 \cdot 10^9$ /л (табл. 4). Это свидетельствует об остром гипоксическом поражении эндотелия, его усиленном слущивании, усилении процессов апоптоза и некроза.

Для выявления факторов, наиболее значимо отличающихся при нарушениях в системе гемостаза, было проведено сравнение концентрации цитокинов и маркеров эндотелиальной дисфункции при гипо- и нормокоагуляционных состояниях у пострадавших с ожогами. Наличие гипокоагуляции диагностировали при удлинении АПТВ более 35 с, снижении ПТИ менее 85% (табл. 5, 6). Установлено, что гипокоагуляции сопутствовали значительно повышенные уровни острофазовых показателей (СРБ, IL6, ФНО $\alpha$ ), VEGF, ЦЭК и сниженные по сравнению с группой нормокоагуляции значения IL12, MCP-1, эндотелина.

Таблица 2. Динамика показателей гемостаза у пострадавших с ожогами,  $M \pm \sigma$

Показатель	1-е сутки n = 50	3-и сутки n = 51	7-е сутки n = 49	15-е сутки n = 40	30-е сутки n = 36	45-е сутки n = 19	Контроль n = 20
АЧТВ, с	$39,6 \pm 25,4$ ( $p_x = 0,02$ )*	$41,4 \pm 17,7$ ( $p = 0,5, p_x = 0,05$ )	$41,9 \pm 25,3$ ( $p = 0,88, p_x = 0,03$ )*	$40,2 \pm 27,0$ ( $p = 0,48, p_x = 0,27$ )	$50,4 \pm 31,4$ ( $p = 0,001, p_x = 0,03$ )*	$51,8 \pm 34,1$ ( $p = 0,80, p_x = 0,04$ )*	$26,2 \pm 2,8$
ПТИ, %	$90,9 \pm 14,1$ ( $p_x = 0,25$ )	$86,5 \pm 13,3$ ( $p = 0,03, p_x = 0,02$ )*	$83,6 \pm 15,4$ ( $p = 0,09, p_x = 0,01$ )*	$83,1 \pm 16,5$ ( $p = 0,86, p_x = 0,01$ )*	$82,3 \pm 17,5$ ( $p = 0,07, p_x = 0,01$ )*	$82,9 \pm 19,4$ ( $p = 0,82, p_x = 0,03$ )*	$101,1 \pm 6,3$
ПТВ, с	$19,5 \pm 6,3$ ( $p_x = 0,04$ )*	$22,2 \pm 17,6$ ( $p = 0,22, p_x = 0,04$ )*	$22,3 \pm 10,0$ ( $p = 0,82, p_x = 0,03$ )	$21,8 \pm 8,0$ ( $p = 0,96, p_x = 0,01$ )*	$24,9 \pm 21,4$ ( $p = 0,11, p_x = 0,04$ )*	$22,9 \pm 13,5$ ( $p = 0,52, p_x = 0,04$ )*	$12,6 \pm 0,9$
Фибриноген, г/л	$3,4 \pm 1,4$ ( $p_x = 0,11$ )	$5,2 \pm 2,0$ ( $p = 0,001, p_x = 0,04$ )*	$5,6 \pm 2,2$ ( $p = 0,43, p_x = 0,001$ )*	$5,0 \pm 2,1$ ( $p = 0,06, p_x = 0,001$ )*	$4,7 \pm 1,8$ ( $p = 0,22, p_x = 0,001$ )*	$4,2 \pm 1,7$ ( $p = 0,03, p_x = 0,05$ )	$3,3 \pm 0,69$
Тромбоциты, $\cdot 10^9$ /л	$319,6 \pm 197,0$ ( $p_x = 0,27$ )	$209 \pm 122,9$ ( $p = 0,001, p_x = 0,47$ )*	$316,0 \pm 214,6$ ( $p = 0,001, p_x = 0,09$ )*	$555,3 \pm 344,9$ ( $p = 0,001, p_x = 0,04$ )*	$467,8 \pm 237,9$ ( $p = 0,04, p_x = 0,03$ )*	$454,3 \pm 294,4$ ( $p = 0,03, p_x = 0,03$ )*	$230,4 \pm 224,9$

Примечание:  $p$  — при сравнении данного и предыдущего этапов исследования; \* — разница достоверна по сравнению с предыдущим этапом исследования ( $p < 0,05$ );  $p_x$  — при сравнении результатов на данном этапе с контрольной группой; \* — разница достоверна по сравнению с контрольной группой ( $p < 0,05$ ).

Таблица 3. Динамика уровней цитокинов у пострадавших с ожогами,  $M \pm \sigma$

Показатель	1-е сутки n = 50	3-и сутки n = 51	7-е сутки n = 49	15-е сутки n = 40	30-е сутки n = 36	45-е сутки n = 19	Контроль n = 20
ФНО $\alpha$ , пг/мл	$42,3 \pm 46,6$ ( $p_x = 0,04$ )*	$32,2 \pm 99,3$ ( $p = 0,79, p_x = 0,03$ )*	$41,4 \pm 111,9$ ( $p = 0,85, p_x = 0,02$ )*	$17,8 \pm 47,9$ ( $p = 0,45, p_x = 0,03$ )*	$3,9 \pm 9,6$ ( $p = 0,26, p_x = 0,003$ )*	$8,2 \pm 12,1$ ( $p = 0,30, p_x = 0,01$ )*	$0,2 \pm 0,3$
IL6, пг/мл	$114,1 \pm 172,8$ ( $p_x = 0,008$ )*	$264,4 \pm 131,2$ ( $p = 0,05, p_x = 0,001$ )*	$203,8 \pm 180,9$ ( $p = 0,39, p_x = 0,001$ )*	$67,8 \pm 63,4$ ( $p = 0,07, p_x = 0,001$ )*	$49,0 \pm 35,9$ ( $p = 0,51, p_x = 0,001$ )*	$68,9 \pm 66,3$ ( $p = 0,51, p_x = 0,001$ )*	$4,2 \pm 3,1$
IL12, пг/мл	$46,9 \pm 53,8$ ( $p_x = 0,001$ )*	$39,4 \pm 32,9$ ( $p = 0,63, p_x = 0,001$ )*	$35,7 \pm 22,9$ ( $p = 0,45, p_x = 0,001$ )*	$54,9 \pm 41,0$ ( $p = 0,03, p_x = 0,001$ )*	$81,3 \pm 50,0$ ( $p = 0,06, p_x = 0,001$ )*	$131,3 \pm 70,7$ ( $p = 0,02, p_x = 0,001$ )*	$3,1 \pm 3,2$
С-реактивный белок, нмоль/мл	$43,2 \pm 46,6$ ( $p_x = 0,001$ )*	$128,1 \pm 49,6$ ( $p = 0,001, p_x = 0,001$ )*	$128,3 \pm 52,4$ ( $p = 0,93, p_x = 0,001$ )*	$85,1 \pm 41,7$ ( $p = 0,001, p_x = 0,001$ )*	$81,9 \pm 34,1$ ( $p = 0,79, p_x = 0,001$ )*	$110,3 \pm 57,7$ ( $p = 0,08, p_x = 0,001$ )*	$1,2 \pm 1,1$
MCP-1, пг/мл	$198,9 \pm 191,7$ ( $p_x = 0,001$ )*	$319,1 \pm 238,3$ ( $p = 0,04, p_x = 0,001$ )*	$381,7 \pm 560,49$ ( $p = 0,5, p_x = 0,009$ )*	$229,9 \pm 210,3$ ( $p = 0,11, p_x = 0,001$ )*	$287,1 \pm 231,9$ ( $p = 0,29, p_x = 0,001$ )*	$514,7 \pm 740,9$ ( $p = 0,11, p_x = 0,009$ )*	$44,1 \pm 36,5$

Примечание:  $p$  — при сравнении данного и предыдущего этапов исследования; \* — разница достоверна ( $p < 0,05$ ) по сравнению с предыдущим этапом исследования;  $p_x$  — при сравнении результатов на данном этапе с контрольной группой; \* — разница достоверна ( $p < 0,05$ ) при сравнении с контрольной группой.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

При анализе полученных данных видно, что высокий уровень провоспалительных цитокинов сочетается с нарушением коагуляционного потенциала, повышением содержания маркеров дисфункции эндотелия. Проведенные нами ранее исследования уровня цитокинов при разной степени тяжести термических ожогов свидетельствуют о том, что при ожогах имеют место фазовые изменения уровня маркеров эндотелиальной дисфункции. Так, при легких и умеренных ожогах имеет место значительный рост показателей, при тяжелых, но не фатальных поражениях, они достигают максимальных цифр, однако при фатальных поражениях и терминальной стадии СПОН наблюдается их снижение [12]. Известно, что эндотелиальная дисфункция служит пусковым механизмом для активации как тромбоцитарного, так и коагуляционного механизмов свертывания крови и развития ДВС-синдрома. Нарушение целостности сосудистой стенки приводит к гиперпродукции эндотелина, являющегося стимулятором активации всех фаз системы гемостаза, его уровень повышается при тяжелых травматических повреждениях [13, 14].

На основании этих данных можно сделать вывод, что уровни провоспалительных цитокинов и факторов эндотелиальной дисфункции при тяжелых ожогах находятся в обратно пропорциональной зависимости.

Цитокины усиливают продукцию фагоцитами, цитотоксическими лимфоцитами факторов, повреждающих эндотелий, таких как свободные радикалы, лизосомные ферменты, катионные белки, активируют гуморальные факторы (комплемент, пропердин, кинины), и тем самым вызывают развитие дисфункции эндотелия. Эндотелиоциты в ответ на это активируют продукцию регуляторных факторов, действующих ауто- и паракринно, например VEGF и эндотелина. При активации провоспалительными

цитокинами эндотелиоциты увеличивают экспрессию молекул адгезии, вызывают дегрануляцию телец Вайбеля–Паладе (везикулы в клетках сосудистого эндотелия), что приводит к дестабилизации эндотелиальной выстилки, снижению тромборезистентности и повышению сосудистой проницаемости [15]. Увеличение количества десквамированных эндотелиоцитов является результатом повреждения эндотелия сосудов. Повышение концентрации VEGF направлено на регулирование процессов неангиогенеза в ответ на гипоксическое повреждение эндотелия в период ожоговой токсемии, и на активацию регенерации тканей в период реконвалесценции (на 30–45-е сутки) [13]. Наиболее вероятно, что значительно изменяется функция индуцибельной NO-синтазы, так как имеются данные о снижении при термической травме в крови уровней метаболитов NO [16]. В связи с этим нарастание в крови уровня эндотелина может быть компенсаторным. Есть данные об участии данного фактора в патогенезе централизации кровообращения при других критических состояниях [10].

При увеличении концентраций повреждающих факторов отмечаются нарушение функции эндотелия, развитие энергодефицита, нарушение синтеза белка и как результат — угнетение его прокоагулянтных свойств и развитие гипокоагуляции. Отмечается снижение уровня плазменных факторов свертывания крови вследствие развития ДВС-синдрома, развивающегося у большинства пациентов с тяжелыми ожогами. Кроме этого, часто возникает дефицит пластического материала, в первую очередь аминокислот, большая часть которых расходуется на регенераторные процессы в ожоговых ранах.

## ВЫВОДЫ

Полученные данные свидетельствуют, что при термической травме происходит повреждение структурно-функциональной

Таблица 4. Динамика маркеров эндотелиальной дисфункции у пострадавших с ожогами,  $M \pm \sigma$

Показатель	1-е сутки $n = 50$	3-и сутки $n = 51$	7-е сутки $n = 49$	15-е сутки $n = 40$	30-е сутки $n = 36$	45-е сутки $n = 19$	Контроль $n = 20$
VEGF, пг/мл	546,4 ± 692,8 ( $p_k = 0,02$ )*	476,4 ± 626,9 ( $p = 0,68, p_k = 0,003$ )*	828,9 ± 993,2 ( $p = 0,06, p_k = 0,001$ )*	544,4 ± 570,9 ( $p = 0,11, p_k = 0,001$ )*	505,6 ± 551,1 ( $p = 0,77, p_k = 0,001$ )*	958,1 ± 1025,6 ( $p = 0,04, p_k = 0,001$ )*	28,7 ± 15,7
Эндотелин, фмоль/мл	3,2 ± 3,2 ( $p_k = 0,001$ )*	3,0 ± 1,7 ( $p = 0,88, p_k = 0,001$ )*	2,97 ± 1,32 ( $p = 0,76, p_k = 0,001$ )*	2,4 ± 1,2 ( $p = 0,11, p_k = 0,001$ )*	2,3 ± 1,1 ( $p = 0,71, p_k = 0,001$ )*	2,4 ± 1,3 ( $p = 0,93, p_k = 0,001$ )*	0,42 ± 0,4
ЦЭК, 10 <sup>4</sup> /л	3,3 ± 2,5 ( $p_k = 0,48$ )	4,7 ± 3,3 ( $p = 0,09, p_k = 0,05$ )	5,9 ± 4,9 ( $p = 0,28, p_k = 0,03$ )*	6,4 ± 6,0 ( $p = 0,62, p_k = 0,04$ )*	3,7 ± 3,1 ( $p = 0,02, p_k = 0,29$ )*	2,9 ± 1,6 ( $p = 0,33, p_k = 0,78$ )	2,8 ± 1,9

Примечание:  $p$  — при сравнении между данным и предыдущим этапом исследования; \* — разница достоверна ( $p < 0,05$ ) по сравнению с предыдущим этапом исследования;  $p_k$  — при сравнении результатов на данном этапе с контрольной группой; \* — разница достоверна ( $p < 0,05$ ) при сравнении с контрольной группой.

Таблица 5. Различия показателей свертывающей системы крови при нормо- и гипокоагуляции у пострадавших с ожогами,  $M \pm \sigma$

Группа	АЧТВ, с	ПТВ, с	ПТИ, %	Фибриноген, г/л	Тромбоциты, • 10 <sup>9</sup> /л
Нормокоагуляция	31,3 ± 2,9	19,0 ± 3,6	89,1 ± 13,4	4,2 ± 1,2	391,5 ± 215,4
Гипокоагуляция	54,5 ± 27,9 ( $p = 0,001$ )*	20,9 ± 5,0 ( $p = 0,01$ )*	81,8 ± 12,8 ( $p = 0,001$ )*	4,9 ± 1,4 ( $p = 0,001$ )*	391,2 ± 216,9 ( $p = 0,99$ )

Примечание: \* — разница достоверна по сравнению с соответствующим показателем группы нормокоагуляции ( $p < 0,05$ ).

Таблица 6. Различия показателей цитокинов и маркеров эндотелиальной дисфункции при нормо- и гипокоагуляции у больных с ожогами,  $M \pm \sigma$

Группа	СРБ, нмоль/мл	IL6, пг/мл	ФНО, пг/мл	IL12, пг/мл	MCP-1, пг/мл	VEGF, пг/мл	ЕТ, фмоль/мл	ЦЭК, • 10 <sup>4</sup> /л
Нормо-коагуляция	75,0 ± 49,1	50,3 ± 63,9	9,1 ± 28,5	68,6 ± 55,6	308,2 ± 231,6	578,5 ± 523,9	2,96 ± 2,7	4,4 ± 3,6
Гипо-коагуляция	97,4 ± 47,7 ( $p = 0,04$ )*	145,2 ± 138,3 ( $p = 0,35$ )	45,5 ± 114,3 ( $p = 0,10$ )	48,3 ± 46,4 ( $p = 0,08$ )	252,8 ± 238,2 ( $p = 0,26$ )	712,3 ± 745,0 ( $p = 0,35$ )	2,41 ± 1,3 ( $p = 0,21$ )	5,0 ± 4,9 ( $p = 0,37$ )

Примечание: \* — разница достоверна по сравнению с соответствующим показателем группы нормокоагуляции ( $p < 0,05$ ).

организации эндотелия сосудов, являющееся отражением системной воспалительной реакции с появлением в крови высокоспецифичных маркеров эндотелиальной дисфункции. При тяжелых ожогах отмечается обратная пропорциональная связь между уровнем провоспалительных цитокинов и функциональными

показателями системы гемостаза, что следует учитывать при лечении данной патологии. Необходимы дальнейшие, более глубокие исследования зависимости между эндотелиальной дисфункцией и нарушениями гемостаза при критических состояниях в целом и при тяжелых ожогах в частности.

## Литература

- Dumnicka P, Maduzia D, Ceranowicz P, et al. The Interplay between Inflammation, Coagulation and Endothelial Injury in the Early Phase of Acute Pancreatitis: Clinical Implications. *Int J Mol Sci.* 2017; 18 (2): E354. DOI: 10.3390/ijms18020354. PubMed PMID: 28208708.
- Алексеев А. А., Ушакова Т. А., Крутиков М. Г., Бобровников А. Э. Маркеры сепсиса в диагностике адаптивного воспаления при ожоговой травме. Лечение и профилактика. 2015; 2 (14): 84–91.
- Ушакова Т. А. Адаптация к ожоговой травме: проблемы и перспективы. *Комбустология.* 2009; 39. Доступно по ссылке: [www.combustiolog.ru](http://www.combustiolog.ru) (дата обращения 23.06.2018).
- Chousterman BG, Swirski FK, Weber GF. Cytokine storm and sepsis disease pathogenesis. *Semin Immunopathol.* 2017; 39 (5): 517–28.
- Ince C, Mayeux PR, Nguyen T, et al. The endothelium in sepsis. *Shock.* 2016; 45 (3): 259–70.
- Abdel-Hafez NM, Saleh Hassan Y, El-Metwally TH. A study on biomarkers, cytokines, and growth factors in children with burn injuries. *Ann Burns Fire Disasters.* 2007; 20 (2): 89–100.
- Петрищев Н. Н., Беркович О. А., Власов Т. Д. и др. Диагностическая ценность определения десквамированных эндотелиальных клеток в крови. *Клиническая лабораторная диагностика.* 2001; (1): 50–2.
- Гавриленко Т. И., Рыжкова Н. А., Пархоменко А. Н. Сосудистый эндотелиальный фактор роста в клинике внутренних заболеваний и его патогенетическое значение. *Український кардіологічний журнал.* 2011; (4): 87–95.
- Erdbruegger U, Haubitz M, Woywodt A. Circulating endothelial cells: a novel marker of endothelial damage. *Clinica Chimica Acta.* 2006; (373): 17–26.
- Дремина Н. Н., Шурыгин М. Г., Шурыгина И. А. Эндотелины в норме и патологии. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований.* 2016; (10): 210–14.
- Yanagisawa M, Masaki T. Molecular biology and biochemistry of the endothelins. *Trends Pharmacol Sci.* 1989; 10 (9): 374–8.
- Моррисон В. В., Божедомов А. Ю. Дисфункция эндотелия при синдроме полиорганной недостаточности у больных с термической травмой. *Регионарное кровообращение и микроциркуляция.* 2013; 2 (46): 43–8.
- Iba T, Kidokoro A, Fukunaga M, et al. Association between the severity of sepsis and the changes in hemostatic molecular markers and vascular endothelial damage markers. *Shock.* 2005; 23 (1): 25–9.
- Фирсов С. А., Матвеев Р. П. Эндотелиальная дисфункция и ее прогностическое значение при критических состояниях в результате дорожно-транспортного травматизма. *Современные проблемы науки и образования.* 2014; 6. Доступно по ссылке: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=16629> (дата обращения: 24.03.2019).
- Scharpfenecker M, Fiedler U, Reiss Y, Augustin HG. The Tie-2 ligandangiopoietin-2 destabilizes quiescent endothelium through an internal autocrine loop mechanism. *J Cell Sci.* 2005; 118 (4): 771–80.
- Abo El-Noor MM, Elgazzar FM, Alshenawy HA. Role of inducible nitric oxide synthase and interleukin-6 expression in estimation of skin burn age and vitality. *J Forensic Leg Med.* 2017; (52): 148–53.

## References

- Dumnicka P, Maduzia D, Ceranowicz P, et al. The Interplay between Inflammation, Coagulation and Endothelial Injury in the Early Phase of Acute Pancreatitis: Clinical Implications. *Int J Mol Sci.* 2017; 18 (2): E354. DOI: 10.3390/ijms18020354. PubMed PMID: 28208708.
- Alekseev AA, Ushakova TA, Krutikov MG, Bobrovnikov AY. Markery sepsisa v diagnostike adaptivnogo vospaleniya pri ozhogovoy travme. *Lechenie i profilaktika.* 2015; 2 (14): 84–91. Russian.
- Ushakova TA. Adaptacija k ozhogovoj travme: problemy i perspektivy. *Kombustiologija.* 2009; 39. Dostupno po ssylke: [www.combustiolog.ru](http://www.combustiolog.ru) (data obrashhenija 23.06.2018). Russian.
- Chousterman BG, Swirski FK, Weber GF. Cytokine storm and sepsis disease pathogenesis. *Semin Immunopathol.* 2017; 39 (5): 517–28.
- Ince C, Mayeux PR, Nguyen T, et al. The endothelium in sepsis. *Shock.* 2016; 45 (3): 259–70.
- Abdel-Hafez NM, Saleh Hassan Y, El-Metwally TH. A study on biomarkers, cytokines, and growth factors in children with burn injuries. *Ann Burns Fire Disasters.* 2007; 20 (2): 89–100.
- Petrishhev NN, Berkovich OA, Vlasov TD i dr. Diagnosticheskaja cennost' opredelenija deskvamirovannyh jendotelial'nyh kletok v krvi. *Klinicheskaja laboratornaja diagnostika.* 2001; (1): 50–2. Russian.
- Gavrilenko TI, Ryzhkova NA, Parhomenko AN. Sosudistyj jendotelial'nyj faktor rosta v klinike vnutrennih zabojevanij i ego patogeneticheskoe znachenie. *Ukrains'kij kardiologichnij zhurnal.* 2011; (4): 87–95. Russian.
- Erdbruegger U, Haubitz M, Woywodt A. Circulating endothelial cells: a novel marker of endothelial damage. *Clinica Chimica Acta.* 2006; (373): 17–26.
- Dremina NN, Shurygin MG, Shurygina IA. Jendoteliny v norme i patologii. *Mezhdunarodnyj zhurnal prikladnyh i fundamental'nyh issledovanij.* 2016; (10): 210–14. Russian.
- Yanagisawa M, Masaki T. Molecular biology and biochemistry of the endothelins. *Trends Pharmacol Sci.* 1989; 10 (9): 374–8.
- Morrison VV, Bozhedomov AY. Disfunkcija jendotelija pri sindrome poliorgannojo nedostatochnosti u bol'nyh s termicheskoj travmoj. *Regionarnoe krovoobrashhenie i mikrocirkuljacija.* 2013; 2 (46): 43–8. Russian.
- Iba T, Kidokoro A, Fukunaga M, et al. Association between the severity of sepsis and the changes in hemostatic molecular markers and vascular endothelial damage markers. *Shock.* 2005; 23 (1): 25–9.
- Firsov SA, Matveev RP. Jendotelial'naja disfunkcija i ee prognosticheskoe znachenie pri kriticheskijh sostojanijah v rezul'tate dorozhno-transportnogo travmatizma. *Sovremennye problemy nauki i obrazovanija.* 2014; 6. Dostupno po ssylke: <http://science-education.ru/ru/article/view?id=16629> (data obrashhenija: 24.03.2019). Russian.
- Scharpfenecker M, Fiedler U, Reiss Y, Augustin HG. The Tie-2 ligandangiopoietin-2 destabilizes quiescent endothelium through an internal autocrine loop mechanism. *J Cell Sci.* 2005; 118 (4): 771–80.
- Abo El-Noor MM, Elgazzar FM, Alshenawy HA. Role of inducible nitric oxide synthase and interleukin-6 expression in estimation of skin burn age and vitality. *J Forensic Leg Med.* 2017; (52): 148–53.

## ОСТЕОАРТРОЗ КОЛЕННОГО СУСТАВА У ПОЖИЛЫХ — ВСЕГДА ЛИ ОПРАВДАНО ЭНДОПРОТЕЗИРОВАНИЕ?

А. В. Лычагин, А. В. Гаркави <sup>✉</sup>, В. А. Мещеряков, В. С. Кайков

Лечебный факультет, Первый московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия

Остеоартроз — заболевание преимущественно пожилых людей, и по локализации первое место уверенно удерживает коленный сустав. Именно в пожилом и старческом возрасте возможность активного лечения пациентов с гонартрозом ограничена их полиморбидностью, а также повышенным операционным риском. Поэтому весьма актуален поиск методик лечения, способных хотя бы на время стать альтернативой эндопротезированию коленного сустава. Целью исследования было проанализировать оправданность операции эндопротезирования коленного сустава у пациентов пожилого и старческого возраста с гонартрозом и разработать комплексную систему лечения, сохраняющую сустав. В исследовании участвовали 178 пациентов старше 60 лет, которым ранее было предложено, но не выполнено эндопротезирование коленного сустава по поводу верифицированного гонартроза. Для определения лечебной тактики использовали оригинальную балльную систему оценки дислокационного синдрома коленного сустава. Применяли сочетание санационной артроскопии с внутрисуставным введением гиалуроновой кислоты и обогащенной тромбоцитами аутоплазмы (PRP). Для анализа результатов определяли статистическую значимость отмеченных отличий по стандартному пакету программ «Statistica 12.0». Показано, что 39,3% пациентов эндопротезирование было предложено без достаточных объективных оснований. Проведение комплексного лечения, сочетающего внутрисуставную PRP-терапию с предварительно проведенной санационной артроскопией, стало альтернативой эндопротезированию для всех пациентов как минимум на год, а внутрисуставная терапия без артроскопии — только для 40%.

**Ключевые слова:** эндопротезирование коленного сустава, артроскопия, внутрисуставная инъекционная терапия

**Информация о вкладе авторов:** А. В. Лычагин — создание шкалы оценки степени ДСКС, планирование исследования, выполнение операций артроскопии, послеоперационное наблюдение, систематизация и анализ результатов; А. В. Гаркави — планирование и создание дизайна исследования, операции артроскопии, внутрисуставные инъекции, наблюдение пациентов в динамике, систематизация и анализ результатов, оформление статьи; В. А. Мещеряков — артроскопия, внутрисуставные инъекции, наблюдение и анкетирование пациентов; В. С. Кайков — артроскопия, внутрисуставные инъекции, наблюдение и анкетирование пациентов.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено этическим комитетом ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова (протокол № 17–18, 2018 г.); все пациенты подписали добровольное информированное согласие на участие в проводимом исследовании.

✉ **Для корреспонденции:** Андрей Владимирович Гаркави  
ул. Трубевская, д. 8, стр. 2, г. Москва, 119991; Avgar22@yandex.ru

**Статья получена:** 13.09.2018 **Статья принята к печати:** 25.03.2019 **Опубликована онлайн:** 06.04.2019

**DOI:** 10.24075/vrgmu.2019.020

## OSTEOARTHRITIS OF THE KNEE IN THE ELDERLY: IS KNEE REPLACEMENT ALWAYS JUSTIFIED?

Lychagin AV, Garkavi AV <sup>✉</sup>, Meshcheryakov VA, Kaykov VS

Faculty of General Medicine, I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia

Osteoarthritis is a condition that mostly affects the elderly population and tends to be localized to the knee joint. At old age, active treatment options are limited by co-morbidities and a higher risk for surgical complications. Therefore, the search for strategies that could become a temporary alternative to knee replacement is a pressing concern. The aim of this study was to analyze how justifiable is total knee replacement in elderly patients with knee osteoarthritis and to propose a less aggressive therapeutic alternative to this surgery. The study included 178 patients over 60 years of age with clinically established knee osteoarthritis who had been previously recommended knee replacement but chosen not to undergo it. The choice of a treatment strategy tested in the study was based on the original grading scale for the evaluation of the knee joint dislocation syndrome. The treatment consisted of therapeutic arthroscopy and intraarticular injections of hyaluronic acid and platelet-rich plasma (PRP). The data were processed in Statistica 12. Data analysis revealed that 39.3% of the participants did not have compelling indications for knee replacement. The proposed combination therapy with intraarticular PRP injections and arthroscopy allowed all the patients to delay knee replacement for at least a year; unaided by arthroscopy, intraarticular injections worked well for only 40%.

**Keywords:** knee arthroplasty, total knee replacement, arthroscopy of the knee, intraarticular injection

**Author contribution:** Lychagin AV devised a KJDS scale, planned the study, performed arthroscopy and follow-up observation, processed and analyzed the data. Garkavi AV planned the study and proposed its design, performed arthroscopy, intraarticular injections and follow-up observation, processed and analyzed the data, and wrote the manuscript. Meshcheryakov VA performed arthroscopy, intraarticular injections and follow-up observation, surveyed the patients. Kaykov VS performed arthroscopy, intraarticular injections, and follow-up observation, surveyed the patients.

**Compliance with ethical standards:** this study was approved by the Ethics Committee of I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (Protocol No. 17–18 dated 2018); the patients gave informed consent to participate.

✉ **Correspondence should be addressed:** Andrey V. Garkavi  
Trubetskaya 8, bld. 2, Moscow, 119991; Avgar22@yandex.ru

**Received:** 13.09.2018 **Accepted:** 25.03.2019 **Published online:** 06.04.2019

**DOI:** 10.24075/brsmu.2019.020

Остеоартроз коленного сустава, являясь одним из наиболее распространенных ортопедических заболеваний, практически всегда сопровождается болевым синдромом и дисфункцией, что снижает качество жизни, поскольку может привести к значительному уменьшению физической активности и инвалидности. Наиболее характерен остеоартроз для

лиц пожилого возраста. У таких пациентов он особенно часто служит причиной ограничений возможности самообслуживания, социальной дезадаптации, депрессии [1–5].

С одной стороны, на фоне выраженных инволютивных изменений консервативное лечение пациентов пожилого и старческого возраста с гонартрозом преследует

достижение только относительно непродолжительного паллиативного эффекта. С другой стороны, постоянно совершенствуются возможности артропластики, благодаря чему эндопротезирование становится все менее травматичным, более доступным и безопасным [6–12].

В связи с этим в последние годы наметилась тенденция к росту количества эндопротезирований коленного сустава у пожилых, так как показания к таким операциям стали существенно шире [13–15]. Однако в ряде случаев самого диагноза гонартроза в сочетании с преклонным возрастом достаточно, чтобы, не предпринимая попыток лечения менее агрессивными способами (артроскопия, внутрисуставная и системная фармакотерапия, реабилитационное лечение), рассматривать эндопротезирование как единственную возможность получения положительного результата. Но не лишаем ли мы пациентов шансов избежать операции, все же связанной, несмотря на прогресс медицины, с определенным операционным риском и возможными осложнениями [16, 17]?

К сожалению, отсутствие на данный момент единого универсального подхода к определению показаний к эндопротезированию коленного сустава не позволяет считать все полученные нашими пациентами в других лечебных учреждениях рекомендации по замене пораженного коленного сустава в достаточной степени объективными и обоснованными.

Целью исследования было проанализировать оправданность операции тотального эндопротезирования коленного сустава (ТЭКС) и разработать методику альтернативного лечения.

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Под нашим наблюдением находилось 178 пациентов нетрудоспособного возраста в возрасте 60–82 лет, которым ранее была предложена операция ТЭКС, однако по различным причинам (от отказа пациента из-за страха перед предложенной операцией до необходимости ожидания очереди на госпитализацию) эндопротезирование им выполнено не было. Эти пациенты согласились пройти курс предложенного лечения и затем вернуться к обсуждению вопроса о необходимости выполнения ТЭКС. Критерии включения в исследование: возраст пациентов 60 лет и старше; наличие установленного ранее диагноза «гонартроз» с рекомендацией эндопротезирования коленного сустава; наличие подписанного информированного согласия пациентов пройти курс комплексного лечения по разработанной нами схеме с последующим наблюдением в течение года. Критерии исключения: наличие тяжелых сопутствующих соматических заболеваний, существенно ограничивающих возможность самостоятельной ходьбы и являющихся противопоказанием к используемым методам лечения; наличие последствий внутрисуставного перелома области коленного сустава с сохраняющейся дисконгруентностью суставных поверхностей; неспособность к осознанному конструктивному сотрудничеству.

В ходе обследования устанавливали степень дислокационного синдрома коленного сустава (ДСКС) по методике А. В. Лычагина [18], согласно которой оценивали пять параметров: состояние суставного хряща, состояние

**Таблица 1.** Оценка степени дислокационного синдрома коленного сустава (в баллах)

Анатомо-функциональные нарушения	Характер патологии	Оценка (баллы)
Состояние суставного хряща (по классификации ICRS) по данным магнитно-резонансной томографии или артроскопии	норма	0
	1–2-я степень	1
	3-я степень	2
	4-я степень с небольшим дефектом (до 2,5 см <sup>2</sup> )	3
	4-я степень со значительным дефектом (> 2,5 см <sup>2</sup> )	4
Состояние кости в параартикулярной зоне	– норма	0
	– остеопороз	1
	– кисты	2
	– импрессия незначительная	3
	– импрессия выраженная	4
Нестабильность	Нет	0
	Компенсированная (1 степень)	1
	Субкомпенсированная (2 степень)	2
	Декомпенсированная (3 степень)	3
	Артрогенные контрактуры	4
Сужение суставной щели (%)	0–5	0
	6–30	1
	31–50	2
	51–75	3
	76–100	4
Шкала оценки WOMAC (баллы)	Ниже 30	0
	31–50	1
	51–70	2
	71–90	3
	Выше 90	4

кости в параартикулярной зоне, степень нестабильности, сужение суставной щели и сумму баллов по WOMAC. Каждому параметру присваивали от 0 до 4 баллов, таким образом максимально возможная сумма баллов (абсолютно неблагоприятный прогноз) составляла 20.

Сумма баллов по этой шкале, равная 0–5, означает возможность проведения эффективной консервативной фармакотерапии, 6–12 баллов — возможность успешного комплексного лечения с применением артроскопии и внутрисуставной инъекционной терапии, и только ДСКС в диапазоне 13–20 баллов считается показанием к выполнению ТЭКС.

Из 178 пациентов с гонартрозом II–III степени (по классификации Kellgren–Lawrence), которым ранее было предложено ТЭКС, имели подтвержденные по данной методике оценки показания к этой операции (от 13 баллов и выше) только 108 (60,7%) (рис. 1).

Пациенты были разделены на три группы. В 1-й группе (54 человека) в ходе лечения проводили внутрисуставные инъекции обогащенной тромбоцитами аутоплазмы (PRP-терапия), во 2-й группе (64 человека) — внутрисуставные инъекции гиалуроновой кислоты. Пациенты 3-й группы получили системную фармакотерапию (хондропротекторы и НПВС).

У 118 пациентов, у которых в качестве первого этапа комплексного лечения была включена санационная

артроскопия, ДСКС был оценен в 6 и более баллов: в 1-й группе — у 32 (59,3%) пациентов, во 2-й — у 44 (68,8%) и в 3-й — у 42 (70,0%) (рис. 2).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

При оценке результатов проведенного лечения пациентов следует разделить по степени тяжести остеоартроза. В качестве такого критерия была выбрана не рентгенологическая оценка остеоартроза, которая, как известно, не всегда коррелирует с выраженностью жалоб пациента и снижением качества жизни, а шкала оценки степени ДСКС, позволяющая сделать вывод о наличии или отсутствии объективных показаний к эндопротезированию. Как уже упоминалось, из 178 пациентов, которым ранее было предложено ТЭКС, у 70, согласно данной шкале, такие объективные показания отсутствовали (табл. 2).

Эти наблюдения говорят не о полном и окончательном отказе от возможного эндопротезирования коленного сустава, а лишь о том, что как минимум на год пациент удовлетворен результатом лечения и не рассматривает возможность выполнения ТЭКС в ближайшем будущем.

Из 70 пациентов, которым ранее было предложено ТЭКС, по нашей оценке, без достаточных оснований (ДСКС < 13 баллов), после проведенного курса лечения продолжали рассматривать этот вопрос лишь 15 человек



Рис. 1. Показания к операции, определенные на основании оценки ДСКС у пациентов, которым было предложено ТЭКС

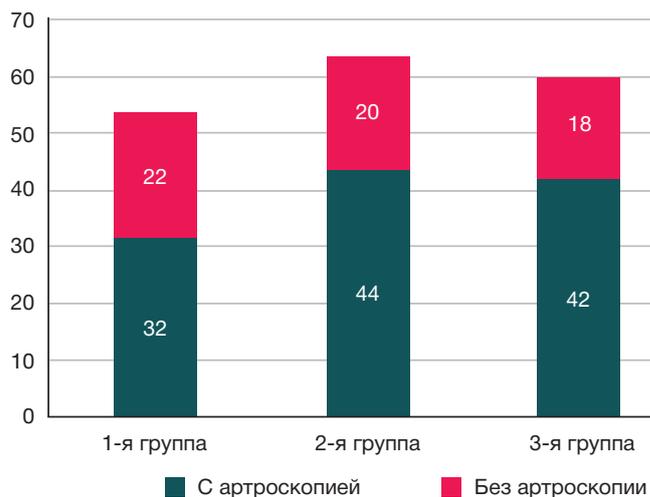


Рис. 2. Включение санационной артроскопии в комплекс лечения

Таблица 2. Отношение пациентов к предложенному ТЭКС через год после проведенного лечения

	Количество пациентов, согласившихся на проведение комплексного лечения вместо ранее предложенного ТЭКС		Количество пациентов, которым выполнили санационную артроскопию		Количество пациентов, которым не выполнили санационную артроскопию	
			Всего	Из них готовы обсуждать возможность выполнения ТЭКС после проведенного лечения	Всего	Из них готовы обсуждать возможность выполнения ТЭКС после проведенного лечения
1-я группа (n = 54)	ТЭКС предложено без достаточных оснований	18	5	0	13	0
	Предложение ТЭКС обосновано	36	27	0	9	5 (55,6%)
2-я группа (n = 64)	ТЭКС предложено без достаточных оснований	24	15	0	9	2 (22,2%)
	Предложение ТЭКС обосновано	40	29	2 (6,9%)	11	7 (63,6%)
3-я группа (n = 60)	ТЭКС предложено без достаточных оснований	28	13	4 (30,8%)	15	9 (60,0%)
	Предложение ТЭКС обосновано	32	29	22 (75,9%)	3	3 (100%)
Всего (n = 178)	ТЭКС предложено без достаточных оснований	70	33	4 (12,1%)	37	11 (29,7%)
	Предложение ТЭКС обосновано	108	85	24 (28,2%)	23	15 (65,2%)

(21,4%), причем в основном это были пациенты 3-й группы, которым не проводили внутрисуставную инъекционную терапию (13 человек из 28, или 46,4%), тогда как в 1-й группе отказались от эндопротезирования все пациенты (100%), а во 2-й группе — 22 человека из 24 (91,7%) (рис. 3).

Из 108 человек с более тяжелыми поражениями суставов и объективными показаниями к ТЭКС (ДСКС  $\geq$  13 баллов) после проведенного курса лечения продолжали рассматривать этот вопрос 39 человек (36,1%), следовательно, можно предположить значительное субъективное улучшение состояния у остальных 69 человек (63,9%) (рис. 4).

В наибольшей степени проведенное лечение явилось альтернативой эндопротезированию у пациентов, которым проводили внутрисуставную инъекционную терапию: в 1-й группе — у 86,1%, во 2-й — у 77,5%. В то же время в 3-й группе, несмотря на то что у 90,6% пациентов была выполнена санационная артроскопия, 25 человек из 32 (78,1%) продолжали рассматривать возможность ТЭКС, так как не были удовлетворены достигнутым результатом.

### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Эффективность проводимой внутрисуставной инъекционной терапии и выполненной в начале лечения санационной артроскопии можно оценивать как по отдельности, так и в комплексе.

Если оценивать результаты опроса с позиций оценки эффективности проведенной *внутрисуставной терапии*, то из 118 пациентов (в совокупности 1-й и 2-й групп), ранее рассматривавших возможность проведения предложенной им операции ТЭКС, в 42 случаях операция была рекомендована без достаточных оснований, и после данного курса лечения, включающего внутрисуставные инъекции PRP или гиалуроновой кислоты, только двое (4,8%) продолжали рассматривать возможность выполнения ТЭКС. В 3-й группе, где внутрисуставную терапию не проводили, таких наблюдений было 13 из 28 (46,4%).

По подтвержденным в ходе нашего обследования объективным показаниям ТЭКС было ранее предложено 76 пациентам (совокупно 1-й и 2-й групп), им в ходе комплексного лечения проводили внутрисуставные инъекции. Из них к концу наблюдения продолжали рассматривать возможность ТЭКС 14 человек (18,4%).

Если анализировать результаты этого опроса с позиций оценки влияния выполненной в начале лечения

*санационной артроскопии*, то в 1-й группе из 54 пациентов артроскопия выполнена у 32, и никто из них через год не изъявил желания обсуждать вопрос о ТЭКС в ближайшем будущем (0%). Во 2-й группе из 64 пациентов санационная артроскопия выполнена в 44 наблюдениях, и только в 2 случаях (4,5%) операция ТЭКС не была снята с повестки дня. В 3-й группе у 60 пациентов выполнено 42 операции артроскопии и обсуждать возможность ТЭКС через год были готовы 18 человек (42,9%), тогда как без артроскопии таких пациентов было 14 из 18 (77,8%) (табл. 2).

При отсутствии достаточных оснований к ТЭКС проведенная терапия ожидаемо значительно чаще оказалась альтернативой эндопротезированию. После выполненной артроскопии таких пациентов было 29 из 33 (87,9%), причем в 1-й и 2-й группах эта доля составила 100%. Из 48 пациентов, которым артроскопию не выполняли, отсрочить или избежать ТЭКС удалось в 37 случаях (77,1%) — в 1-й группе доля таких случаев составила 100%, во 2-й — 81,8%, в 3-й — 62,5% (рис. 5).

Из пациентов, которым ТЭКС было объективно показано, после выполненной артроскопии отказались от эндопротезирования 71,7% (61 человек из 85), причем в 1-й группе — 100%, во 2-й — 93,1%, а в 3-й — только 24,1%, что еще раз подтверждает эффективность проводимой внутрисуставной терапии и прежде всего — PRP в комплексном лечении остеоартрозов коленного сустава. Не выполняли артроскопию 23 пациентам, которым объективно было показано ТЭКС. Из них только у 8 (34,8%) человек проведенное лечение явилось временной альтернативой ТЭКС, и все они относятся к пациентам, которым проводили внутрисуставную инъекционную терапию: в 1-й группе — 4 из 9 наблюдений (44,4%), во 2-й группе — 4 из 11 случаев (36,4%) (рис. 6).

### ВЫВОДЫ

1. Показания к эндопротезированию коленного сустава в ряде случаев определяются без достаточных оснований, особенно у пожилых пациентов, что приводит к избыточно активной тактике. Применение в наших наблюдениях системы оценки, основанной на степени ДСКС (по методике А. В. Лычагина), показало обоснованность предложенного эндопротезирования лишь в 60,7% наблюдений. 2. Комплексное лечение пожилых



Рис. 3. Отношение после проведенного лечения к ТЭКС пациентов, которым эндопротезирование было предложено без достаточных оснований

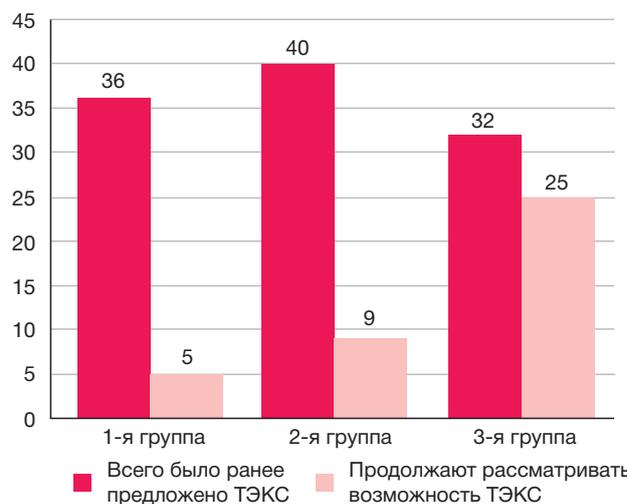


Рис. 4. Отношение после проведенного лечения к ТЭКС пациентов, которым эндопротезирование было предложено по объективным показаниям

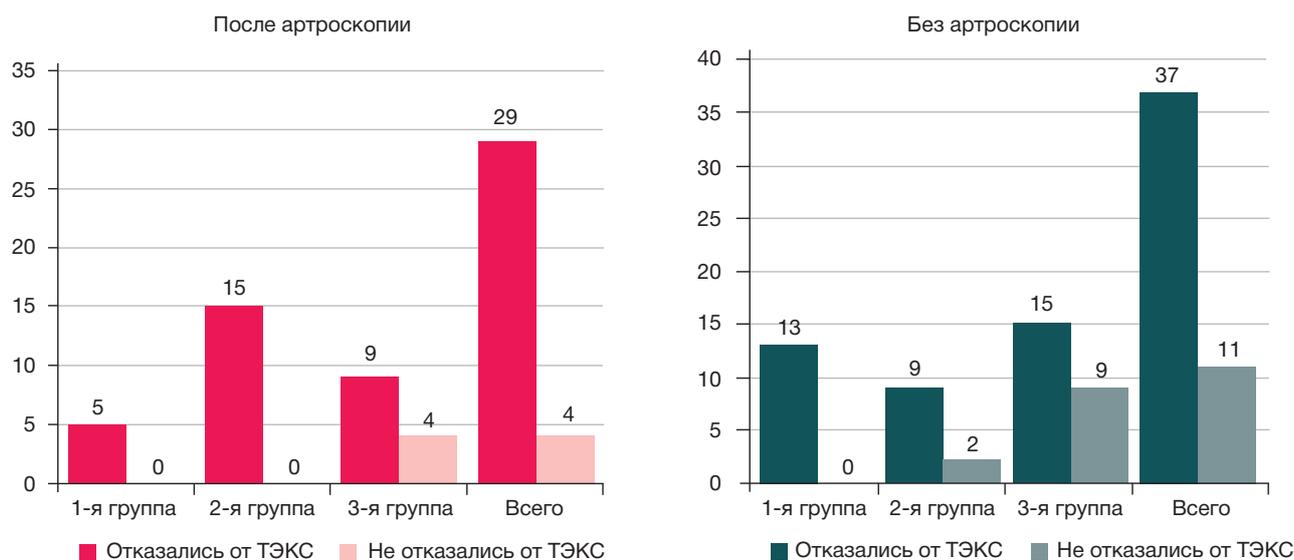


Рис. 5. Влияние артроскопии на отношение к ТЭКС пациентов, которым эндопротезирование было предложено без достаточных оснований

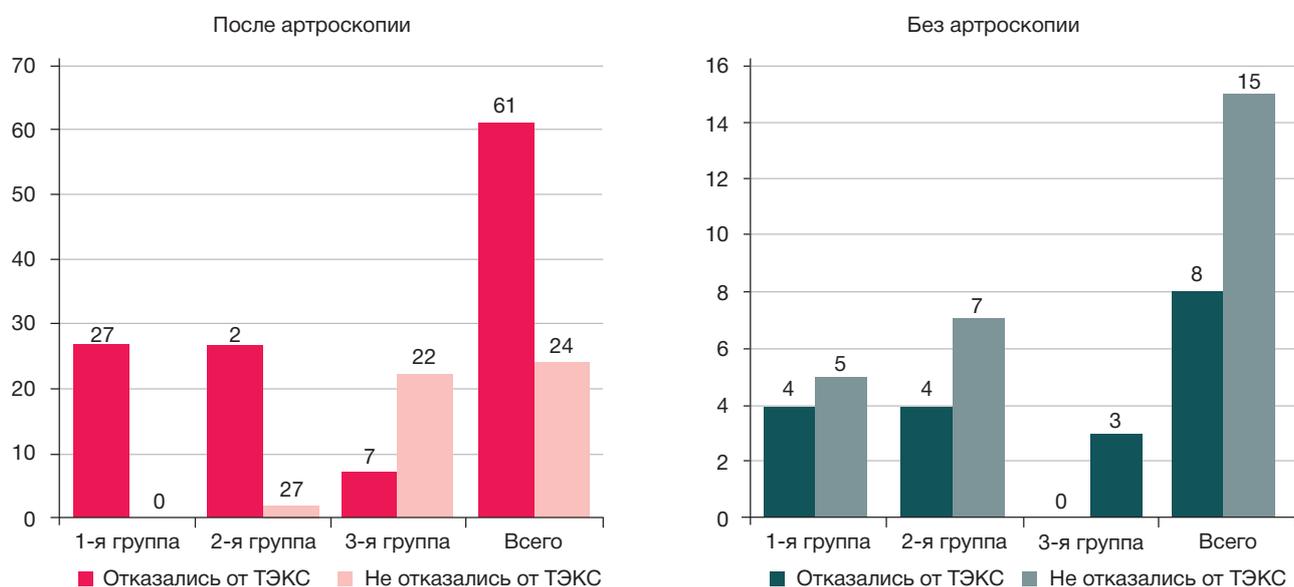


Рис. 6. Влияние артроскопии на отношение к ТЭКС пациентов, которым эндопротезирование было предложено по объективным показаниям

пациентов с гонартрозом, сочетающее санационную артроскопию с внутрисуставной PRP-терапией, может служить как минимум в течение года альтернативой эндопротезированию. 3. Внутрисуставная терапия без

предварительной санационной артроскопии может служить альтернативой эндопротезированию коленного сустава при наличии объективных показаний к этой операции у 40,0% пациентов.

## Литература

- Брагина С. В., Матвеев Р. П. Структура стойкой утраты трудоспособности у пациентов с гонартрозом. *Гений ортопедии*. 2011; (4): 96–100.
- Савелова Е. Е., Майко О. Ю. Качество жизни больных гонартрозом по анкете EP-50. В сборнике: *Материалы II Всероссийского конгресса ревматологов России*; 26–29 апреля; Ярославль, 2011 г.; 68.
- Хамроева З. Д. Оценка клинического течения и особенностей лечения остеоартроза у лиц пожилого и старческого возраста [диссертация]. Душанбе, 2016.
- Цурко В. В., Егоров И. В., Красносельский М. Я. Суставной синдром у пожилых: Патофизиология боли и клиничко-возрастные аспекты терапии. *Consilium Medicum*. 2009; 11 (2): 2–10.
- Шукурова С. М., Хамроева З. Д., Шодиев Б. Р., Каримова Г. Н. Остеоартроз как важная проблема гериатрии. *Вестник Авиценны*. 2015; (1): 137–43.
- Vignon E, Valat JP, Rossignol M, et al. Osteoarthritis of the knee and hip and activity: a systematic international review and synthesis (OASIS). *Joint Bone Spine*. 2006; (73): 442–55.
- Алексеева Л. И., Цветкова Е. С. Остеоартроз: из прошлого в будущее. *Научно-практическая ревматология*. 2009; (2): 31–39.
- Батпенев Н. Д., Баймагамбетов Ш. А. и др. Артроскопия коленного сустава при остеоартрозе коленного сустава. В сборнике: *Материалы VII Конгресса Российского артроскопического общества*; 17–19 декабря 2007 г.; Москва. М.: 49.
- Дубров В. Э., Ярема И.В., Ребров В. Н. Комплексное лечение дегенеративно-воспалительных поражений коленного сустава

- у пожилых больных. Травматология и ортопедия России. 2005; (35): 49.
10. Заболотных И. И., Заболотных В. А. Болезни суставов в пожилом возрасте. СПб.: Петрополис, 2000; 144 с.
  11. Каратеев Д. Е. Фармакотерапия остеоартроза: эффективность и безопасность. Поликлиника. 2010; (5): 74–9.
  12. Sinusas K. Osteoarthritis: diagnosis and treatment. *Am Fam Physician*. 2012; 85 (1): 49–56.
  13. Кавалерский Г. М., Лычагин А. В., Сметанин С. М. и др. Историческое развитие концепции эндопротезирования коленного сустава. Кафедра травматологии и ортопедии. 2016; (3): 16–20.
  14. Тарбушкин А. А. Оценка структурно-функциональных нарушений коленного сустава для определения показания к эндопротезированию при гонартрозах [диссертация] М., 2013.
  15. Тихилов Р. М., Шубняков И. И., Коваленко А. Н. и др. Данные регистра эндопротезирования тазобедренного сустава РНИИТО им. Р. Р. Вредена за 2007–2012 годы. Травматология и ортопедия России. 2013; (3): 167–90.
  16. Середа А. П., Грицюк А. А., Зеленяк К. Б., Серебряков А. Б. Факторы риска инфекционных осложнений после эндопротезирования коленного сустава. *Инфекции в хирургии*. 2010; 8 (4): 67–76.
  17. Gioe TJ, Killeen KK, Grimm K, et al. Why are total knee replacements revised? Analysis of early revision in a community knee implant registry. *Clin Orthop Relat Res*. 2004; (428): 100–6.
  18. Лычагин А. В. Хирургическое лечение структурно-функциональных нарушений при гонартрозе [диссертация] М., 2017.

## References

1. Bragina SV, Matveev RP. Struktura stojkoj utraty trudospособnosti u pacientov s gonartrozom. *Genij ortopedii*. 2011; (4): 96–100.
2. Savelova EE, Majko OYu. Kachestvo zhizni bol'nyh gonartrozom po ankete EF-50. *Materiyal'nyy Vserossiyskiy kongress revmatologov Rossii*. Yaroslavl', 2011 g; 68.
3. Hamroeva ZD. Ocenka klinicheskogo techeniya i osobennostej lecheniya osteoartroza u lic pozhilogo i starcheskogo vozrasta. [dissertatsiya]. Dushanbe, 2016.
4. Curko VV, Egorov IV, Krasnoselskiy MYA. Sustavnoj sindrom u pozhilyh: Patofiziologiya boli i kliniko-vozrastnye aspekty terapii. *Consilium Medicum*. 2009; 11 (2): 2–10.
5. Shukurova SM, Hamroeva ZD, SHodiev BR. Osteoartroz kak vazhnaya problema geriatrii. *Vestnik Avicenny*. 2015; (1): 137–143.
6. Vignon E, Valat JP, Rossignol M, et al. Osteoarthritis of the knee and hip and activity: a systematic international review and synthesis (OASIS). *Joint Bone Spine*. 2006; (73): 442–55.
7. Alekseeva LI, Cvetkova ES. Osteoartroz: iz proshlogo v budushchee. *Nauchno-prakticheskaya revmatologiya*. 2009; (2): 31–39.
8. Batpenov ND, Bajmagambetov ShA i dr. Artroskopiya kolennogo sustava pri osteoartroze kolennogo sustava. *Materiyal'nyy VII Kongressa Rossiyskogo artroskopicheskogo obshchestva*. M., 2007; 49.
9. Dubrov VEh, Yarema IV, Rebrov VN. Kompleksnoe lechenie degenerativno-vospalitel'nyh porazhenij kolennogo sustava u pozhilyh bol'nyh. *Traumatalogiya i ortopediya Rossii*. 2005; (35): 49.
10. Zabolotnyh II, Zabolotnyh VA. Bolezni sustavov v pozhilom vozraste. SPb.: "Petropolis", 2000; 144.
11. Karateev DE. Farmakoterapiya osteoartroza: ehffektivnost' i bezopasnost'. *Poliklinika*. 2010; (5): 74–9.
12. Sinusas K. Osteoarthritis: diagnosis and treatment. *Am Fam Physician*. 2012; 85 (1): 49–56.
13. Kavalerskiy GM, Lychagin AV, Smetanin SM i dr. Istoricheskoe razvitie koncepcii ehndoprotezirovaniya kolennogo sustava. *Kafedra travmatologii i ortopedii*. 2016; (3): 16–20.
14. Tarbushkin AA. Ocenka strukturno-funkcional'nyh narushenij kolennogo sustava dlya opredeleniya pokazaniya k ehndoprotezirovaniyu pri gonartrozah [dissertatsiya]. M., 2013.
15. Tihilov RM, Shubnyakov II, Kovalenko AN i dr. Dannye registra ehndoprotezirovaniya tazobedrennogo sustava RNIITO im. R. R. Vredena za 2007–2012 gody. *Traumatalogiya i ortopediya Rossii*. 2013; (3): 167–90.
16. Sereda AP, Gricyuk AA, Zelenyak KB, Serebryakov AB. Faktory riska infekcionnyh oslozhnenij posle ehndoprotezirovaniya kolennogo sustava. *Infekcii v hirurгии*. 2010; 8 (4): 67–76.
17. Gioe TJ, Killeen KK, Grimm K, et al. Why are total knee replacements revised? Analysis of early revision in a community knee implant registry. *Clin Orthop Relat Res*. 2004; (428): 100–6.
18. Lychagin AV. Hirurgicheskoe lechenie strukturno-funkcional'nyh narushenij pri gonartroze [dissertatsiya]. M., 2017.

## НОВЫЙ СПОСОБ ТАМПОНАДЫ ТАЗА ПРИ ПРОДОЛЖАЮЩЕМСЯ ВНУТРИТАЗОВОМ КРОВОТЕЧЕНИИ

К. А. Егизарян<sup>1</sup>, Д. И. Гордиенко<sup>1</sup>, Д. А. Старчик<sup>2</sup>, А. М. Лыско<sup>1</sup>✉

<sup>1</sup> Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва, Россия

<sup>2</sup> Северо-Западный государственный медицинский университет имени И. И. Мечникова, Санкт-Петербург, Россия

Нестабильные повреждения тазового кольца продолжают оставаться одной из наиболее частых причин летального исхода у пациентов с сочетанной травмой, а существующие способы имеют ряд осложнений и противопоказаний. Нами описан успешный клинический случай остановки внутритазового кровотечения у пациента с множественными травмами, в котором с целью объединения преимуществ малой инвазивности ангиоэмболизации, простоты исполнения и воздействия на основную причину кровопотери тампонады таза применен новый способ внутритазовой остановки кровотечения при помощи баллонных устройств.

**Ключевые слова:** сочетанная травма, множественная травма, политравма, переломы костей таза, внутритазовое кровотечение, тампонада таза

**Информация о вкладе авторов:** К. А. Егизарян, Д. И. Гордиенко — организация и планирование исследования; Д. А. Старчик — планирование исследования, выполнение анатомического исследования; А. М. Лыско — анализ литературы, сбор, анализ, интерпретация данных, выполнение оперативного вмешательства.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено этическим комитетом городской клинической больницы № 1 имени Н. И. Пирогова (протокол № 5 от 28 мая 2018 г.) и этическим комитетом РНИМУ имени Н. И. Пирогова (протокол № 170 от 18 декабря 2017 г.).

✉ **Для корреспонденции:** Артём Михайлович Лыско  
ул. Хачатуряна, д. 12, корп. 3, г. Москва, 127562; ArtLysko@gmail.com

**Статья получена:** 03.03.2019 **Статья принята к печати:** 16.04.2019 **Опубликована онлайн:** 29.04.2019

**DOI:** 10.24075/vrgmu.2019.031

## THE NEW METHOD OF PELVIC PACKING AGAINST CONTINUING INTRAPELVIC BLEEDING RESULTING FROM THE UNSTABLE PELVIC RING FRACTURES

Egizaryan KA<sup>1</sup>, Gordienko DI<sup>1</sup>, Starchik DA<sup>2</sup>, Lysko AM<sup>1</sup>✉

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

<sup>2</sup> Mechnikov North-Western State Medical University, Saint-Peterburg, Russia

Unstable pelvic ring fractures are one of the common causes of death of patients with concomitant injuries. The existing methods applied to treat such conditions can cause a number of complications and have contraindications. We have described a successful clinical case of intrapelvic hemorrhage arrest in a patient with multiple injuries. In this case, we applied the new method combining minimally invasive angioembolization and easily applicable and effective balloon tamponade.

**Keywords:** concomitant injury, multiple injury, polytrauma, intrapelvic bleeding, pelvic packing

**Author contribution:** Egizaryan KA, Gordienko DI — study organization and planning; Starchik DA — study planning, anatomical examination; Lysko AM — literature analysis, data collection, analysis, interpretation, surgery.

**Compliance with ethical standards:** the study was approved by the Ethics Committee of Pirogov City Clinical Hospital № 1 (minutes № 5 of May 28, 2018) and Ethics Committee of Pirogov Russian National Research Medical University (minutes № 170 of December 18, 2017).

✉ **Correspondence should be addressed:** Artyom M. Lysko  
Khachaturiana 12-3, Moscow, 127562; ArtLysko@gmail.com

**Received:** 03.03.2019 **Accepted:** 16.04.2019 **Published online:** 29.04.2019

**DOI:** 10.24075/brsmu.2019.031

Высокая актуальность проблемы остановки внутритазового кровотечения, развившегося вследствие нестабильных повреждений тазового кольца, обусловлена достаточно высокой частотой летальных исходов и значимыми медицинскими и социальными последствиями [1]. Исходя из последних данных повреждения тазового кольца более чем в 25% случаев встречаются в составе сочетанной и множественной травм [2–4]. До 60% данных повреждений имеют летальные последствия, каждый третий случай из которых — следствие неконтролируемого внутритазового кровотечения [5–9].

За многие годы в поисках решения проблемы был разработан ряд методов внутритазовой остановки кровотечения, таких как ангиоэмболизация, тампонада таза и REBOA (Resuscitative Endovascular Balloon Occlusion of the Aorta) [10–16]. Каждый из них уникален и имеет

ряд своих положительных и отрицательных аспектов. Тампонаду таза применяют при более часто встречаемом венозном кровотечении, она инвазивнее других методов, что приводит к большей кровопотере и инфекционным осложнениям. Ангиоэмболизация, в свою очередь, может быть осложнена ишемическими повреждениями, ведущими к некрозам и развитию внутричерепного кровоизлияния [17–22]. С целью учета таких преимуществ, как малоинвазивность ангиоэмболизации, простота исполнения и эффективность воздействия на основную причину кровопотери тампонады таза, нами разработан новый способ остановки внутритазового кровотечения. Следует отметить, что в основу идеи взят распространенный в акушерстве и гинекологии метод баллонной тампонады матки, применяемый при неконтролируемых внутриматочных кровотечениях [23].

### Описание клинического случая

Пациент С. 26 лет, строитель по специальности, пострадал в результате падения на бетонную плиту с высоты 3 этажа (около 12 м). На догоспитальном этапе пациенту начата инфузионная и обезболивающая терапия. При поступлении пациент был интубирован, выполнены катетеризация вен, мочевого пузыря, адекватная инфузионная, обезболивающая терапия. Показатели артериального давления (АД) пациента составляли 107/70 мм рт. ст. при пульсе 113 уд./мин с нормальным темпом диуреза. Состояние по шкале комы Глазго оценили в 9 баллов. По данным лабораторных анализов показатели гемоглобина и гематокрита пациента находились в пределах нормы при выраженном лейкоцитозе (до  $29,9 \cdot 10^9$  кл./л), дефиците оснований (9,8 ммоль/л) и уровне лактата 4,8 ммоль/л. Ультразвуковое исследование при поступлении показало отсутствие жидкости в плевральной и брюшной полостях и незначительное ее количество в полости малого таза. Учитывая стабильность гемодинамики и наличие клинических признаков механической нестабильности тазового кольца на момент поступления в стационар, пациенту выполнили наложение тазового бандажа, после чего он был отправлен на ПАН КТ (компьютерную томографию всех отделов организма). В ходе исследования в составе сочетанной травмы у пациента выявили повреждение тазового кольца типа С1 по классификации АО (Arbeitsgemeinschaft für Osteosynthesefragen)/OTA (Orthopaedic Trauma Association) (рис. 1). Кроме того обнаружены закрытая черепно-мозговая травма, ушиб теменной доли головного мозга справа, переломы костей носа, стенок левой орбиты, закрытый перелом большого бугорка правого плеча с незначительным смещением отломков, вывих в суставе Лисфранка правой стопы, гематома мошонки (по шкале ISS = 29 баллов).

В ходе КТ-исследования произошла резкая дестабилизация гемодинамики пациента с падением давления до 60/30 мм рт. ст., с учащением пульса до 150 уд./мин; начата вазопрессорная поддержка раствором норадреналина 0,2% (0,3 мкг/кг/мин), пациент был экстренно взят в операционную для стабилизации переднего полукольца таза надцетабулярным аппаратом наружной фиксации, наложения С-рамы Ганца на заднее полукольцо. Экстренные мероприятия по стабилизации тазового кольца привели к подъему показателей АД до 85/40 мм рт. ст. и урежению пульса до 130 уд./мин на фоне продолжающейся вазопрессорной поддержки. Учитывая сохраняющуюся гемодинамическую нестабильность в течение 15 мин после механической стабилизации тазового кольца, мы приняли решение о выполнении малоинвазивной баллонной тампонады таза следующим способом: в положении пациента на спине под местной

анестезией (инфильтрация мягких тканей в области доступа растворами местных анестетиков) непосредственно над лонным сочленением по передней срединной линии тела произвели разрез-прокол кожи размерами до 2–3 см. Подкожную клетчатку развели тупым способом, достигая пирамидальной мышцы, волокна которой также развели тупым способом. Через данное отверстие ввели троакар со стилетом в предпузырное клетчаточное пространство (пространство Ретциуса). Далее троакар со стилетом направили паравезикально в направлении левого или правого крестцово-подвздошного сочленения в соответствующее боковое клетчаточное пространство (рис. 2). После удаления стилета по троакару в область повреждения ввели баллонное устройство для остановки внутриматочного кровотечения (баллон Жуковского) (ОО «Гинамед»; Россия), состоящее из пластикового остова длиной до 25 см, диаметром до 8 мм, и резинового баллона размерами до 11,5 см. Троакар удален. Затем процедуру повторили в противоположном направлении. Баллонные устройства были одновременно заполнены стерильным физиологическим раствором. В ходе заполнения было отмечено постепенное нарастание отчетливого сопротивления на поршне шприца Жане с последующим возникновением его обратного хода после заполнения баллонных устройств до 110 мл, что было расценено нами как признак достаточного объема инфляции. С целью контроля за положением и целостностью баллонных устройств выполнили интраоперационные рентгенограммы таза на аппарате Phillips BV Endura

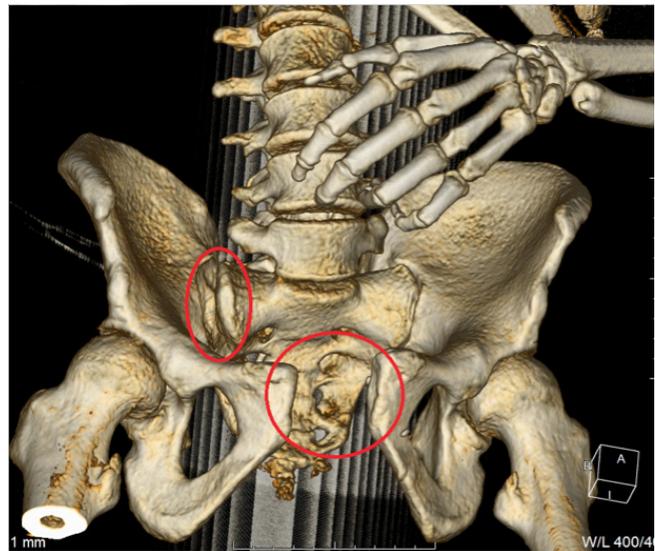


Рис. 1. 3D-КТ-модель повреждения тазового кольца: красным показаны разрывы правого крестцово-подвздошного сочленения и лонного сочленения

Таблица. Динамика показателей состояния пациента до и после проведения оперативного вмешательства

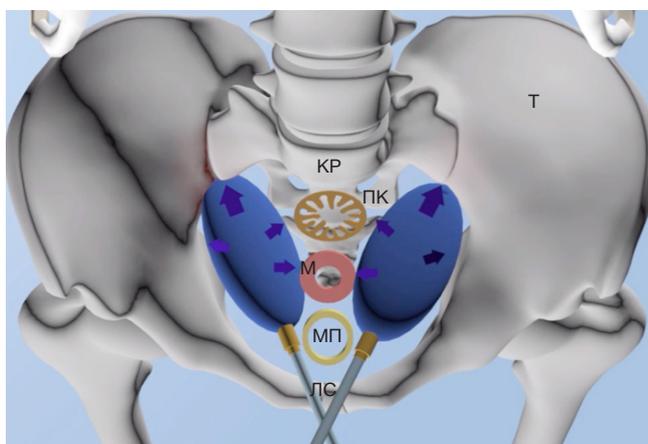
Показатели/время	Поступление	Через час после оперативного вмешательства	Конец первых суток с поступления
АД (мм рт. ст.)	60/30	110/47	115/70
ЧСС (уд./мин)	150	115	100–110
Гемоглобин (г/л)	149	128	92
Гематокрит (%)	44,2	38,4	27,2
Лейкоцитоз ( $10^9$ /л)	29,9	33	11
Лактат (ммоль/л)	4,8	7,4	2,8
Дефицит оснований (ммоль/л)	-9,8	-14	-2,7

(Нидерланды) (рис. 3). Концы баллонных устройств вывели на кожу и подшили, рану послойно ушили (рис. 4). Выполнение малоинвазивной внутритазовой тампонады по заявленному способу привело к подъему показателей АД до 110/47 мм рт. ст. с урежением пульса до 115 уд./мин. В раннем послеоперационном периоде пациента перевели в отделение реанимации. В течение первых суток показатели гемодинамики стабилизировались до 115/70 мм рт. ст. с пульсом 100–110 уд./мин, к концу первых суток постепенно отменили вазопрессорную поддержку. Динамика показателей состояния пациента представлена в таблице. Темпы диуреза у пациента оставались на достаточном уровне, признаки кровотечения отсутствовали. Через 48 часов с момента поступления на фоне стабильных гемодинамических и лабораторных показателей было принято решение о тестовой дефляции баллонных устройств на 50 мл и последующем наблюдении за пациентом. С учетом стабильности состояния пациента

на третьи сутки с момента поступления принято решение о демонтаже С-рамы и стабилизации задних отделов таза винтом, а также удалении баллонных устройств из полости малого таза (рис. 5). На 5-е сутки с момента поступления пациент был переведен в профильное отделение травматологии и ортопедии для дальнейшего лечения с ежедневным контролем послеоперационной раны: отмечено ее заживление первичным натяжением без признаков воспаления и патологического отделяемого, что позволило на 10-е сутки выполнить окончательную стабилизацию тазового кольца и на 16-е сутки выписать пациента на амбулаторное долечивание (рис. 6, 7).

**Обсуждение клинического случая**

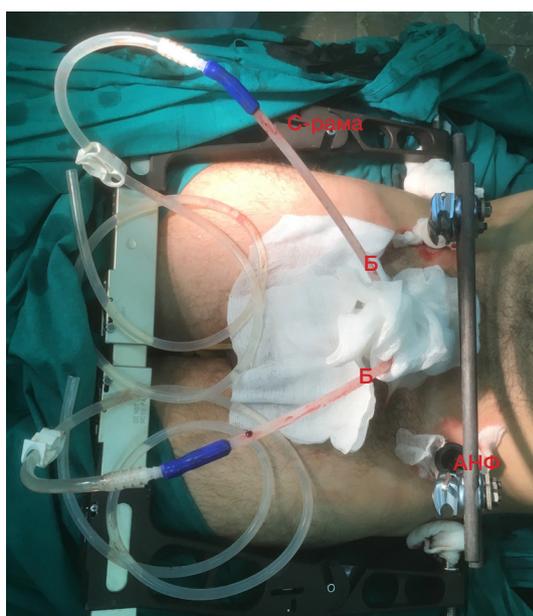
Международное сообщество регулярно разрабатывает рекомендации по ведению пациентов с нестабильными повреждениями тазового кольца. Согласно наиболее



**Рис. 2.** Схематичное изображение направления установки баллонных устройств в полости малого таза. МП — мочевой пузырь, М — матка, ПК — прямая кишка, КР — крестец, Т — безымянная кость, ЛС — лобковый симфиз. Синим указаны баллоны, установленные в латеральные пространства малого таза



**Рис. 3.** Интраоперационная рентгенограмма таза у пациента с нестабильным повреждением тазового кольца и развитием внутритазового кровотечения после стабилизации аппаратами наружной фиксации и установки баллонных устройств в полость малого таза: красным показаны контуры баллонных устройств в полости малого таза



**Рис. 4.** Внешний вид тазовой области пациента с нестабильным повреждением тазового кольца и развитием внутритазового кровотечения после стабилизации аппаратами наружной фиксации и установки баллонных устройств в полость малого таза: С-рама — Рама Ганца на заднее полукольцо, АНО — аппарат наружной фиксации на переднее полукольцо, Б — баллонные устройства



**Рис. 5.** Внешний вид раны пациента с выступающими трубками баллонных устройств непосредственно перед удалением на третьи сутки. Рана без признаков воспаления, по ходу баллонных устройств отсутствует патологическое отделяемое. В правой половине фотографии аппарат наружной фиксации на переднее полукольцо таза

актуальным из них, первым этапом следует выполнять механическую стабилизацию тазового кольца аппаратами наружной фиксации с последующим переходом на внутритазовые методы остановки, предпочтительнее из которых тампонада таза, так как венозное кровотечение встречается в 8 из 10 случаев против 2 из 10 в случае артериального кровотечения [24]. Если после выполнения тампонады таза гемодинамика пациента остается нестабильной, рекомендовано выполнение транскатетерной ангиоэмболизации кровоточащих сосудов [24]. Следуя данным рекомендациям, наличие у пациента одновременно механической и гемодинамической нестабильности служит показанием к последовательному выполнению механической стабилизации тазового кольца и тампонады таза, как и в представленном выше клиническом примере, где вмешательство оказалось достаточным для стабилизации гемодинамики. Преимуществом разработанного нами способа является контролируемая инфляция баллонных устройств, позволяющая выполнять поэтапную дефляцию уже после 24 ч с момента установки под четким контролем стабильности гемодинамических показателей. Данный способ также облегчает определение источника кровотечения при выполнении транскатетерной ангиоэмболизации. Не менее важным аспектом является безопасность использования стерильного и нейтрального по отношению к средам организма физиологического раствора: в случае прорыва баллонного устройства он окажется безвредным, что позволит снизить потенциальный риск развития осложнений.

Следует отметить, что мировая тенденция к выбору малоинвазивных решений в сфере медицинских вмешательств не обошла стороной тазовую хирургию. В 2015 г. был описан клинический случай выполнения тампонады малого таза за счет катетеризации мочевого пузыря его инфляцией физиологическим раствором в объеме 500–600 мл [25]. Абсолютным противопоказанием к выполнению данной методики является подтверждение нарушения целостности мочевыводящих путей. Выполнение тампонады наполненным мочевым пузырем в раннем послеоперационном периоде позволило добиться стабилизации гемодинамики пациентки. Однако, в связи с нарастанием признаков почечной недостаточности, пришлось провести дефляцию мочевого пузыря, после чего гемодинамика пациентки дестабилизировалась, что привело к выполнению лапаротомии. В декабре 2016 г. в результате проведения экспериментальной работы на животных, был предложен новый способ малоинвазивной тампонады внутритазового кровотечения баллонным устройством, расположенным в предпузырном пространстве [26]. Эффективность метода изучали в сравнении с группой животных, которым была выполнена стандартная тампонада, и контрольной группой без использования внутритазовой остановки кровотечения. В ходе эксперимента была доказана эффективность малоинвазивной баллонной тампонады. Однако следует отметить, что расположение баллонного устройства в передних отделах малого таза может спровоцировать смещение флотирующих костных фрагментов переднего полукольца, не поддающихся внешней фиксации, выдавливание внутренних органов в задние отделы таза с

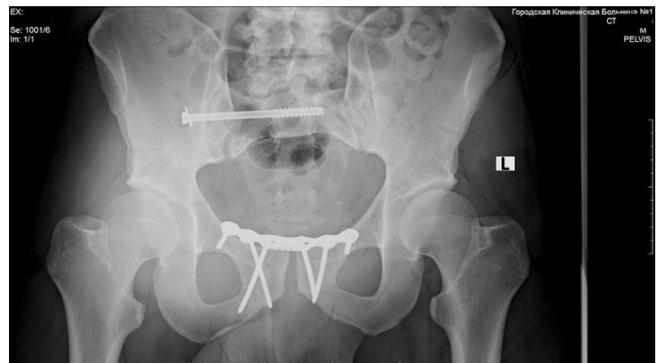
возможной перфорацией последних костными отломками, а также разрыв и повреждение уретры при чрезмерном отдавливании мочевого пузыря. По мнению авторского коллектива, симметричное расположение баллонных устройств в боковых клетчаточных пространствах должно предотвратить развитие подобных осложнений.

## ВЫВОДЫ

Разработанный нами способ тампонады таза можно считать перспективным ввиду малой инвазивности, ограниченного объема вызываемых повреждений и возможности контролировать давление в баллонных устройствах. Коллектив авторов выражает надежду на то, что данный метод найдет свое применение в ведении пациентов с нестабильными повреждениями тазового кольца.



**Рис. 6.** Вид послеоперационной раны через сутки после удаления баллонных устройств. Послеоперационная рана заживает первичным натяжением без признаков воспаления и патологического отделяемого, швы состоятельны. В левой половине фотографии аппарат наружной фиксации на переднее полукольцо таза



**Рис. 7.** Рентгенограмма таза пациента после окончательной стабилизации тазового кольца на 10-е сутки: фиксация правого крестцово-подвздошного сочленения спонгиозным винтом с частичной нарезкой и шайбой, лонного сочленения пластиной и винтами

## Литература

1. Смоляр А. Н. Диагностика и лечение травматических забрюшинных кровоизлияний [диссертация]. М., 2012–272.
2. Burkhardt M, Kristen A, Culemann U, Koehler D, Histing T, Holstein J et al. Pelvic fracture in multiple trauma: Are we still up-to-date with massive fluid resuscitation? *Injury*. 2014; (45): 70–5.
3. Esmer E, Esmer E, Derst P, Schulz M, Siekmann H, Delank K. Einfluss der externen Beckenstabilisierung bei hämodynamisch instabilen Beckenfrakturen. *Der Unfallchirurg*. 2015; 120 (4): 312–9.
4. Wohlrat B, Trentzsch H, Hoffmann R, Kremer M, Schmidt-Horlohè K, Schweigkofler U. Preclinical and clinical treatment of instable pelvic injuries: Results of an online survey. *Der Unfallchirurg*. 2014; 119 (9): 755–62. In German.
5. Holcomb J, del Junco D, Fox E, Wade C, Cohen M, Schreiber M, et al. The Prospective, Observational, Multicenter, Major Trauma Transfusion (PROMMTT) Study. *JAMA Surgery*. 2013; 48 (2): 27.
6. Guerado E, Bertrand M, Valdes L, Cruz E, Cano J. Resuscitation of Polytrauma Patients: The Management of Massive Skeletal Bleeding. *The Open Orthopaedics Journal*. 2015; 9 (1): 283–95.
7. Costantini T, Coimbra R, Holcomb J, Podbielski J, Catalano R, Blackburn A, et al. Current management of hemorrhage from severe pelvic fractures. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*. 2016; 80 (5): 717–25.
8. Burlaw C, Moore E, Stahel P, Geddes A, Wagenaar A, Pieracci F, et al. Preperitoneal pelvic packing reduces mortality in patients with life-threatening hemorrhage due to unstable pelvic fractures. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*. 2017; 82 (2): 233–42.
9. Tesoriero R, Bruns B, Narayan M, Dubose J, Guliani S, Brenner M, et al. Angiographic embolization for hemorrhage following pelvic fracture. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*. 2017; 82 (1): 18–26.
10. Файн А. М. Диагностика и лечение тяжелых переломов костей таза у пострадавших с сочетанной и множественной травмой [диссертация]. М., 2017–238.
11. Guerado E, Medina A, Mata M, Galvan J, Bertrand M. Protocols for massive blood transfusion: when and why, and potential complications. *European Journal of Trauma and Emergency Surgery*. 2015; 42 (3): 283–95.
12. Margolies M, Ring E, Waltman A, Kerr W, Baum S. Arteriography in the Management of Hemorrhage from Pelvic Fractures. *New England Journal of Medicine*. 1972; 287 (7): 317–21.
13. Pohlemann T, Gansslen A, Bosch U, Tscherne H. The Technique of Packing for Control of Hemorrhage in Complex Pelvic Fractures. *Techniques in Orthopaedics*. 1994; 9 (4): 267–70.
14. Smith W, Moore E, Osborn P, Agudelo J, Morgan S, Parekh A, et al. Retroperitoneal Packing as a Resuscitation Technique for Hemodynamically Unstable Patients with Pelvic Fractures: Report of Two Representative Cases and a Description of Technique. *The Journal of Trauma: Injury, Infection, and Critical Care*. 2005; 59 (6): 1510–4.
15. Hughes C. W. Use of an intra-aortic balloon catheter tamponade for controlling intra-abdominal hemorrhage in man. *Surgery*. 1954; 36 (1): 65–8.
16. DuBose J, Scalea T, Brenner M, Skiada D, Inaba K, Cannon J et al. The AAST prospective Aortic Occlusion for Resuscitation in Trauma and Acute Care Surgery (AORTA) registry. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*. 2016; 81 (3): 409–19.
17. Matiyahu A, Marmor M, Elson J, Lieber C, Rogalski G, Lin C, et al. Acute Complications of Patients With Pelvic Fractures After Pelvic Angiographic Embolization. *Clinical Orthopaedics and Related Research*. 2013; 471 (9): 2906–11.
18. Salcedo E, Brown I, Corwin M, Galante J. Pelvic angioembolization in trauma — Indications and outcomes. *International Journal of Surgery*. 2016; (33): 231–6.
19. Rudloff M, Triantafillou K. Management of Pelvic Ring Injuries in Unstable Patients. *Orthopedic Clinics of North America*. 2016; 47 (3): 551–63.
20. Saito N, Matsumoto H, Yagi T, Hara Y, Hayashida K, Motomura T, et al. Evaluation of the safety and feasibility of resuscitative endovascular balloon occlusion of the aorta. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*. 2015; 78 (5): 897–904.
21. Davidson A, Russo R, Reva V, Brenner M, Moore L, Ball C, et al. The pitfalls of resuscitative endovascular balloon occlusion of the aorta. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*. 2018; 84 (1): 192–202.
22. Uchino H, Tamura N, Echigoya R, Ikegami T, Fukuoka T. “REBOA” — Is it Really Safe? A Case with Massive Intracranial Hemorrhage Possibly due to Endovascular Balloon Occlusion of the Aorta (REBOA). *American Journal of Case Reports*. 2016; 17: 810–3.
23. Charoenkwan K. Effective use of the Bakri postpartum balloon for posthysterectomy pelvic floor hemorrhage. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2014; 210 (6): 586.
24. Coccolini F, Stahel P, Montori G, Biffi W, Horer T, Catena F, et al. Pelvic trauma: WSES classification and guidelines. *World Journal of Emergency Surgery*. 2017; 12 (1): 5.
25. Huang S, Vohora A, Russ M, Mathew J, Johnny C, Stevens J, et al. Delaying urinary catheter insertion in the reception and resuscitation of blunt multitrauma and using a full bladder to tamponade pelvic bleeding. *Injury*. 2015; 46 (6): 1081–3.
26. Sokol K, Black G, Willey S, Song M, Marko S, Eckert M, et al. Preperitoneal balloon tamponade for lethal closed retroperitoneal pelvic hemorrhage in a swine model. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*. 2016; 81 (6): 1046–55.

## References

1. Smoljar AN. Diagnostic and treatment of traumatic retroperitoneal hemorrhages [dissertation]. M., 2012–272. In Russian.
2. Burkhardt M, Kristen A, Culemann U, Koehler D, Histing T, Holstein J, et al. Pelvic fracture in multiple trauma: Are we still up-to-date with massive fluid resuscitation? *Injury*. 2014; (45): 70–5.
3. Esmer E, Esmer E, Derst P, Schulz M, Siekmann H, Delank K. Einfluss der externen Beckenstabilisierung bei hämodynamisch instabilen Beckenfrakturen. *Der Unfallchirurg*. 2015; 120 (4): 312–9.
4. Wohlrat B, Trentzsch H, Hoffmann R, Kremer M, Schmidt-Horlohè K, Schweigkofler U. Preclinical and clinical treatment of instable pelvic injuries: Results of an online survey. *Der Unfallchirurg*. 2014; 119 (9): 755–62. In German.
5. Holcomb J, del Junco D, Fox E, Wade C, Cohen M, Schreiber M, et al. The Prospective, Observational, Multicenter, Major Trauma Transfusion (PROMMTT) Study. *JAMA Surgery*. 2013; 48 (2): 27.
6. Guerado E, Bertrand M, Valdes L, Cruz E, Cano J. Resuscitation of Polytrauma Patients: The Management of Massive Skeletal Bleeding. *The Open Orthopaedics Journal*. 2015; 9 (1): 283–95.
7. Costantini T, Coimbra R, Holcomb J, Podbielski J, Catalano R, Blackburn A, et al. Current management of hemorrhage from severe pelvic fractures. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*. 2016; 80 (5): 717–25.
8. Burlaw C, Moore E, Stahel P, Geddes A, Wagenaar A, Pieracci F, et al. Preperitoneal pelvic packing reduces mortality in patients with life-threatening hemorrhage due to unstable pelvic fractures. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*. 2017; 82 (2): 233–42.
9. Tesoriero R, Bruns B, Narayan M, Dubose J, Guliani S, Brenner M, et al. Angiographic embolization for hemorrhage following pelvic fracture. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*. 2017; 82 (1): 18–26.
10. Fajn AM. Diagnostic and treatment of severe pelvic fractures by patients with concomitant and multiple injuries [dissertation]. M., 2017–238. Russian.
11. Guerado E, Medina A, Mata M, Galvan J, Bertrand M. Protocols for massive blood transfusion: when and why, and potential complications. *European Journal of Trauma and Emergency Surgery*. 2015; 42 (3): 283–95.
12. Margolies M, Ring E, Waltman A, Kerr W, Baum S. Arteriography

- in the Management of Hemorrhage from Pelvic Fractures. *New England Journal of Medicine*. 1972; 287 (7): 317–21.
13. Pohlemann T, Gansslen A, Bosch U, Tschern H. The Technique of Packing for Control of Hemorrhage in Complex Pelvic Fractures. *Techniques in Orthopaedics*. 1994; 9 (4): 267–70.
  14. Smith W, Moore E, Osborn P, Agudelo J, Morgan S, Parekh A, et al. Retroperitoneal Packing as a Resuscitation Technique for Hemodynamically Unstable Patients with Pelvic Fractures: Report of Two Representative Cases and a Description of Technique. *The Journal of Trauma: Injury, Infection, and Critical Care*. 2005; 59 (6): 1510–4.
  15. Hughes C. W. Use of an intra-aortic balloon catheter tamponade for controlling intra-abdominal hemorrhage in man. *Surgery*. 1954; 36 (1): 65–8.
  16. DuBose J, Scalea T, Brenner M, Skiada D, Inaba K, Cannon J, et al. The AAST prospective Aortic Occlusion for Resuscitation in Trauma and Acute Care Surgery (AORTA) registry. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*. 2016; 81 (3): 409–19.
  17. Matityahu A, Marmor M, Elson J, Lieber C, Rogalski G, Lin C et al. Acute Complications of Patients With Pelvic Fractures After Pelvic Angiographic Embolization. *Clinical Orthopaedics and Related Research*. 2013; 471 (9): 2906–11.
  18. Salcedo E, Brown I, Corwin M, Galante J. Pelvic angioembolization in trauma — Indications and outcomes. *International Journal of Surgery*. 2016; (33): 231–6.
  19. Rudloff M, Triantafillou K. Management of Pelvic Ring Injuries in Unstable Patients. *Orthopedic Clinics of North America*. 2016; 47 (3): 551–63.
  20. Saito N, Matsumoto H, Yagi T, Hara Y, Hayashida K, Motomura T, et al. Evaluation of the safety and feasibility of resuscitative endovascular balloon occlusion of the aorta. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*. 2015; 78 (5): 897–904.
  21. Davidson A, Russo R, Reva V, Brenner M, Moore L, Ball C, et al. The pitfalls of resuscitative endovascular balloon occlusion of the aorta. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*. 2018; 84 (1): 192–202.
  22. Uchino H, Tamura N, Echigoya R, Ikegami T, Fukuoka T. “REBOA” — Is it Really Safe? A Case with Massive Intracranial Hemorrhage Possibly due to Endovascular Balloon Occlusion of the Aorta (REBOA). *American Journal of Case Reports*. 2016; (17): 810–3.
  23. Charoenkwan K. Effective use of the Bakri postpartum balloon for posthysterectomy pelvic floor hemorrhage. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 2014; 210 (6): 586.
  24. Coccolini F, Stahel P, Montori G, Biffi W, Horer T, Catena F, et al. Pelvic trauma: WSES classification and guidelines. *World Journal of Emergency Surgery*. 2017; 12 (1): 5.
  25. Huang S, Vohora A, Russ M, Mathew J, Johnny C, Stevens J, et al. Delaying urinary catheter insertion in the reception and resuscitation of blunt multitrauma and using a full bladder to tamponade pelvic bleeding. *Injury*. 2015; 46 (6): 1081–3.
  26. Sokol K, Black G, Willey S, Song M, Marko S, Eckert M, et al. Preperitoneal balloon tamponade for lethal closed retroperitoneal pelvic hemorrhage in a swine model. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*. 2016; 81 (6): 1046–55.

## ВЗАИМОСВЯЗЬ НЕМЕДИКАМЕНТОЗНОЙ КОРРЕКЦИИ КЛИМАКТЕРИЧЕСКИХ РАССТРОЙСТВ И ФУНКЦИОНИРОВАНИЯ ГИПОФИЗАРНО-ТИРЕОИДНОЙ СИСТЕМЫ У ЖЕНЩИН С МЕТАБОЛИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ

Р. Р. Бериханова<sup>1✉</sup>, И. А. Миненко<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Центральная клиническая больница гражданской авиации, Москва, Россия

<sup>2</sup> Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова, Москва, Россия

У женщин в перименопаузе частота тиреоидной патологии и метаболического синдрома (МС) увеличивается. В данной работе оценивали влияние нелекарственных программ коррекции климактерических расстройств на структурно-функциональное состояние щитовидной железы (ЩЖ) у пациенток с МС. Для этого обследовали пять групп женщин (всего 330 человек) 45–50 лет с климактерическим синдромом (КС) на фоне МС. У основной группы и групп сравнения применяли: базовое лечение, лечебную физкультуру, питьевую бальнеотерапию, дополнительный пероральный прием поливитаминов и минералов, а также физиотерапию — вибротерапию, хромотерапию, мелотерапию, ароматерапию, аэроионотерапию в различных сочетаниях. В группе контроля применяли только базовое лечение. Определяли уровни тиреотропного гормона (ТТГ) и свободного тироксина (Т4св) в сыворотке крови, проводили эхографическое исследование ЩЖ. Согласно результатам исследования, применение программ коррекции с использованием физиотерапевтических методов улучшило параметры функционирования гипоталамо-тиреоидной системы у обследованных. У женщин с КС средней степени тяжести лучшие результаты получили при одновременном использовании всех перечисленных методов физиотерапии: в переходном периоде ТТГ снизился на 6,5%, в период постменопаузы — на 5,6%, уровень Т4св увеличился соответственно на 6,5% и 6,6% ( $p < 0,05$ , относится к обоим параметрам). Можно сделать вывод, что нелекарственные программы, включающие физиотерапию, обладают протективным влиянием на функцию ЩЖ. При КС средней степени тяжести преимущество имеет программа с одновременным применением вибротерапии, хромотерапии, мелотерапии, ароматерапии и аэроионотерапии.

**Ключевые слова:** климактерический синдром, метаболический синдром, тиреоидный статус, физиотерапия

**Информация о вкладе авторов:** Р. Р. Бериханова — сбор и обработка материалов, анализ полученных данных, написание текста; И. А. Миненко — концепция и дизайн исследования.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование проводили согласно международным этическим требованиям ВОЗ (правила GCP — Good Clinical Practice) и Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации по проведению биометрических исследований на людях; исследование одобрено комитетом по этике Первого Московского государственного медицинского университета имени И. М. Сеченова (протокол № 01–13 от 23 января 2013 г.). Все пациенты подписали информированное добровольное согласие на включение в исследование.

✉ **Для корреспонденции:** Румиса Рамзановна Бериханова  
ул. Северный бульвар, д. 1, г. Москва, 127566; rumiska07@mail.ru

**Статья получена:** 16.10.2018 **Статья принята к печати:** 29.03.2019 **Опубликована онлайн:** 11.04.2019

**DOI:** 10.24075/vrgmu.2019.023

## INTERRELATION OF NON-DRUG CORRECTION OF MENOPAUSAL DISORDERS AND FUNCTIONING OF THE PITUITARY-THYROID SYSTEM IN WOMEN WITH METABOLIC SYNDROME

Berihanova RR<sup>1✉</sup>, Minenko IA<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Central clinical hospital of civil aviation, Moscow, Russia

<sup>2</sup> Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia

In perimenopausal women, the frequency of thyroid diseases and metabolic syndrome (MS) increases. In this work, the effect of non-drug correction programs for menopausal disorders on the structural and functional state of the thyroid gland in patients with MS was evaluated. For that, five groups of women (330 people total) aged 45–50 years with climacteric syndrome (CS) against the background of MS were examined. For the index group and the experimental groups the following was used: basic treatment, exercise therapy, drinking balneotherapy, additional oral intake of multivitamins and minerals, as well as physical therapy — vibrotherapy, chromotherapy, music therapy, aromatherapy, aeriionotherapy in various combinations. In the control group, only basic treatment was used. The levels of thyroid-stimulating hormone (TSH) and free thyroxine (free T4) in serum were determined, a sonographic study of the thyroid gland was performed. According to the study results, the use of correction programs using physical therapy methods improved the functioning parameters of the pituitary-thyroid system in the surveyed patients. In women with moderate-severity CS, the best results were obtained while simultaneously using all the mentioned above physiotherapy methods: during the transition period the TSH decreased by 6.5%, during the postmenopausal period — by 5.6%, the level of free T4 increased by 6.5% and 6.6% respectively ( $p < 0.05$ , applied to both parameters). It can be concluded that non-drug programs, including physical therapy, have a protective effect on the thyroid gland function. In case of moderate-severity climacteric syndrome, the program with simultaneous use of vibrotherapy, chromotherapy, music therapy, aromatherapy, aeriionotherapy has priority.

**Keywords:** climacteric syndrome, metabolic syndrome, thyroid status, physical therapy modalities

**Author contribution:** Berihanova RR — collection and processing of materials, obtained data analysis, writing of the text; Minenko IA — study concept and design.

**Compliance with ethical standards:** the study was conducted according to international ethical requirements of WHO (GCP — Good Clinical Practice standard) and to Declaration of Helsinki: Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects; the study was approved by the Ethics Committee of I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (protocol No 01-13 dated January 23, 2013).

✉ **Correspondence should be addressed:** Rumisa R. Berihanova  
Severnnyy boulevard 1, Moscow, 127566; rumiska07@mail.ru

**Received:** 16.10.2018 **Accepted:** 29.03.2019 **Published online:** 11.04.2019

**DOI:** 10.24075/brsmu.2019.023

На этапе угасания функции яичников создаются условия для формирования полиморбидной патологии [1–3]. Зачастую женщина вступает в климактерий на фоне соматического неблагополучия, в частности, с метаболическим синдромом (МС), распространенность которого в общей популяции в развитых странах составляет 25–40% [4]. В период возрастного эстрогенодефицита частота встречаемости МС возрастает [5–7]. Инволюционные изменения в организме сопряжены также с увеличением частоты тиреопатий [8–10]. Нарушение функции щитовидной железы (ЩЖ) в перименопаузе встречается у 19,5% женщин, проживающих в йододефицитном регионе, причем наиболее часто выявляется гипотиреоз — 16,7% [11]. Наличие точек сопряжения в патогенетических цепях климактерия, МС и тиреоидопатий детерминирует усугубление обменно-эндокринных нарушений по принципу взаимного отягощения коморбидных состояний [12, 13]. В авангарде лечебных мероприятий, ориентированных на купирование возрастных нарушений, стоит менопаузальная гормональная терапия (МГТ) системного и местного действия [14]. Однако наличие противопоказаний к МГТ, прием большого количества медикаментов при коморбидной патологии, характерная для многих женщин гормонофобия исключают назначение эстрогенсодержащих препаратов [15]. Становится очевидной необходимость поиска действенных нелекарственных технологий, направленных на коррекцию обменно-эндокринных расстройств и поддержание достойного качества жизни у женщин с МС в пери- и постменопаузе. Целью работы было оценить влияние комплексных нелекарственных программ коррекции климактерических расстройств у пациенток с МС на структурно-функциональное состояние ЩЖ.

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Осуществляли клиническое обследование 330 женщин. Длительность наблюдения — шесть месяцев.

Методом рандомизации сформировали пять групп обследуемых (см. ниже). Каждую группу разделили на

две подгруппы в зависимости от уровня суммарного модифицированного менопаузального индекса (ММИ): подгруппа 1 — пациентки с климактерическим синдромом (КС) легкой степени тяжести, подгруппа 2 — пациентки с КС средней степени тяжести. Основная группа (А) — 60 женщин, у которых применяли лечебный комплекс «А»; первая группа сравнения (Б) — 59 женщин, у которых применялся комплекс «Б»; вторая группа сравнения (В) — 66 женщин, у которых применялся комплекс «В»; третья группа сравнения (Г) — 70 женщин, у которых применяли комплекс «Г»; группа контроля (Д) — 75 женщин, у которых применяли комплекс «Д» (табл. 1). На этапе оценки гормонального фона в динамике было целесообразным разделить подгруппы на подподгруппы в соответствии с периодом жизни женщины: «период менопаузального перехода» («П») и «постменопауза» («М»).

Группы не имели статистически достоверных различий по возрасту, социальному статусу, уровню образования, региону проживания, спектру генитальной и экстрагенитальной патологии.

Критерии включения: женщины 45–50 лет (средний возраст  $47,2 \pm 3,2$  лет), находящиеся в периоде менопаузального перехода или ранней естественной постменопаузы (до двух лет); наличие исходно МС, диагностированного согласно рекомендациям экспертов Всероссийского научного общества кардиологов по диагностике и лечению метаболического синдрома (второй пересмотр, 2009); давность МС от двух до пяти лет; наличие КС легкой и средней степени тяжести, типичная осложненная форма (на фоне МС); отсутствие приема МГТ в анамнезе; отсутствие исходно нарушений функции ЩЖ.

Критерии невключения: наличие грубых психических расстройств, алкогольной и наркотической зависимостей, острых заболеваний сердечно-сосудистой системы, острых воспалительных заболеваний, кровотечений и склонности к ним, злокачественных или неверифицированных новообразований, опухолей в стадии роста или в состоянии, требующем хирургического лечения; признаки тяжелой органической недостаточности; наличие исходно нарушений

Таблица 1. Количество пациенток и применяемые методы лечения в группах

		Основная группа (А), <i>n</i> = 60		Первая группа сравнения (Б), <i>n</i> = 59		Вторая группа сравнения (В), <i>n</i> = 66		Третья группа сравнения (Г), <i>n</i> = 70		Группа контроля (Д), <i>n</i> = 75	
Численность подгруппы 1	П	32	17	30	17	34	18	36	19	38	20
	М		15		13		16		17		18
Численность подгруппы 2	П	28	13	29	15	32	17	34	18	37	20
	М		15		14		15		16		17
Применяемые методы		Комплекс «А»		Комплекс «Б»		Комплекс «В»		Комплекс «Г»		Комплекс «Д»	
		Базовое лечение		Базовое лечение		Базовое лечение		Базовое лечение		Базовое лечение	
		лечебная физкультура		лечебная физкультура		лечебная физкультура		лечебная физкультура		–	
		питьевая бальнеотерапия		питьевая бальнеотерапия		питьевая бальнеотерапия		питьевая бальнеотерапия		–	
		дополнительный пероральный прием поливитаминов и минералов		дополнительный пероральный прием поливитаминов и минералов		дополнительный пероральный прием поливитаминов и минералов		дополнительный пероральный прием поливитаминов и минералов		–	
		вибротерапия, полноспектрная и селективная хромотерапия, мелотерапия, ароматерапия, аэроионотерапия		вибротерапия, – – – мелотерапия, ароматерапия, аэроионотерапия		– полноспектрная и селективная хромотерапия, мелотерапия, ароматерапия, аэроионотерапия		–		–	

функции ЦЖ по данным гормонального обследования; наличие дисбактериоза кишечника 3-й степени; наличие сахарного диабета; наличие вагинита.

Критерии исключения: индивидуальная непереносимость физических факторов; индивидуальная непереносимость компонентов витаминно-минерального средства. Таких пациенток не оказалось.

Базовое лечение применяли во всех группах. Оно включало в себя нормализацию образа жизни и сна, диетотерапию, повышение физической активности. Компоненты лечения контролировали сами пациентки. Принципы лечения: персонализированный подход, заключающийся в индивидуальном расчете основного обмена, выполнении физических упражнений в зоне комфорта для каждой пациентки, температурном режиме также в зоне комфорта пациенток, проведении при гипертонической болезни антигипертензивной терапии; диетотерапии в течение всего времени наблюдения; коррекции образа жизни (все участницы исследования были мотивированы на отказ от курения). Курящих женщин оказалось в основной группе 12 (20,0%), в первой группе сравнения — 11 (18,6%), во второй группе сравнения — 14 (21,2%), в третьей группе сравнения — 14 (20,0%), в группе контроля — 16 (21,3%). Из них 6 (10,0%) женщин основной группы, 5 (8,5%) женщин первой группы сравнения, 6 (9,1%) женщин второй группы сравнения, 7 (10,0%) женщин третьей группы сравнения и 7 (9,3%) женщин группы контроля выкуривали более 10 сигарет в день. Перечисленные пациентки либо отказались от курения, либо снизили количество выкуриваемых в день сигарет до пяти. Среди пациенток не было тех, кто до включения в исследование постоянно принимал антигипертензивные препараты. При постановке кардиологом диагноза артериальной гипертензии в период проведения исследования пациентки получали стандартную антигипертензивную терапию — моксонидин (Физиотенз) 200 мкг внутрь 1 раз/сут. (Приказ Министерства здравоохранения РФ от 9 ноября 2012 г. № 708н «Об утверждении стандарта первичной медико-санитарной помощи при первичной артериальной гипертензии (гипертонической болезни)»). Антигипертензивную терапию в основной группе получали 11 (34,4%) пациенток подгруппы А1 и 13 (46,4%) пациенток подгруппы А2; в первой группе сравнения — 11 (36,7%) пациенток подгруппы Б1 и 14 (48,3%) пациенток подгруппы Б2; во второй группе сравнения — 12 (35,3%) пациенток подгруппы В1 и 15 (46,9%) пациенток подгруппы В2; в третьей группе сравнения — 13 (36,1%) пациенток подгруппы Г1 и 16 (47,1%) пациенток подгруппы Г2; в группе контроля — 14 (36,8%) пациенток подгруппы Д1 и 17 (46,0%) пациенток подгруппы Д2. Из них в основной группе за время наблюдения только у одной пациентки (3,6%) подгруппы А2 возникла необходимость в двукратном увеличении суточной дозы моксонидина (с 200 до 400 мкг), во вторых подгруппах первой, второй и третьей групп сравнения таких пациенток было 2 (6,9%), 3 (9,4%) и 3 (8,8%) соответственно. В группе контроля в подгруппе Д2 потребовалось увеличить дозу моксонидина у 4 (10,8%) пациенток, причем у одной из них — до 600 мкг/сут.

### Базовое лечение

Базовое лечение проводили в течение всего времени наблюдения. *Диетотерапия.* Для вычисления индивидуальной суточной потребности в калориях рассчитывали величину

основного обмена по формуле, рекомендованной ВОЗ:  $ОО = (0,0342 \cdot M + 3,5377) \cdot 240$ , где ОО — величина основного обмена (ккал), М — масса тела (кг). Затем определяли суммарный расход энергии с поправкой на коэффициент физической активности:  $\mathcal{E} = K \cdot ОО$ , где  $\mathcal{E}$  — суммарный расход энергии (ккал), К — поправочный коэффициент (1,1 — низкая, 1,3 — умеренная, 1,5 — высокая активность), ОО — величина основного обмена (ккал). Для постепенного снижения массы тела составляли диету с пониженной энергетической ценностью, отнимая от суммарного расхода энергии 600 ккал. Рекомендовали дробный прием пищи 5–6 раз/сут. порциями небольшого объема в одно и то же время. В рацион включали продукты, содержащие сложные углеводы (злаки, фрукты, овощи), богатые пищевыми волокнами; ограничивали употребление простых углеводов, насыщенных жиров, соли (до 3 г/сут.), не допускали кофе, алкоголь. *Физические нагрузки* рекомендовали с учетом состояния здоровья и переносимости. Предлагали ежедневную ходьбу на свежем воздухе в течение 30 мин. Помимо отказа от курения всех пациенток мотивировали на соблюдение режима труда и отдыха.

### Лечебная физкультура

Применяли в течение всего времени наблюдения. Проводили ежедневную утреннюю (продолжительностью 10–15 мин) гигиеническую гимнастику в виде комплекса упражнений, направленных на улучшение общего тонуса сердечно-сосудистой системы и снятие мышечного гипертонуса, а также ежедневную тренировку мышц тазового дна (гимнастику Кегеля), ориентированную на укрепление периуретральных и перивагинальных мышц, анального сфинктера, увеличение функционального объема мочевого пузыря без участия брюшных, ягодичных и бедренных мышц [16].

### Питьевая бальнеотерапия

Курс бальнеотерапии проводили с самого начала исследования, повторяли его через три месяца. Длительность каждого курса составляла четыре недели. Прописывали прием внутрь минеральной воды «Ессентуки № 4» в объеме 180–300 мл (3 мл на 1 кг массы тела) комнатной температуры за 30 мин до основных приемов пищи (3 раза в день).

### Дополнительный пероральный прием поливитаминов и минералов

Предписывали прием перорально комбинации витаминов и минералов: 22 сбалансированных компонента, в том числе йод в форме калия йодида в количестве 225 мкг (Менопейс® (Menopace®) регистрационный номер № П N015844/01) (Vitabiotics Ltd; Великобритания) и кальция карбонат с колекальциферолом (витамин D3) (Кальций-Д3 Никомед (Calcium-D3 Nycomed), регистрационный номер № П N013478/01) (Nycomed Pharma; Норвегия). Менопейс® принимали ежедневно по 1 капсуле во время или после еды. Курс лечения составил шесть месяцев. Кальций-Д3 Никомед, содержащий кальция карбонат 1250 мг (эквивалентно 500 мг элементарного кальция) и колекальциферол (витамин D3) 5 мкг (200 МЕ), принимали внутрь по 1 таблетке два раза в день в течение одного месяца, повторный курс — через три месяца.

## Физиотерапия

Для комплексного оздоровительного воздействия использовали возможности мультифакторной физиотерапевтической установки Spectra Color SPA System (Sybaritic Inc., USA, регистрационное удостоверение МЗ РФ № 97/532 от 22 мая 1997 г.). При комбинировании физических факторов и процедур учитывали их совместимость в соответствии с приложением «Перечня необходимых медицинских услуг и процедур, отпускаемых в специализированных санаториях больному по профилю его заболевания. Методические указания» (утвержден Министерством здравоохранения РФ 22 декабря 1999 г., № 99/229). Осуществляли точное дозирование каждого воздействующего фактора по степени интенсивности и времени воздействия. *Общую вибротерапию* осуществляли в течение 15 мин: с помощью вмонтированных в ложе капсулы передатчиков многоточечной вибрации создавался эффект ручного массажа, оказывающего обезболивающее и релаксирующее действие, а также способствующего быстрому снятию утомления и восстановлению работоспособности мышц. Применяли режим вибрации с меняющейся частотой от 10 до 60 Гц и нарастающей амплитудой до 7 мм, частота вибрации нарастала в течение 8–10 с. *Полноспектровую хромотерапию* осуществляли в течение 30 мин, длина волны от 760 до 400 нм. Применяли *селективную хромотерапию* (использовали зеленый свет в течение 30 мин, длина волны 530 нм). Посредством стереозвуковой системы с CD-плеером осуществляли пассивную (рецептивную) *мелотерапию* с использованием релаксирующих мелодий в течение 30 мин. Для проведения *ароматерапии* через четырехканальную систему внутри капсулы распыляли ароматические масла: лаванды (*Lavandula officinalis*) и фенхеля обыкновенного (*Foeniculum vulgare*). Применяли *аэроионотерапию* (обдув лица ионизированным прохладным воздухом с преобладанием отрицательных ионов) в течение 30 мин. Сеансы в условиях физиотерапевтической установки Spectra Color SPA System проводили два раза в неделю в течение 30 мин, курс состоял из 10 сеансов. Повторный курс провели через три месяца. Всего за время наблюдения осуществили 20 процедур.

## Методы измерений

Оценку степени выраженности климактерических нарушений проводили по ММИ Куппермана (версия Е. В. Уваровой, 1983) [17]. На автоматическом иммуноферментном анализаторе NEXgen (Adaltis S.r.l.; Италия) в сыворотке крови с использованием реактивов для гормональной диагностики («Алкор Био»; Россия) определяли уровни тиреотропного гормона (ТТГ) (референсные показатели: 0,23–3,4 мкМЕ/мл) и свободного тироксина ( $T_4_{св}$ ) (референсные показатели:

9,5–22,6 ммоль/л). Ультразвуковое исследование ЩЖ проводили на многофункциональной системе экспертного класса MyLab 70 (Esaote; Италия) линейным датчиком 4–13 МГц с цветным доплеровским картированием. При эхографии ЩЖ оценивали размеры и структуру железы, а также наличие, размеры и тип кровотока узлов.

## Методы статистического анализа данных

Размер выборки предварительно не рассчитывали. Статистический анализ результатов исследования осуществляли с использованием стандартного пакета программы STATISTICA® for Windows 6.0 (StatSoft Inc; США). Количественные показатели представили в виде количества случаев ( $n$ ), средней ошибки средней арифметической ( $m$ ). Достоверность различий средних значений определяли по  $t$ -критерию Стьюдента. Сравнение относительных показателей, характеризующих частоту определенного признака, — непараметрическим методом по критерию  $\chi^2$  Пирсона. Различия считали статистически достоверными при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Структурные изменения со стороны ЩЖ по данным эхографии чаще встречались у женщин с КС средней степени тяжести, чем легкой: 105 (65,7%) и 90 (52,9%) женщин соответственно ( $p < 0,05$ ). Структура отклонений по данным эхографии ЩЖ обследованных отражена в табл. 2.

Через шесть месяцев наблюдения по данным эхографии у двух пациенток подгруппы Д2-М (группа контроля) впервые диагностировали узловое образование. В остальных группах количество пациенток со структурными изменениями ЩЖ по данным эхографии осталось неизменным.

У большинства пациенток исходно ЩЖ имела нормальные размеры. Эхографический контроль осуществляли после шести месяцев лечения. В табл. 3 представлены средние значения объема железы в подгруппах обследованных в динамике — до лечения и через шесть месяцев терапии. Особо отметим, что у пациенток с КС средней степени тяжести объем ЩЖ был достоверно выше, чем у пациенток с легкой степенью КС. Через шесть месяцев терапии средний объем ЩЖ достоверно уменьшился у пациенток с КС легкой степени тяжести в подгруппах А1, Б1 и В1 — соответственно на 11,3%, 7,2% и 7,6% ( $p < 0,05$  при сравнении с показателями до лечения;  $p > 0,05$  при сравнении показателей между подгруппами). Среди пациенток с КС средней степени тяжести достоверное снижение среднего объема ЩЖ обнаружили только в подгруппе А2 — на 10,7% ( $p < 0,05$ ). В подгруппах 2 всех трех групп сравнения отмечено некоторое снижение объема ЩЖ, но оно не было достоверным. Привлекла

Таблица 2. Структурные изменения щитовидной железы в группах обследованных по данным ультразвукового исследования

Характер изменений	Основная группа, $n = 36$ , абс (%)		Первая группа сравнения, $n = 34$ , абс (%)		Вторая группа сравнения, $n = 39$ , абс (%)		Третья группа сравнения, $n = 41$ , абс (%)		Группа контроля, $n = 45$ , абс (%)	
	А1, $n = 17$	А2, $n = 19$	Б1, $n = 16$	Б2, $n = 18$	В1, $n = 18$	В2, $n = 21$	Г1, $n = 18$	Г2, $n = 23$	Д1, $n = 21$	Д2, $n = 24$
Диффузные изменения	5 (29,4)	5 (26,3)	5 (31,3)	6 (33,3)	6 (33,3)	7 (33,3)	6 (33,3)	8 (34,8)	7 (33,3)	8 (33,3)
Узловые образования	6 (35,3)	7 (36,8)	5 (31,3)	6 (33,3)	5 (27,8)	6 (28,6)	6 (33,3)	7 (30,4)	6 (28,6)	7 (29,2)
Сочетанные изменения	6 (35,3)	7 (36,8)	6 (37,5)	6 (33,3)	7 (38,9)	8 (38,1)	6 (33,3)	8 (34,8)	8 (38,1)	9 (37,5)

внимание тенденция к увеличению данного показателя в подгруппах Д1 и Д2 группы контроля, но изменения не были статистически значимыми ( $p > 0,05$ ).

К моменту начала исследования у пациенток всех групп отсутствовали нарушения функции ЩЖ — средние значения  $T4_{cb}$ , ТТГ находились в пределах референсных интервалов, однако у участниц исследования с КС средней степени тяжести уровень  $T4_{cb}$  был ниже, а уровень ТТГ — выше соответствующих показателей пациенток с КС легкой степени тяжести. Кроме того, было замечено, что у пациенток в периоде ранней постменопаузы уровень  $T4_{cb}$  был ниже, а уровень ТТГ — выше в сравнении с пациентками в периоде менопаузального перехода ( $p < 0,05$ ). По истечении шести месяцев лечения средние значения ТТГ и  $T4_{cb}$  во всех подгруппах соответствовали эутиреоидному состоянию. Вместе с тем через шесть месяцев терапии субклинический гипотиреоз был выявлен у одной (6,3%) пациентки подподгруппы Г2-М, а в группе контроля продемонстрировано наибольшее увеличение частоты гипотиреоза — его наблюдали у 2 (11,1%) пациенток подподгруппы Д1-М, у 3 (16,7%) пациенток подподгруппы Д2-П и у 4 (23,5%) пациенток подподгруппы Д2-М.

Динамика изменений уровней ТТГ и  $T4_{cb}$  в группах обследованных представлена в табл. 4. Через шесть месяцев терапии во всех подподгруппах основной группы уровень ТТГ достоверно снизился — в А1-П на 10,0%, в А2-П — на 6,5%, в А1-М — на 7,3%, в А2-М — на 5,6% ( $p < 0,05$ ), а уровень  $T4_{cb}$  увеличился соответственно на 8,1%, 6,5%, 7,7%, 6,6% ( $p < 0,05$ ). Достоверное снижение ТТГ и повышение  $T4_{cb}$  продемонстрировали также пациентки в периоде менопаузального перехода с КС легкой степени тяжести первой и второй групп сравнения: в подподгруппе В1-П уровень ТТГ снизился на 5,1%, в подподгруппе В1-П — на 8,8%, а уровень  $T4_{cb}$  увеличился соответственно на 6,5% и 7,1% ( $p < 0,05$ ). Необходимо отметить, что статистически значимых различий между подгруппами А1-П, В1-П и В1-П не было. В остальных подгруппах групп сравнения отмечено некоторое снижение уровня ТТГ и увеличение уровня  $T4_{cb}$ , однако изменения показателей относительно исходных не были достоверными. Во всех подгруппах группы контроля отмечено снижение уровня  $T4_{cb}$  и повышение уровня ТТГ, причем в подподгруппах Д2-П, Д1-М и Д2-М изменения были статистически значимыми: соответственно уровень ТТГ увеличился на 5,5%, 5,6% и 6,3%, а уровень  $T4_{cb}$  регрессировал на 4,4%, 5,1% и 7,8% ( $p < 0,05$ ), что свидетельствовало о снижении функции ЩЖ.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Нами выявлена высокая частота структурных изменений со стороны ЩЖ по результатам УЗИ у женщин с МС, причем у женщин с КС средней степени тяжести эхографические

отклонения в структуре ЩЖ встречались чаще, чем с КС легкой степени тяжести. По данным литературы, у женщин в пери- и постменопаузе в 2–2,5 раза увеличивается встречаемость патологии ЩЖ [18]. Указывается на более высокую встречаемость патологии ЩЖ у больных с МС в сравнении с лицами, не страдающими МС [19, 20]. Полученные нами результаты говорят о снижении у женщин функции ЩЖ с возрастом, что согласуется с данными литературы [21].

Терапевтические программы формировали с учетом механизма действия каждого применяемого фактора и патогенеза нарушений, характерных для КС и МС. Основой программ были диета и нормализация образа жизни, что соответствует как рекомендациям экспертов Всероссийского научного общества кардиологов по диагностике и лечению метаболического синдрома (2009) [22], так и рекомендациям Российского общества акушеров-гинекологов по ведению женщин в климактерии (2016) [23].

Применение питьевых минеральных вод обосновано их стимулирующим влиянием на метаболизм за счет улучшения функциональных взаимодействий в энтероинсулярной системе, повышения чувствительности тканей к инсулину, усиления утилизации глюкозы печенью, активации ферментов антиоксидантной защиты. Питьевая бальнеотерапия является патогенетически оправданной у пациенток с МС и КС. Показано, что использование ее в комплексных программах реабилитации при сочетанной патологии у пациентов с МС нормализует углеводный и жировой обмен [24].

Необходимость приема витаминов обусловлена выполнением ими роли биокатализаторов, антиоксидантов. Витамины участвуют в образовании гормонов, обладают способностью изменять чувствительность рецепторов к ним, тем самым способствуя нормальному функционированию эндокринной, нервной, сердечно-сосудистой систем организма женщины [25]. Значимость ежедневного адекватного потребления йода трудно переоценить. Йод необходим для синтеза трийодтиронина и тироксина, которые влияют на все виды обмена веществ, регулируют баланс половых гормонов [26]. О целесообразности йодной профилактики у женщин зрелого возраста также указано в литературе [27].

Применение низкочастотной вибротерапии обосновано ее способностью снижать сосудистый тонус, улучшать микроциркуляцию, трофику тканей за счет стимуляции механорецепторов кожи, первичных окончаний мышечных веретен, влияния на вегетативную нервную систему [28]. Использование полноспектральной хромотерапии и селективной (зеленого света) обусловлено их способностью координировать деятельность гипоталамо-гипофизарной системы и эндокринных желез за счет влияния на выработку мелатонина посредством воздействия на зрительный анализатор, экстраокулярную фотонейроэндокринную систему, кожу [29]. Мелотерапию включили в лечебный

Таблица 3. Средний объем щитовидной железы в группах обследованных ( $M \pm m$ , мл)

Точка контроля	Основная группа, $n = 60$		Первая группа сравнения, $n = 59$		Вторая группа сравнения, $n = 66$		Третья группа сравнения, $n = 70$		Группа контроля, $n = 75$	
	А1, $n = 32$	А2, $n = 28$	Б1, $n = 30$	Б2, $n = 29$	В1, $n = 34$	В2, $n = 32$	Г1, $n = 36$	Г2, $n = 34$	Д1, $n = 38$	Д2, $n = 37$
До лечения	16,69 ± 0,44	18,07 ± 0,50°	16,17 ± 0,42	18,14 ± 0,54°	16,26 ± 0,33	18,25 ± 0,54°	16,22 ± 0,29	18,21 ± 0,55°	16,29 ± 0,27	18,22 ± 0,51°
Через шесть месяцев лечения	14,81 ± 0,32#	16,14 ± 0,35#	15,0 ± 0,36#	17,79 ± 0,35*°	15,03 ± 0,28#	17,63 ± 0,28*°	15,78 ± 0,27*	17,85 ± 0,24*°	16,61 ± 0,34*	18,71 ± 0,28*°

Примечание: \* —  $p < 0,05$  по сравнению с показателями основной группы; # —  $p < 0,05$  по сравнению с показателями до лечения; ° —  $p < 0,05$  при сравнении показателей между подгруппами 1 и 2.

Таблица 4. Результаты гормонального исследования в группах обследованных (M ± m)

Подгруппа	ТТГ, мкМЕд/л (0,23–3,4 мкМЕ/мл)		Т <sub>4</sub> <sup>св</sup> , пмоль/л (9,5–22,6 ммоль/л)	
	До лечения	Через 6 месяцев лечения	До лечения	Через 6 месяцев лечения
Основная группа, n = 60				
A1-П, n = 17	2,61 ± 0,06	2,35 ± 0,05 <sup>#</sup>	13,81 ± 0,35	14,93 ± 0,34 <sup>#</sup>
A2-П, n = 13	2,76 ± 0,05 <sup>°</sup>	2,58 ± 0,03 <sup>#°*</sup>	12,59 ± 0,36 <sup>°</sup>	13,41 ± 0,30 <sup>°*</sup>
A1-М, n = 15	2,87 ± 0,04	2,66 ± 0,03 <sup>#</sup>	12,36 ± 0,18	13,31 ± 0,15 <sup>#</sup>
A2-М, n = 15	3,04 ± 0,04 <sup>°</sup>	2,87 ± 0,03 <sup>#°*</sup>	11,83 ± 0,16 <sup>°</sup>	12,61 ± 0,14 <sup>°*</sup>
Первая группа сравнения, n = 59				
B1-П, n = 17	2,55 ± 0,05	2,42 ± 0,04 <sup>#</sup>	13,83 ± 0,31	14,73 ± 0,38 <sup>#</sup>
B2-П, n = 15	2,78 ± 0,07 <sup>°</sup>	2,69 ± 0,03 <sup>#°*</sup>	12,61 ± 0,28 <sup>°</sup>	13,03 ± 0,20 <sup>°*</sup>
B1-М, n = 13	2,90 ± 0,04	2,75 ± 0,4 <sup>#</sup>	12,28 ± 0,17	13,11 ± 0,13 <sup>#</sup>
B2-М, n = 14	3,01 ± 0,04 <sup>°</sup>	2,90 ± 0,04 <sup>#°*</sup>	11,87 ± 0,11 <sup>°</sup>	12,2 ± 0,09 <sup>#°*</sup>
Вторая группа сравнения, n = 66				
V1-П, n = 18	2,61 ± 0,02	2,38 ± 0,03 <sup>#</sup>	13,88 ± 0,20	14,86 ± 0,20 <sup>#</sup>
V2-П, n = 17	2,76 ± 0,05 <sup>°</sup>	2,71 ± 0,03 <sup>#°*</sup>	12,68 ± 0,19 <sup>°</sup>	12,86 ± 0,16 <sup>°*</sup>
V1-М, n = 16	2,85 ± 0,02	2,73 ± 0,02 <sup>#</sup>	12,34 ± 0,11	13,19 ± 0,07 <sup>#</sup>
V2-М, n = 15	3,03 ± 0,02 <sup>°</sup>	2,96 ± 0,03 <sup>#°*</sup>	11,88 ± 0,11 <sup>°</sup>	12,13 ± 0,09 <sup>#°*</sup>
Третья группа сравнения, n = 70				
G1-П, n = 19	2,64 ± 0,02	2,51 ± 0,03 <sup>#*</sup>	13,75 ± 0,18	14,01 ± 0,16 <sup>*</sup>
G2-П, n = 18	2,77 ± 0,06 <sup>°</sup>	2,75 ± 0,03 <sup>#°*</sup>	12,69 ± 0,16 <sup>°</sup>	12,8 ± 0,15 <sup>#°*</sup>
G1-М, n = 17	2,86 ± 0,02	2,77 ± 0,02 <sup>#*</sup>	12,36 ± 0,10	12,48 ± 0,08 <sup>*</sup>
G2-М, n = 16	3,01 ± 0,02 <sup>°</sup>	2,99 ± 0,05 <sup>#°*</sup>	11,99 ± 0,10 <sup>°</sup>	12,11 ± 0,17 <sup>#°*</sup>
Группа контроля, n = 75				
D1-П, n = 20	2,62 ± 0,02	2,64 ± 0,03 <sup>*</sup>	13,72 ± 0,22	13,52 ± 0,23 <sup>*</sup>
D2-П, n = 20	2,74 ± 0,05 <sup>°</sup>	2,89 ± 0,06 <sup>#°*</sup>	12,63 ± 0,17 <sup>°</sup>	12,07 ± 0,33 <sup>#°*</sup>
D1-М, n = 18	2,86 ± 0,02	3,02 ± 0,07 <sup>#*</sup>	12,36 ± 0,09	11,73 ± 0,24 <sup>#*</sup>
D2-М, n = 17	3,01 ± 0,02 <sup>°</sup>	3,20 ± 0,07 <sup>#°*</sup>	11,91 ± 0,10 <sup>°</sup>	10,98 ± 0,28 <sup>#°*</sup>

Примечание: \* —  $p < 0,05$  по сравнению с показателями основной группы; # —  $p < 0,05$  по сравнению с показателями до лечения; ° —  $p < 0,05$  при сравнении показателей между подгруппами 1 и 2.

комплекс ввиду наличия седативного эффекта, реализуемого за счет ритмичного воздействия мелодий на различные отделы головного мозга. Показано, что она повышает эффективность комплексной терапии больных с сердечно-сосудистой патологией [30]. Использование ароматерапии обосновано ее способностью регулировать функционирование эндокринной системы, снижать последствия психоэмоционального стресса посредством воздействия на обонятельную сенсорную систему [31]. Аэроионотерапию включили в программу с учетом таких реализуемых рефлексорным путем биологических эффектов отрицательных аэроионов, как стабилизация процессов вегетативной регуляции, благоприятное воздействие на сердечно-сосудистую, эндокринную системы.

Таким образом, в нашем исследовании для сохранения структуры и поддержания нормальной функции ЩЖ у пациенток с КС и МС потребовались комплексные программы, включающие физиотерапевтическое воздействие — комплексы А, Б и В. Для пациенток с КС среднетяжелого течения для поддержания функционирования гипоталамо-тиреоидной системы выявлена необходимость сочетанного применения всего ряда физиотерапевтических факторов (вибротерапия, хромотерапия, мелотерапия, ароматерапия, аэроионотерапия — комплекс А). Обнаружено, что стандартный подход не позволяет снизить частоту развития тиреопатий.

Положительное воздействие на тиреоидный статус применяемых программ мы объясняем снижением нагрузки на ЩЖ в результате регресса массы тела [32], профилактическим действием йодсодержащего витаминно-минерального средства, улучшением микроциркуляции как суммарным эффектом преформированных физических факторов (вибротерапии, хромотерапии, мелотерапии, аэроионотерапии, ароматерапии), который усиливается при их одновременном применении, что особенно значимо для пациенток с КС средней степени тяжести.

## ВЫВОДЫ

Применение комплексных программ, включающих физиотерапевтическое воздействие, обладает протективным влиянием на тиреоидный статус у пациенток с КС и МС. Для пациенток с КС средней степени тяжести приоритетны программы с одновременным использованием вибротерапии, хромотерапии, мелотерапии, ароматерапии, аэроионотерапии.

Разработанную комплексную лечебную немедикаментозную технологию можно применять в практическом здравоохранении в стационарных, амбулаторно-поликлинических, санаторно-курортных условиях, в центрах восстановительной медицины и реабилитации.

## Литература

1. Красникова Н. В., Шеметова Г. Н. Соматическая патология у женщин в различные декады климактерического периода. Бюллетень медицинских интернет-конференций. 2013; 3 (3): 537–39.
2. Чазова И. Е., Сметник В. П., Балан В. Е., Зайдиева Я. З., Майчук Е. Ю., Мычка В. Б. и др. Ведение женщин с сердечно-сосудистым риском в пери- и постменопаузе: консенсус российских кардиологов и гинекологов. *Consilium medicum*. 2008; 1 (6): 5–18.
3. Консенсус Экспертов по междисциплинарному подходу к ведению, диагностике и лечению больных с метаболическим синдромом. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2013; 12 (6): 41–81.
4. Ляшук Р. П., Ляшук П. М. Метаболический синдром как междисциплинарная проблема (обзор литературы). *Международный эндокринологический журнал*. 2017; 13 (7): 499–502.
5. Халмухамедов Б. Т. Метаболический синдром у женщин в зависимости от продолжительности менопаузы. *Евразийский кардиологический журнал*. 2017; (3): 10.
6. Шишкин А. Н., Худякова Н. В., Смирнов В. В. Менопаузальный метаболический синдром. Современные представления. *Вестник СПбГУ. Серия 11. Медицина*. 2013; (2): 17–27.
7. Николенко Л. А., Алёхин Д. И., Николенко Е. С. Постменопауза, метаболический синдром и ИБС (обзор литературы). *Проблемы репродукции*. 2015; 21 (3): 117–121.
8. Uygur MM, Yoldemir T, Yavuz DG. Thyroid disease in the perimenopause and postmenopause period. *Climacteric*. 2018; 21 (6): 542–548. DOI: 10.1080/13697137.2018.1514004.
9. Panda S, Das A. Analyzing Thyroid Dysfunction in the Climacteric. *J Midlife Health*. 2018; 9 (3): 113–116. DOI: 10.4103/jmh.JMH\_21\_18.
10. Глембоцкая Г. Т., Захарова А. С. Обоснование необходимости и возможностей оптимизации фармацевтической помощи женщинам с патологией щитовидной железы. *Фармация и фармакология*. 2015; 3 (4): 37–42.
11. Дерябина Е. Г., Башмакова Н. В. Функциональное состояние щитовидной железы в перименопаузальный период у женщин, проживающих в йододефицитном регионе. *Клиническая и экспериментальная тиреоидология*. 2007; 3 (3): 46–49.
12. Руюткина Л. А., Руюткин Д. С. Интегральный сердечно-сосудистый риск: метаболический синдром и дисфункция щитовидной железы. *Сибирское медицинское обозрение*. 2010; 64 (4): 11–16.
13. Мадянов И. В., Кичигин В. А., Маркова Т. Н., Семакина С. М., Башкова И. Б. Особенности функционального состояния коры надпочечников и щитовидной железы при метаболическом синдроме. *Ожирение и метаболизм*. 2011; (3): 46–50.
14. De Villiers TJ, Gass MLS, Haines CJ, Hall JE, Lobo RA, Pieroz DD et al. Global Consensus Statement on Menopausal Hormone Therapy. *Climacteric*. 2013; (16): 203–204.
15. Доброхотова Ю. Э., Сапрыкина Л. В. Тофизопам: возможность негормональной терапии нейровегетативных и психоэмоциональных нарушений при климактерическом синдроме. *Медицинский совет*. 2017; (2): 88–91.
16. Kegel A. Stress Incontinence and Genital Relaxation: A non-surgical Method of Increasing the Tone of Sphincters and Supporting Structures. *CIBA Symposium*; 1952.
17. Сметник В. П. *Медицина климактерия*. Ярославль: Литера, 2006. 848 с.
18. Красникова Н. В., Шеметова Г. Н. Коморбидная патология у женщин в климактерическом периоде. *Проблемы женского здоровья*. 2013; 8 (2): 31–35.
19. Поркшеян К. А. Выявляемость поражений щитовидной железы у больных метаболическим синдромом и сахарным диабетом 2 типа по данным ультразвукового исследования. *Кардиоваскулярная терапия и профилактика*. 2011; 4 (1): 22–23.
20. Канавец Н. С., Левина Л. И., Василенко В. С., Карповская Е. Б., Рыбка Т. Г., Иванов С. Н. Структурно-функциональное состояние артерий у женщин с метаболическим синдромом, ассоциированным с аутоиммунным тиреоидитом. *Педиатр*. 2016; 17 (4): 90–95.
21. Дерябина Е. Г., Башмакова Н. В. Распространенность и структура тиреопатий после естественной и хирургической менопаузы у женщин 45–55 лет в регионе с легким дефицитом йода. *Уральский медицинский журнал*. 2008; 12 (52): 24–27.
22. Рекомендации экспертов Всероссийского научного общества кардиологов по диагностике и лечению метаболического синдрома (второй пересмотр). *Практическая медицина*. 2010; 5 (44): 81–101.
23. Клинические рекомендации Министерства здравоохранения Российской Федерации «Менопауза и климактерическое состояние у женщины», 2016: Российское общество акушеров-гинекологов, Российская ассоциация по менопаузе. <https://bz.medvestnik.ru/nosology/Menopauza-i-klimaktericheskoe-sostoyanie-u-jenshiny.html>
24. Жернов В. А., Фролков В. К., Зубаркина М. М. Механизмы лечебного действия акупунктуры и питьевых минеральных вод при метаболическом синдроме. *Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры*. 2017; 94 (2): 36–41. DOI: 10.17116/kurort201794236-41.
25. Ших Е. В., Махова А. А. Клинико-фармакологические аспекты использования в климактерический период гормоноподобных эффектов микронутриентов. *Медицинский совет*. 2016; (2): 68–73.
26. Бегалиев Ш. С., Абдуллабекова Р. М. Биологическая роль йода в организме человека. *Актуальные проблемы современности*. 2017; (2): 201–204.
27. Дерябина Е. Г., Башмакова Н. В. Новые случаи заболеваний щитовидной железы у женщин в постменопаузальный период. *Уральский медицинский журнал*. 2009; 3 (57): 103–107.
28. Иванов И. В. Влияние вибро-термо-ароматерапии на организм пожилого человека в процессе лечения сочетанных патологий сердечно-сосудистой системы и опорно-двигательного аппарата. В сборнике: Котельников Г. П., Захарова Н. О., редакторы. *Клинические и фундаментальные аспекты геронтологии*. Самара: Самар. гос. мед. ун-т, 2015. С.160.
29. Боголюбов В. М., редактор. *Физиотерапия и курортология*. Книга 1. М.: БИНОМ. Лаборатория знаний, 2015. С. 381–392.
30. Якупов Э. З., Налбат А. В., Семёнова М. В., Тлегинова К. А. Эффективность музыкотерапии в реабилитации больных инсультом. *Журнал неврологии и психиатрии*. 2017; 117 (5): 14–21. DOI: 10.17116/jnevro2017117514-21.
31. Шутова С. В. Ароматерапия: физиологические эффекты и возможные механизмы (обзор литературы). *Вестник Тамбовского университета. Серия: Естественные и технические науки*. 2013; 4 (1): 1330–1336.
32. Бериханова Р. Р., Миненко И. А. Антропометрические показатели у пациенток с метаболическим синдромом и климактерическими расстройствами: влияние нелекарственной коррекции. *Новая наука: от идеи к результату*. 2016; 8–2 (96): 18–20.

## References

1. Krasnikova NV, Shemetova GN. Somaticheskaya patologiya u zhenshchin v razlichnye dekady klimaktericheskogo perioda. *Byulleten' medicinskih internet-konferencij*. 2013; 3 (3): 537–539. Russian.
2. Chazova IE, Smetnik VP, Balan VE, Zajdieva YaZ, Majchuk EYu, Mychka VB i dr. Vedenie zhenshchin s serdechno-sosudistym riskom v peri- i postmenopauze: konsensus rossijskih kardiologov i ginekologov. *Consilium medicum*. 2008; 1 (6): 5–18. Russian.

3. Konsensus Ehkspertov po mezhdisciplinarnomu podhodu k vedeniyu, diagnostike i lecheniyu bol'nyh s metabolicheskim sindromom. *Kardiovaskulyarnaya terapiya i profilaktika*. 2013; 12 (6): 41–81.
4. Lyashuk RP, Lyashuk PM. Metabolicheskij sindrom kak mezhdisciplinarnaya problema (obzor literatury). *Mezhdunarodnyj ehndokrinologicheskij zhurnal*. 2017; 13 (7) : 499–502. Russian.
5. Halmuhamedov BT. Metabolicheskij sindrom u zhenshchin v zavisimosti ot prodolzhitel'nosti menopauzy. *Evrazijskij kardiologicheskij zhurnal*. 2017; (3): 10. Russian.
6. Shishkin AN, Hudyakova NV, Smirnov VV. Menopauzal'nyj metabolicheskij sindrom. *Sovremennye predstavleniya. Vestnik SPbGU. Seriya 11. Medicina*. 2013; (2): 17–27. Russian.
7. Nikolenko LA, Alyohin DI, Nikolenko ES. Postmenopauza, metabolicheskij sindrom i IBS (obzor literatury). *Problemy reprodukcii*. 2015; 21 (3): 117–121. Russian.
8. Uygur MM, Yoldemir T, Yavuz DG. Thyroid disease in the perimenopause and postmenopause period. *Climacteric*. 2018; 21 (6): 542–548. DOI: 10.1080/13697137.2018.1514004.
9. Panda S, Das A. Analyzing Thyroid Dysfunction in the Climacteric. *J Midlife Health*. 2018; 9 (3): 113–116. DOI: 10.4103/jmh.JMH\_21\_18.
10. Glembockaya GT, Zaharova AS. Obosnovanie neobходимosti i vozmozhnostej optimizacii farmaceuticheskoy pomoshchi zhenshchinam s patologiej shchitovidnoj zhelezy. *Farmaciya i farmakologiya*. 2015; 3 (4): 37–42. Russian.
11. Deryabina EG, Bashmakova NV. Funkcional'noe sostoyanie shchitovidnoj zhelezy v perimenopauzal'nyj period u zhenshchin, prozhivayushchih v jododeficitnom regione. *Klinicheskaya i ehksperimental'naya tireoidologiya*. 2007; 3 (3): 46–49. Russian.
12. Ruyatkina LA, Ruyatkin DS. Integral'nyj serdechno-sosudistyj risk: metabolicheskij sindrom i disfunkciya shchitovidnoj zhelezy. *Sibirskoe medicinskoe obozrenie*. 2010; 64 (4): 11–16. Russian.
13. Madyanov IV, Kichigin VA, Markova TN, Semakina SM, Bashkova IB. Osobennosti funkcional'nogo sostoyaniya kory nadpochechnikov i shchitovidnoj zhelezy pri metabolicheskom sindrome. *Ozhirenie i metabolizm*. 2011; (3): 46–50. Russian.
14. De Villiers TJ, Gass MLS, Haines CJ, Hall JE, Lobo RA, Pierroz DD et al. Global Consensus Statement on Menopausal Hormone Therapy. *Climacteric*. 2013; (16): 203–204.
15. Dobrohotova YuEh, Saprykina LV. Tofizopam: vozmozhnost' negormonal'noj terapii nejrovegetativnyh i psihohemotsional'nyh narushenij pri klimaktericheskom sindrome. *Medicinskij sovet*. 2017; (2): 88–91. Russian.
16. Kegel A. Stress Incontinence and Genital Relaxation: A non-surgical Method of Increasing the Tone of Sphincters and Supporting Structures. *CIBA Symposium*; 1952.
17. Cmetnik V. P. *Meditsina klimakteriya*. Yaroslavl': Litera, 2006. 848 s. Russian.
18. Krasnikova NV, Shemetova GN. Komorbidnaya patologiya u zhenshchin v klimaktericheskom periode. *Problemy zhenskogo zdorov'ya*. 2013; 8 (2): 31–35. Russian.
19. Porkshyan KA. Vyyavlyaemost' porazhenij shchitovidnoj zhelezy u bol'nyh metabolicheskim sindromom i saharnym diabetom 2 tipa po dannym ul'trazvukovogo issledovaniya. *Kardiovaskulyarnaya terapiya i profilaktika*. 2011; 4 (1): 22–23. Russian.
20. Kanavec NS, Levina LI, Vasilenko VS, Karpovskaya EB, Rybka TG, Ivanov SN. Strukturno-funkcional'noe sostoyanie arterij u zhenshchin s metabolicheskim sindromom, associirovannym s autoimmunnym tireoiditom. *Pediatr*. 2016; 17 (4): 90–95. Russian.
21. Deryabina EG, Bashmakova NV. Rasprostranennost' i struktura tireopatij posle estestvennoj i hirurgicheskoy menopauzy u zhenshchin 45–55 let v regione s legkim deficitom joda. *Ural'skij medicinskij zhurnal*. 2008; 12 (52): 24–27. Russian.
22. Rekomendacii ehkspertov Vserossijskogo nauchnogo obshchestva kardiologov po diagnostike i lecheniyu metabolicheskogo sindroma (vtoroj peresmotr). *Prakticheskaya medicina*. 2010; 5 (44): 81–101. Russian.
23. Klinicheskie rekomendacii Ministerstva zdravoohraneniya Rossijskoj Federacii «Menopauza i klimaktericheskoe sostoyanie u zhenshchiny», 2016: Rossijskoe obshchestvo akusherov-ginekologov, Rossijskaya asociaciya po menopauze. <https://bz.medvestnik.ru/nosology/Menopauza-i-klimaktericheskoe-sostoyanie-u-jenshiny.html>. Russian.
24. Zhernov VA, Frolkov VK, Zubarkina MM. Mekhanizmy lechebnogo dejstviya akupunktury i pit'evyh mineral'nyh vod pri metabolicheskom sindrome. *Voprosy kurortologii, fizioterapii i lechebnoj fizicheskoy kul'tury*. 2017; 94 (2): 36–41. DOI: 10.17116/kurort201794236-41. Russian.
25. Shih EV, Mahova AA. Kliniko-farmakologicheskie aspekty ispol'zovaniya v klimaktericheskom periode gormonopodobnyh ehffektov mikonutrientov. *Medicinskij sovet*. 2016; (2): 68–73. Russian.
26. Begaliev ShS, Abdullabekova RM. Biologicheskaya rol' joda v organizme cheloveka. *Aktual'nye problemy sovremennosti*. 2017; 2: 201–204.
27. Deryabina EG, Bashmakova NV. Novye sluchai zabolevanij shchitovidnoj zhelezy u zhenshchin v postmenopauzal'nyj period. *Ural'skij medicinskij zhurnal*. 2009; 3 (57): 103–107. Russian.
28. Ivanova IV. Vliyanie vibro-termo-aromaterapii na organizm pozhilogo cheloveka v processe lecheniya sochetannyh patologij serdechno-sosudistoj sistemy i oporno-dvigatel'nogo apparata. V sbornike: Kotelnikov GP, Zakharova NO, redaktory. *Klinicheskie i fundamental'nye aspekty gerontologii*. Samara: Samar. gos. med. un-t, 2015. S160–163. Russian.
29. Bogolyubov VM, redaktor. *Fizioterapiya i kurortologiya*. Kniga 1. M.: BINOM. Laboratoria znanij, 2015. S381–392. Russian.
30. Yakupov EhZ, Nalbat AV, Semyonova MV, Tlegenova KA. Ehffektivnost' muzykoterapii v reabilitacii bol'nyh insul'tom. *Zhurnal nevrologii i psichiatrii*. 2017; 117 (5): 14–21. DOI: 10.17116/jnevro20171175114-21. Russian.
31. Shutova SV. Aromaterapiya: fiziologicheskie ehffekty i vozmozhnye mekhanizmy (obzor literatury). *Vestnik Tambovskogo universiteta. Seriya: Estestvennye i tekhnicheskie nauki*. 2013; 4 (1): 1330–6. Russian.
32. Berihanova RR, Minenko IA. Antropometricheskie pokazateli u pacientok s metabolicheskim sindromom i klimaktericheskimi rasstrojstvami: vliyanie nelekarstvennoj korrekcii. *Novaya nauka: Ot idei k rezul'tatu*. 2016; 8–2 (96): 18–20. Russian.

## НАУЧНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПРИМЕНЕНИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ АНТРОПОМЕТРИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ И БИОИМПЕДАНСНОГО АНАЛИЗА В КАЧЕСТВЕ КРИТЕРИЕВ ОЦЕНКИ ЭФФЕКТИВНОСТИ ОЗДОРОВЛЕНИЯ ДЕТЕЙ В ЛЕТНИХ ЛАГЕРЯХ

М. Ю. Гаврюшин ✉, О. В. Сазонова, Д. О. Горбачев, Л. М. Бородина, О. В. Фролова, Д. С. Тупикова

Самарский государственный медицинский университет, Самара, Россия

В современных условиях жизни высока доля детей с избыточной массой тела и ожирением. Очевидна необходимость оздоровления детей, способствующего коррекции пищевого статуса. На выполнение этой задачи направлена работа детских организаций отдыха и оздоровления, в том числе летних лагерей. Необходимы анализ различных методов оценки изменений пищевого статуса детей в течение лагерной смены и научное обоснование возможности применения результатов биоимпедансного анализа состава тела (БИА) и антропометрических измерений в качестве критериев оценки эффективности оздоровления детей в лагерях. Обследованы 125 мальчиков и 221 девочка в возрасте 8–15 лет, отдыхающие в трех детских лагерях. Исследования проводили в 2 этапа: на 1-й, 2-й дни заезда и за 2 дня до окончания лагерной смены. В каждой организации выявлены дети, у которых за период лагерной смены отмечена как положительная, так и отрицательная тенденция изменения массы тела. Общая тенденция к изменению массы тела среди детей в лагерях № 1 и № 2 была статистически незначима ( $p = 0,415$  и  $p = 0,585$ ), а в лагере № 3 отмечена достоверная тенденция к изменению массы тела отдыхающих ( $p = 0,025$ ). По данным БИА, повышение массы тела в течение лагерной смены не более чем в 44,34% случаев сопровождалось должным повышением скелетно-мышечной составляющей, а снижение массы тела включало потерю как жировой, так и скелетно-мышечной составляющих. БИА не только дополняет результаты антропометрических исследований, но и позволяет сделать предположение о фактическом питании и уровне двигательной активности детей. Соответственно, применение антропометрических исследований в совокупности с данными БИА может служить в качестве информативного методического подхода к оценке эффективности оздоровления детей в летних лагерях.

**Ключевые слова:** гигиена детей и подростков, физическое развитие, антропометрия, биоимпедансный анализ, пищевой статус, рацион питания

**Информация о вкладе авторов:** М. Ю. Гаврюшин — планирование исследования, сбор данных, анализ данных, интерпретация результатов; О. В. Сазонова — планирование исследования, интерпретация результатов; Д. О. Горбачев — анализ литературы, подготовка черновика рукописи; Л. М. Бородина — анализ данных, интерпретация результатов; О. В. Фролова — редактирование статьи, анализ литературы; Д. С. Тупикова — подготовка черновика рукописи.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено экспертной комиссией ФГБОУ ВО СамГМУ Минздрава России (протокол № 8 от 13 сентября 2018 г.). Все участники исследования (или их законные представители) подписали информированное согласие на участие в исследовании.

✉ **Для корреспонденции:** Михаил Юрьевич Гаврюшин  
ул. Чапаевская, д. 87, г. Самара, 443099; m.yu.samara@mail.ru

**Статья получена:** 10.12.2018 **Статья принята к печати:** 29.03.2018 **Опубликована онлайн:** 12.04.2019

**DOI:** 10.24075/vrgmu.2019.024

## A RATIONALE FOR THE USE OF ANTHROPOMETRIC MEASUREMENTS AND BIOELECTRICAL IMPEDANCE ANALYSIS AS EFFICACY CRITERIA FOR SUMMER CAMP HEALTHCARE

Gavryushin MYu ✉, Sazonova OV, Gorbachev DO, Borodina LM, Frolova OV, Tupikova DS

Samara State Medical University, Samara, Russia

The proportion of obese and overweight children is alarmingly high. This dictates the need for promoting healthy lifestyle and eating habits in children. Summer camps provide a wide range of activities to improve children's health. However, methods used to assess children's nutritional status during a camp session need to be analyzed in depth, and a rationale should be provided for the use of bioelectrical impedance analysis (BIA) and anthropometric measurements as efficacy criteria for summer camp healthcare. We examined 125 boys and 221 girls aged 8–15 years spending their summer holidays at 3 different camps. Measurements were taken twice: on days 1 and 2 upon arrival to a camp and 2 days before leaving for home. In each camp, both positive and negative health weight dynamics were observed. The overall weight dynamics in children from camps 1 and 2 were statistically insignificant ( $p = 0.415$  and  $p = 0.585$ ), in contrast to camp 3 where those changes were significant ( $p = 0.025$ ). BIA revealed that less than 44.34% of children had gained skeletal muscle mass during their stay at the camp, whereas weight loss was associated with both decreased fat and skeletal muscle masses. BIA confirms the results of anthropometric measurements and also provides information about the diet offered to children and their level of physical activity. Therefore, the use of anthropometric measurements and BIA could be an informative method for assessing the efficacy of healthcare in summer camps.

**Keywords:** hygiene of children and adolescents, physical development, anthropometry, bioimpedance analysis, nutritional status, diet

**Author contribution:** Gavryushin MYu — study design, data acquisition and analysis, interpretation of the results; Sazonova OV — study design, interpretation of the results; Gorbachev DO — literature analysis, manuscript draft; Borodina LM — data analysis, interpretation of the results; Frolova OV — manuscript revision, literature analysis; Tupikova DS — manuscript draft.

**Compliance with ethical standards:** this study was approved by the Ethics Committee of Samara State Medical University (Protocol No. 8 dated September 13, 2018). Informed consent was obtained from all the participants or their legal representatives.

✉ **Correspondence should be addressed:** Mikhail Yu. Gavryushin  
Chapaevskaya 87, Samara, 443099; m.yu.samara@mail.ru

**Received:** 10.12.2018 **Accepted:** 29.03.2018 **Published online:** 12.04.2019

**DOI:** 10.24075/brsmu.2019.024

Важнейшим критерием комплексной оценки состояния здоровья, наряду с другими показателями, используемыми для определения группы здоровья детей, является физическое развитие [1, 2]. В современных условиях жизни дисгармоничное физическое развитие отмечают более чем у 25% детей и подростков школьного возраста [3–5], выявлен высокий удельный вес детей с избыточной

массой тела и ожирением [1, 3, 6–9]. В значительной мере причиной тому служат изменения условий и образа жизни, в том числе рациона питания, который обеспечивает нормальный рост и развитие, способствует профилактике заболеваний и создает оптимальные условия для адаптации человека к воздействию окружающей среды [10, 11].

Нерациональная структура продуктового набора и характер питания в критические периоды онтогенеза воздействуют на рост и развитие ребенка, а также способствуют возникновению множества заболеваний [12–14]. Так, в Самарской области впервые выявленная заболеваемость ожирением детского населения на протяжении многих лет остается на высоком уровне и в 2016 г. составила 54,1 случай на 10 тыс. детей, что превышает среднероссийский уровень, равный 36,7 [15].

Очевидна необходимость оздоровления детей и коррекции пищевого статуса. Благоприятным временем для выполнения данной задачи представляется летний период года, когда важнейшую роль играют детские лагеря, в которых ребенок должен быть обеспечен комплексом оздоровительных мероприятий и оптимальными условиями пребывания. Рацион питания служит важнейшим фактором, определяющим динамику состояния здоровья, процессы роста и развития, и изменение статуса питания, что в совокупности характеризует эффективность оздоровления [16].

Современные достижения научного сообщества к настоящему времени позволили разработать критерии оценки эффективности оздоровления детей в лагерях. В методических рекомендациях МР 2.4.4.0127-18 «Методика оценки эффективности оздоровления в стационарных организациях отдыха и оздоровления детей» (введены взамен МР 2.4.4.0011-10) изложена балльная система оценки эффективности оздоровления детей, основанная на определении динамики изменений роста, массы тела, мышечной силы и функции внешнего дыхания в течение лагерной смены [17]. Профильной комиссией Министерства здравоохранения России по гигиене детей и подростков утвержден федеральный протокол ФП РОШУМЗ-15-2014 «Комплексная оценка эффективности оздоровления в загородных стационарных организациях отдыха и оздоровления детей» (протокол № 4 от 6 мая 2014 г.). Протокол содержит методику оценки эффективности оздоровления детей на основе динамики показателей физического развития (длины и массы тела), функциональных возможностей сердечно-сосудистой и дыхательной систем организма, физической подготовленности и показателей заболеваемости ребенка за период смены. Помимо динамики изменений указанных показателей, авторы научных исследований рекомендуют использовать в качестве критериев эффективности оздоровления изменения функциональной пробы с дозированной физической нагрузкой [18], величину двигательной активности [19] и изменения умственной работоспособности [20].

На наш взгляд, оценка эффективности оздоровления детей должна учитывать изменения пищевого статуса в течение лагерной смены. Достоверная оценка, анализ динамики изменений и своевременное выявление нарушений пищевого статуса могут способствовать снижению числа алиментарнозависимых заболеваний среди населения [21].

Предложенные ранее методики оценки эффективности оздоровления детей включают анализ динамики изменений антропометрических признаков у отдыхающих с различными группами физического развития. В последнее время для оценки пищевого статуса, помимо общепринятого расчетного антропометрического метода, используют различные аппаратные диагностические методы [21, 22]. Одним из них является биоимпедансный анализ состава тела (БИА). Возможность применения БИА для оценки эффективности оздоровления детей в части коррекции пищевого статуса требует изучения.

Цель работы заключалась в научном обосновании возможности применения результатов биоимпедансного исследования состава тела в совокупности с данными антропометрических измерений как критериев оценки эффективности оздоровления детей в летних лагерях.

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования были дети и подростки, отдыхающие в трех летних организациях отдыха и оздоровления детей Самарской области. Выбор организаций отдыха осуществляли из числа тех, руководители которых одобрили участие детей в исследовании. Участие в исследовании нескольких организаций было обусловлено возможностью получения различных результатов динамики изменения антропометрических и биоимпедансометрических показателей. Каждая изученная организация была обеспечена необходимыми условиями для создания должного уровня двигательной активности (игровые и спортивные площадки, физкультурно-оздоровительные комплексы) и полноценного питания (базовые столовые) отдыхающих детей. Среди участвующих в исследовании организаций не было лагерей со спортивной направленностью, режим дня был стандартным для организаций подобного типа. В группу наблюдения вошли 346 детей (125 мальчиков и 221 девочка) в возрасте 8–15 лет. Критерии включения детей в исследование: постоянное проживание на территории Самарской области; соответствие состояния здоровья I или II группе здоровья по данным медицинской документации.

Критерии исключения: наличие хронических заболеваний; прием лекарственных препаратов; наличие выраженных отеков конечностей; постоянное проживание за пределами Самарской области; отказ родителей (или законных представителей) подписать согласие на участие в исследовании.

Все исследования проводили в два этапа: первый этап — на 1–2-й дни заезда лагерной смены; второй этап — за 2 дня до окончания лагерной смены. Продолжительность лагерной смены в организациях отдыха и оздоровления составляла 21 день. Измерение антропометрических показателей осуществляли по стандартной унифицированной методике [23]: рост измеряли с помощью штангового антропометра (Кафа; Россия) с точностью до 0,5 см, массу тела — на электронных медицинских весах ВЭМ-150-«Масса-К» (Масса-К; Россия) с точностью до 60 г. Оценка уровня физического развития детей проводили по региональным модифицированным шкалам регрессии для Самарского региона [24]. БИА состава тела проводили с помощью анализатора внутренних сред организма АВС-01 «Медасс» (Медасс; Россия) на частоте зондирующего тока 50 кГц по стандартной тетраполярной схеме с наложением электродов в область лучезапястного и голеностопного суставов при нахождении испытуемого в положении лежа на спине. В процессе проведения процедуры обращали внимание на угол между плечом правой руки и вертикальной осью туловища, который согласно методике, должен составлять 45°; предплечье правой руки обследуемых располагалось параллельно вертикальной оси туловища, ноги — на ширине плеч. БИА проводили утром натощак или через 2,5–3 ч после приема пищи. Обследованию не предшествовали интенсивные физические нагрузки, физиотерапевтические процедуры. Методом БИА оценивали жировую массу (ЖМ), скелетно-мышечную

массу (СММ) и уровень удельного обмена (УО) [25, 26]. Сбор и хранение первичных данных выполняли в среде «Microsoft Excel 2010» (Microsoft; США). Статистическую обработку полученных материалов проводили с использованием пакета программ Statistica (StatSoft Inc.; США, версия 13.1). Статистический анализ общей тенденции к изменению массы тела в течение лагерной смены проводили с применением парного критерия Уилкоксона. Изменение доли детей с нормальным физическим развитием (НФР), дефицитом массы тела (ДМТ) и избытком массы тела (ИМТ) оценивали с помощью критерия хи-квадрат МакНемара. Сравнение долей в независимых группах (из разных лагерей) выполняли с помощью критерия хи-квадрат Пирсона. Различия сравниваемых результатов ( $M \pm m$ , где  $M$  — выборочное среднее арифметическое, а  $m$  — ошибка среднего арифметического) считались статистически значимыми при достигнутом уровне значимости  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведен анализ общей тенденции изменений уровня физического развития среди отдыхающих детей в каждой организации отдыха и оздоровления. Результаты изменений в лагере № 1 представлены в табл. 1.

В течение смены в лагере № 1 не изменился уровень физического развития у 62 детей с НФР (47,7%), у

19 отдыхающих с ДМТ (14,6%) и 31 ребенка с ИМТ (23,8%). Положительную тенденцию перехода в группу с НФР в течение лагерной смены наблюдали среди 8 детей с ДМТ (6,2%) и 5 отдыхающих с ИМТ (3,8%). Отрицательная динамика отмечена у 4 детей (3,1%), перешедших из группы с НФР в начале смены в группу с ДМТ к концу смены, а также у 1 ребенка (0,8%), который в начале смены имел нормальное физическое развитие, а к концу смены у него отмечен избыточный статус питания и, соответственно, он перешел в группу детей с ИМТ. Однако общая тенденция к изменению массы тела у детей в лагере статистически незначима ( $p = 0,415$ ).

При анализе тенденций изменения доли детей с НФР, ИМТ и ДМТ в течение смены лагеря № 1 по каждой группе в отдельности статистически значимых результатов не выявлено (табл. 2).

Аналогичный анализ изменений уровня физического развития проведен в лагере № 2. Выявлено, что в течение смены не изменился уровень физического развития у 56 детей с НФР (48,7%), у 16 отдыхающих с ДМТ (13,9%) и 31 ребенка с ИМТ (27%) (табл. 3).

Положительная тенденция перехода в группу с НФР в течение лагерной смены выявлена у 5 детей с ДМТ (4,3%) и 2 отдыхающих с ИМТ (1,7%). Отрицательная динамика, а именно переход в группу с ДМТ, отмечена у 3 детей (2,6%), а в группу с ИМТ — у 2 (1,7%) (табл. 4). Общая тенденция

Таблица 1. Анализ общей тенденции изменений уровня физического развития в лагерях

Начало смены		Конец смены			Итого
		НФР	ДМТ	ИМТ	
НФР	Абс.	62	4	1	67
	%	47,7	3,1	0,8	51,5
ДМТ	Абс.	8	19	0	27
	%	6,2	14,6	0	20,8
ИМТ	Абс.	5	0	31	36
	%	3,8	0	23,8	27,7
Итого	Абс.	75	23	32	130
	%	57,7	17,7	24,6	100

Таблица 2. Анализ тенденций изменений доли детей с НФР, ИМТ и ДМТ в течение смены лагеря № 1

Показатель изменений	НФР		ДМТ		ИМТ	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
Увеличилось число детей	13	10	4	3,1	1	0,8
Уменьшилось число детей	5	3,8	8	6,2	5	3,8
Без изменений	112	86,2	118	90,8	124	95,4
Итого	130	100	130	100	130	100
Статистическая значимость, <i>p</i>	0,096		0,388		0,219	

Таблица 3. Анализ изменений уровня физического развития среди детей в лагере № 2

Начало смены		Конец смены			Итого
		НФР	ДМТ	ИМТ	
НФР	Абс.	56	3	2	61
	%	48,7	2,6	1,7	53
ДМТ	Абс.	5	16	0	21
	%	4,3	13,9	0	18,3
ИМТ	Абс.	2	0	31	33
	%	1,7	0	27	28,7
Итого	Абс.	63	19	33	115
	%	54,8	16,5	28,7	100

к изменению массы тела в лагере №2, так же как в лагере № 1, статистически незначима ( $p = 0,585$ ).

Тенденция к изменению массы тела в каждой группе по уровню физического развития недостоверна (табл. 4).

При общей тенденции к изменению массы тела в лагере № 3 обнаружено отсутствие изменений у 62 детей с НФР (61,4%), 13 отдыхающих с ДМТ (12,9%) и 6 детей с ИМТ (5,9%). Положительная динамика перехода в течение лагерной смены в группу с НФР отмечена у 6 детей с ДМТ (5,9%) и 5 отдыхающих с ИМТ (5,0%). Отрицательная тенденция изменения массы тела к концу лагерной смены выявлена у 9 детей, перешедших из группы с НФР в группу с ДМТ. Среди отдыхающих в лагере № 3 отмечена статистически значимая тенденция к изменению массы тела,  $p = 0,025$  (табл. 5).

При определении доли детей, у которых наблюдали тенденцию к изменению массы тела в течение смены лагеря № 3, выявили, что случаев с потерей массы тела было статистически значимо больше, чем случаев набора веса ( $p = 0,025$ ). Так, количество отдыхающих, у которых отмечено снижение массы тела, в сумме составило 14 человек (12,2%), включая 9 детей, перешедших из НФР в ДМТ, и 5 отдыхающих — из ИМТ в НФР. А группу детей с увеличением массы тела составили 6 человек, которые перешли в течение смены из группы с ДМТ в НФР. Следует

помнить, что снижение массы тела в течение лагерной смены можно считать признаком положительного оздоровительного эффекта только среди детей, у которых в начале смены был отмечен избыток массы тела. И, напротив, для детей с НФР и, тем более, с ДМТ, данные изменения носят отрицательный характер.

Проведен количественный анализ изменения массы тела детей разных групп физического развития в течение лагерной смены каждой организации отдыха и оздоровления (табл. 6). Показано, что изменения массы тела в группах детей, которые имели НФР и ИМТ к началу лагерной смены, в течение отдыха и оздоровления в каждом лагере статистически недостоверны. Так, в лагере № 1 масса тела детей, относящихся к группе НФР, в начале смены составляла  $47,05 \pm 1,1$  кг, в конце смены —  $47,34 \pm 1,12$  кг ( $p = 0,347$ ). В то же время среди детей, относящихся к группе ДМТ в начале смены, отмечено достоверное увеличение массы тела к моменту окончания периода отдыха. У таких детей в лагере № 2 масса тела в начале смены составляла  $39,78 \pm 1,48$  кг, а в конце смены —  $41,37 \pm 1,66$  кг ( $p = 0,002$ ).

Положительную тенденцию к изменению массы тела должны подтверждать соответствующие данные биоимпедансометрии. Безусловно, в течение лагерной смены ребенок должен быть обеспечен полноценным

Таблица 4. Анализ тенденций изменений доли детей с НФР, ИМТ и ДМТ в течение смены лагеря № 2

Показатель изменений	НФР		ДМТ		ИМТ	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
Увеличилось число детей	8	7	3	2,6	2	1,7
Уменьшилось число детей	5	4,3	6	5,2	2	1,7
Без изменений	102	88,7	106	92,2	111	96,5
Итого	115	100	115	100	115	100
Статистическая значимость, <i>p</i>	0,581		0,508		1	

Таблица 5. Анализ изменений уровня физического развития среди детей в лагере № 3

Начало смены		Конец смены			Итого
		НФР	ДМТ	ИМТ	
НФР	Абс.	62	9	0	71
	%	61,4	8,9	0	70,3
ДМТ	Абс.	6	13	0	19
	%	5,9	12,9	0	18,8
ИМТ	Абс.	5	0	6	11
	%	5	0	5,9	10,9
Итого	Абс.	73	22	6	101
	%	72,3	21,8	5,9	100

Таблица 6. Количественный анализ изменения массы тела детей в течение смены лагерей № 1–3

Лагерь	Оценка в начале смены	Начало смены			Конец смены			Разница <sup>4</sup>		<i>p</i> <sup>6</sup>
		<i>M</i> <sup>1</sup>	<i>SD</i> <sup>2</sup>	<i>m</i> <sup>3</sup>	<i>M</i>	<i>SD</i>	<i>m</i>	<i>M</i>	<i>SE</i> <sup>5</sup>	
Лагерь № 1	НФР	47,05	9,03	1,1	47,34	9,16	1,12	0,29	0,3	0,347
	ДМТ	40,49	6,64	1,28	41,56	7,72	1,49	1,07	0,4	0,014
	ИМТ	61,92	10,3	1,72	62,59	10,5	1,75	0,67	0,55	0,228
Лагерь № 2	НФР	47,47	8,26	1,06	47,33	8,67	1,11	-0,14	0,29	0,627
	ДМТ	39,78	6,77	1,48	41,37	7,63	1,66	1,6	0,46	0,002
	ИМТ	61,16	10,18	1,77	61,51	10,83	1,89	0,35	0,46	0,458
Лагерь № 3	НФР	42,94	7,02	0,83	43,14	6,9	0,82	0,2	0,32	0,543
	ДМТ	35,73	5,12	1,17	37,28	5,69	1,31	1,55	0,36	< 0,001
	ИМТ	57,66	12,21	3,68	57,07	12,85	3,87	-0,59	0,9	0,524

питанием и должным уровнем двигательной активности, что по составу тела будет отражаться в снижении доли жировой массы тела при увеличении скелетно-мышечной составляющей и удельного обмена. В лагерях № 1 и № 2 выявлены незначительные увеличения средних значений показателей биоимпедансометрии в течение смены, что свидетельствует о должном уровне питания и двигательной активности, однако эти изменения статистически недостоверны. По результатам анализа изменений состава тела детей в течение смены лагеря № 3 отмечено достоверное снижение жировой и скелетно-мышечной составляющих. Данный факт может быть связан с неадекватным питанием и недостаточным уровнем двигательной активности вследствие неправильной организации режима дня отдыхающих. Данный факт также подтверждают недостоверные изменения уровня удельного обмена у детей лагеря № 3 (табл. 7).

У каждого ребенка в исследованных лагерях был проведен анализ изменений ЖМ, СММ и УО. Выделено семь групп изменений биоимпедансометрических показателей (табл. 8). Группа изменения показателей БИА № 1 и № 3 свидетельствует о достаточном уровне двигательной активности и полноценном питании отдыхающих. Среди детей, которые по результатам анализа изменений БИА вошли в группу № 2, отмечены нормальный уровень двигательной активности и недостаточное в количественном отношении питание. Изменения БИА № 4 свидетельствуют об избыточном энергопотреблении, поступающем с пищей, в сравнении с энергозатратами, необходимыми при достаточном уровне двигательной активности. В свою очередь среди детей, которые по результатам анализа изменений БИА вошли в группы № 5, 6 и 7, отмечен недостаточный уровень двигательной активности при одновременно избыточном рационе питания (табл. 8).

Наибольшая доля детей, имеющих положительную тенденцию изменения состава тела (группы 1–3) в течение смены, выявлена в лагерях № 1 и № 2 — 44,61% и 44,34% соответственно. При этом, как в первой, так и во второй организации отдыха и оздоровления отмечено большое количество отдыхающих, у которых обнаружены негативные изменения показателей БИА: повышение жировой массы при снижении или отсутствии изменений скелетно-мышечной составляющей. В лагере № 3 изменения показателей БИА среди большинства детей (19,8%) характеризовались повышением ЖМ, а также понижением показателей СММ и УО, что подтверждает результаты анализа антропометрических изменений. Помимо этого, весовая доля детей в группах изменений БИА № 1–3 подтверждает общую тенденцию к изменению массы тела в лагере № 3.

#### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В результате антропометрических исследований выявлены дети, у которых за время лагерной смены отмечается негативная (отрицательная) тенденция изменения массы тела, которая проявлялась переходом детей из группы с нормальным физическим развитием в начале смены в группу с ДМТ или ИМТ в конце отдыха. Тревожным является тот факт, что подобные изменения обнаружены в каждом из обследованных лагерей. В лагере № 3 отмечена статистически значимая общая тенденция к изменению массы тела, которая связана не только с так называемым положительным эффектом оздоровления, проявляющимся в повышении массы тела среди детей с нормальным физическим развитием и среди детей с дефицитом массы, но и с отсутствием оздоровительного эффекта, выражающимся в выявленной высокой доле детей с потерей массы тела в течение смены. Проведенная

Таблица 7. Анализ показателей состава тела детей в течение смены лагерей № 1–3

Лагерь	Показатель БИА	Начало смены		Конец смены		Разница <sup>4</sup>		<i>p</i> <sup>6</sup>
		<i>M</i> <sup>1</sup> ± <i>m</i> <sup>2</sup>	<i>P</i> <sub>25-75</sub> <sup>3</sup>	<i>M</i> ± <i>m</i>	<i>P</i> <sub>25-75</sub>	<i>M</i>	<i>SE</i> <sup>5</sup>	
Лагерь № 1	ЖМ (кг)	10,89 ± 0,44	7,7 – 13,9	11,29 ± 0,49	7,3 – 14,3	0,4	0,29	0,473
	СММ (кг)	21,23 ± 0,46	17,5 – 25,1	21,35 ± 0,45	18 – 25,1	0,12	0,4	0,687
	Удельный обмен (ккал/кв.м)	857,04 ± 4,98	824 – 888	865,27 ± 5,38	835 – 894	8,23	0,65	0,262
Лагерь № 2	ЖМ (кг)	12,32 ± 0,56	8,1 – 16,5	13,09 ± 0,38	8,3 – 17,9	0,77	0,35	0,198
	СММ (кг)	20,45 ± 0,34	16,6 – 24,3	20,84 ± 0,56	17,2 – 24,5	0,39	0,46	0,478
	Удельный обмен (ккал/кв.м)	832,54 ± 5,34	798 – 867	846,01 ± 4,78	813 – 879	13,47	0,58	0,061
Лагерь № 3	ЖМ (кг)	12,35 ± 0,55	8,7 – 15,9	10,89 ± 0,44	7,3 – 14,3	-1,46	0,46	0,039
	СММ (кг)	23,43 ± 0,57	19,3 – 27,5	21,81 ± 0,55	18,5 – 25,3	-1,62	0,42	0,041
	Удельный обмен (ккал/кв.м)	873,32 ± 5,45	849 – 897	862,51 ± 5,29	836 – 889	-10,81	0,51	0,155

Таблица 8. Анализ изменения показателей состава тела детей в организациях отдыха и оздоровления

Группа	Изменения показателей	Количество детей (%)		
		Лагерь № 1	Лагерь № 2	Лагерь № 3
1	Понижение ЖМ, неизменная СММ, повышение УО	17 (13,07)	14 (12,17)	12 (11,89)
2	Понижение ЖМ, повышение СММ, понижение УО	12 (9,23)	16 (13,91)	11 (10,89)
3	Понижение ЖМ, повышение СММ, повышение УО	29 (22,31)	21 (18,26)	17 (16,83)
4	Повышение ЖМ, СММ, УО	14 (10,77)	14 (12,17)	13 (12,87)
5	Повышение ЖМ, неизменная СММ, понижение УО	20 (15,39)	17 (14,79)	19 (18,81)
6	Повышение ЖМ, понижение СММ, понижение УО	24 (18,46)	14 (12,17)	20 (19,8)
7	Повышение ЖМ, понижение СММ, повышение УО	14 (10,77)	19 (16,53)	9 (8,91)

в каждой организации отдыха и оздоровления биоимпедансометрия подтверждает и раскрывает результаты антропометрических исследований. По результатам анализа изменения жировой, скелетно-мышечной составляющих и уровня обмена в течение лагерной смены у каждого отдыхающего ребенка мы можем делать выводы об эффективности оздоровления в части изменения пищевого статуса. Ведь повышение массы тела, регламентированное в нормативно-методических документах как один из критериев оздоровительного эффекта, может быть связано с повышением жировой составляющей [17, 20, 25]. В случае организации полноценного питания, должного уровня двигательной активности и достигаемого при этом соответствия уровня энергопотребления уровню энергозатрат в детском лагере, изменения состава тела отдыхающих детей не будут проявляться повышением жировой массы. А уровень скелетно-мышечной составляющей к концу лагерной смены может как увеличиваться, так и оставаться в пределах значений, характерных для начала отдыха [18, 19, 25]. В результате оценки состава тела детей в изученных лагерях показано, что повышение массы тела в течение лагерной смены сопровождалось как должным повышением скелетно-мышечной составляющей, так и в высокой доле случаев повышением жировой массы. В то же время снижение массы тела детей в течение лагерной смены включало как должную потерю жировой составляющей, так и снижение доли скелетно-мышечной массы, что указывает на отсутствие оздоровительного эффекта. Результаты антропометрических и биоимпедансометрических изменений в лагере № 1 позволяют предположить, что питание в лагере

было полноценным и соответствовало в большинстве случаев уровню двигательной активности отдыхающих детей. По результатам исследований в лагере № 2 можно предположить об избыточном поступлении пищевых веществ или же о повышенном энергопотреблении в сравнении с энергозатратами среди большей доли отдыхающих детей. В то же время выявленные изменения среди детей в лагере № 3 дают нам возможность говорить о недостаточном питании отдыхающих или о сниженной энергетической ценности рациона в сравнении с энергозатратами в данном лагере.

## Выводы

Организм ребенка в течение лагерной смены реагирует на условия пребывания в организации отдыха и оздоровления, что проявляется изменениями не только антропометрических признаков, но и показателей состава тела, характеризующих в том числе фактический пищевой статус. Результаты анализа динамики антропометрических данных и изменений показателей биоимпедансного анализа состава тела детей позволяют сделать предположения о фактически получаемом питании и уровне двигательной активности в исследуемых лагерях. Таким образом, применение антропометрических исследований в совокупности с данными биоимпедансного анализа может служить информативной методикой для оценки адекватности питания детей в персонализированном подходе, оценки двигательной активности и, как следствие, в качестве критериев оценки эффективности оздоровления детей в летних организациях отдыха и оздоровления.

## Литература

1. Баранов А. А., Кучма В. Р., Скоблина Н. А., Милушкина О. Ю., Бокарева Н. А., Ямпольская Ю. А. Физическое развитие детей и подростков Российской Федерации. М., 2013. 192 с.
2. Скоблина Н. А., Федотов Д. М., Милушкина О. Ю., Бокарева Н. А., Татаринчик А. А. Характеристика физического развития детей и подростков Архангельска и Москвы: исторические аспекты. Вестник Северного (Арктического) федерального университета. 2016; (2): 110–22.
3. Баранов А. А., Кучма В. Р., Скоблина Н. А., Милушкина О. Ю., Бокарева Н. А. Основные закономерности морфо-функционального развития детей и подростков в современных условиях. Вестник Российской академии медицинских наук. 2012; (12): 35–40.
4. Кучма, В. Р. Межсекторальное взаимодействие при формировании здорового образа жизни детей и подростков: проблемы и пути решения. Вопросы школьной и университетской медицины и здоровья. 2014; (3): 4–9.
5. Зигитбаев Р. Н., Ахмадулина Г. Х., Поварго Е. А., Зулъкарнаев Т. Р. Сравнительная оценка состояния здоровья школьников в условиях промышленных городов республики Башкортостан. Медицинский вестник Башкортостана. 2017; 12 (5): 15–20.
6. Грицинская В. Л. Характеристика физического развития и питания школьников городского и сельского населения Красноярского края. Вопросы детской диетологии. 2012; (5): 8–11.
7. Мальцева Е. А., Чеснокова Л. Л., Михайлова Л. А. Антропометрические показатели детей препубертатного возраста промышленного города. Современные проблемы науки и образования. 2016; (6): 22.
8. Скоблина Н. А., Милушкина О. Ю., Гудинова Ж. В., Бокарева Н. А., Гаврюшин М. Ю., Сазонова О. В. и др. Научно-методическое обоснование границ нормы массы тела, используемых при разработке нормативов физического развития детского населения. Здоровье населения и среда обитания. 2018; 9 (306): 19–22.
9. ВОЗ. Ожирение и избыточный вес. Десятикратный рост числа детей и подростков с ожирением за последние сорок лет: новое исследование Имперского колледжа в Лондоне и ВОЗ. Доступно по ссылке: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2017/increase-childhood-obesity/ru/> (дата обращения: 22.12.2018).
10. Батуринов А. К., Погожева А. В., Мартинчик А. Н., Сафронова А. М., Кешабянц Э. Э., Денисова Н. Н., Кобелькова И. В. Изучение особенностей питания населения Европейской и Азиатской части арктической зоны России. Вопросы питания. 2016; 85 (2): 83.
11. Котельников Г. П., Крюков Н. Н., Гридасов Г. Н., Батуринов А. К., Гильмиярова Ф. Н., Березин И. И. и др. Обоснование программы реализации основ государственной политики здорового питания населения Самарской области на период до 2020 года. Вопросы питания. 2011; (2): 52–7.
12. Тапешкина Н. В., Клишина М. Н. Организация школьного питания в современных условиях: проблемы и пути решения. Сибирский медицинский журнал (Иркутск). 2013; 122 (7): 113–7.
13. Конь И. Я., Тутельян В. А., Углицкий А. К., Волкова Л. Ю. Рациональное питание российских школьников: проблемы и их пути преодоления. Здоровье населения и среда обитания. 2008; 7 (184): 4–5.
14. Горелова Ж. Ю., Кучма В. Р., Соловьева Ю. В., Летучая Т. А., Плац-Колдобенко А. Н., Углов С. Ю. Научное обоснование и разработка вариантов школьного меню (12 дневных суточных рационов) с учетом домашнего питания. Основные принципы, особенности и преимущества. Евразийское Научное Объединение. 2017; 3 (25): 71–7.

15. Самарский статистический ежегодник: Стат. сборник. Самара: Самарстат, 2016. 345 с.
16. Седова А. С., Соколова С. Б., Лапонова Е. Д. Динамика функционального состояния организма детей в условиях укороченной смены стационарной организации отдыха. Вопросы школьной и университетской медицины и здоровья. 2016; (4): 41–7.
17. Методические рекомендации МР 2.4.4.0127-18 «Методика оценки эффективности оздоровления в стационарных организациях отдыха и оздоровления детей». Утверждены Главным государственным санитарным врачом РФ 11 мая 2018 г. Доступно по ссылке: <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/71875014/>.
18. Танина Н. А. Оценка эффективности оздоровительных мероприятий в летних загородных учреждениях отдыха и оздоровления детей. Медицинский альманах. 2015; 2 (37): 77–9.
19. Платонова А. Г., Подригало Л. В. Использование двигательной активности для оценки эффективности оздоровления детей. Вопросы школьной и университетской медицины и здоровья. 2014; (3): 51–2.
20. Новикова И. И., Вейних П. А. Методические аспекты оценки эффективности оздоровления детей и подростков в современных условиях. Вести МАНЭБ в Омской области. 2013; 3 (3): 30–3.
21. Блинова Е. Г., Акимова И. С., Чеснокова М. Г., Демакова Л. В. Результаты анализа антропометрических и биоимпедансометрических исследований у студентов города Омска. Современные проблемы науки и образования. 2014; (3): 543.
22. Mok E, Letellier G, Cuisset JM, et al., Assessing change in body composition in children with Duchenne muscular dystrophy: anthropometry and bioelectrical impedance analysis versus dual-energy X-ray absorptiometry. Clin Nutr. 2010; 29 (5): 633–8.
23. Кучма В. Р., Вишневецкая Т. Ю., Ямщикова Н. Л. Исследование физического развития детей и подростков в системе социально-гигиенического мониторинга. Методические указания. Утверждены заместителем главного государственного санитарного врача г. Москвы 12.07.99 г. М., 1999. 37 с.
24. Вдовенко С. А., Сазонова О. В., Пономарев В. А., Мазур Л. И., Гаврюшин М. Ю., Бородина Л. М. Оценочные таблицы физического развития детей и подростков школьного возраста Самарской области. Методические рекомендации. Самара, 2018. 46 с.
25. Николаев Д. В., Щелькалина С. П. Лекции по биоимпедансному анализу состава тела человека. М., 2016. 152 с.
26. Руднев С. Г., Соболева Н. П., Стерликов С. А., Николаев Д. В., Старунова О. А., Черных С. П. и др. Биоимпедансное исследование состава тела населения России. М., 2014. 493 с.

## References

1. Baranov AA, Kuchma VR, Skoblina NA, Milushkina OYu, Bokareva NA, Yampolskaya YuA. Physical development of children and adolescents of the Russian Federation. M., 2013. 192 p.
2. Skoblina NA, Fedotov DM, Milushkina OYu, Bokareva NA, Tatarinchik AA. Characteristics of physical development of children and adolescents in Arkhangelsk and Moscow: history aspects. Vestnik Severnogo (Arkticheskogo) federal'nogo universiteta. 2016. (2): 110–22.
3. Baranov AA, Kuchma VR, Skoblina NA, Milushkina OYu, Bokareva NA. The main mechanisms of morphofunctional development of children and adolescents in modern conditions. Vestnik Rossijskoj akademii medicinskih nauk. 2012; (12): 35–40.
4. Kuchma VR. Inter-sectoral collaboration in the formation of a healthy lifestyle of children and teenagers: problems and solutions. Voprosy shkol'noj i universitetskoj mediciny i zdorov'ya. 2014; (3): 4–9.
5. Zigitbaev RN, Ahmadullina GH, Povargo EA, Zulkarnaev TR. Sravnitel'naya ocenka sostoyaniya zdorov'ya shkol'nikov v usloviyah promyshlennyh gorodov respubliky Bashkortostan. Medicinskij vestnik Bashkortostana. 2017; 12 (5): 15–20.
6. Gricinskaja VL. Characteristics of physical development and nutrition of schoolchildren of urban and rural population of Krasnoyarsk region. Pediatric Nutrition. 2012; (5): 8–11.
7. Malceva EA, Chesnokova LL, Mihajlova LA. Anthropometrical indicators of children of prepubertatny age of the industrial city. Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya. 2016; (6): 22.
8. Skoblina NA, Milushkina OYu, Gudinova ZhV, Bokareva NA, Gavryushin MYu, Sazonova O.V., et al. The scientific-methodical substantiation of norms of body weight and the standards for physical development of children's population. Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya. 2018; 9 (306): 19–22.
9. Tenfold increase in childhood and adolescent obesity in four decades: new study by Imperial College London and WHO. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2017/increase-childhood-obesity/ru/> (Data obrashcheniya: 22.12.2018).
10. Baturin AK, Pogozheva AV, Martinchik AN, Safronova AM, Keshbyants EE, Denisova NN, et al. Study of nutrition peculiarities of the population of the European and Asian part of the Arctic zone of Russia. Problems of nutrition. 2016; 85 (2): 83.
11. Kotelnikov GP, Krjukov NN, Gridasov GN, Baturin AK, Gilmiyarova FN, Berezin II, et al. The rationale for the implementation of the principles of state policy of healthy nutrition of the population of Samara region for the period till 2020. Problems of nutrition. 2011; (2): 52–7.
12. Tapeskina NV, Klishina MN. The organization of school in the modern conditions: problems and solutions. Sibirskij meditsinskij zhurnal (Irkutsk). 2013. 122 (7): 113–7.
13. Kon IYa, Tutelyan VA, Uglickij AK, Volkova LYu. Racional'noe pitanie rossijskih shkol'nikov: problemy i ih puti preodoleniya. Zdorov'e naseleniya i sreda obitaniya. 2008; 7 (184): 4–5
14. Gorelova ZhYu, Kuchma VR, Solovyeva YuV, Letuchaya TA, Plats-Koldobenko AN, Uglov SYu. Scientific substantiation and working out of a school menu options (12 day daily rations), taking into account domestic supply. The basic principles, features and benefits. Evrazijskoe Nauchnoe Ob'edinenie. 2017; 3 (25): 71–7.
15. Samariskij statisticheskiy ezhegodnik: Stat. sbornik. Samara: Samarastat, 2016. 345 s.
16. Sedova AS, Sokolova SB, Laponova ED. Dynamics of functional state of children's body in conditions of shortened shifts of stationary recreation. Voprosy shkol'noj i universitetskoj mediciny i zdorov'ya. 2016; (4): 41–7.
17. Metodicheskie rekomendacii MR 2.4.4.0127-18 «Metodika ocenki effektivnosti ozdorovleniya v stacionarnyh organizacijah otdyha i ozdorovleniya detej». Utverzhdeny Glavnym gosudarstvennym sanitarnym vrachom RF 11 maya 2018 g. Available from: <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/71875014/>.
18. Taniina NA. Evaluation of healthcare measures efficiency in summer out-of-town recreational and rehabilitation facilities for children. Medicinskij al'manah. 2015; 2 (37): 77–9.
19. Platonova AG, Podrigalo LV. Application of motor activity for the evaluation of the effectiveness of children's rehabilitation. Voprosy shkol'noj i universitetskoj mediciny i zdorov'ya. 2014; (3): 51–2.
20. Novikova II, Vejnih PA. Metodicheskie aspekty ocenki effektivnosti ozdorovleniya detej i podrostkov v sovremennyh usloviyah. Vesti MANEB v Omskoj oblasti. 2013; 3 (3): 30–3
21. Blinova EG, Akimova IS, Chesnokova MG, Demakova LV. The results of the analysis of the anthropometric and bioimpedancemetry studies of students of Omsk city. Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya. 2014; (3): 543 p.
22. Mok E, Letellier G, Cuisset JM, et al. Assessing change in body composition in children with Duchenne muscular dystrophy: anthropometry and bioelectrical impedance analysis versus dual-energy X-ray absorptiometry. Clin Nutr. 2010; 29 (5): 633–8.

23. Kuchma VR, Vishneveckaya TYu, Yamshchikova NL. Issledovanie fizicheskogo razvitiya detej i podrostkov v sisteme social'no-gigienicheskogo monitoringa. Metodicheskie ukazaniya. Utverzhdeny zamestitelem glavnogo gosudarstvennogo sanitarnogo vracha g. Moskvy 12.07.99 g. M., 1999. 37 p.
24. Vdovenko SA, Sazonova OV, Ponomarev VA, Mazur LI, Gavryushin MYu, Borodina LM. Ocenochnye tablicy fizicheskogo razvitiya detej i podrostkov shkol'nogo vozrasta Samarskoj oblasti. Metodicheskie rekomendacii. Samara, 2018. 46 p.
25. Nikolaev DV, Shchelykalina SP. Bioimpedance analysis of the human body composition: Lectures. M., 2016. 152 p.
26. Rudnev SG, Soboleva NP, Sterlikov SA, Nikolaev DV, Starunova OA, Chernykh SP, et al. Bioimpedance study of body composition in the Russian population. M., 2014. 493 p.

## ТЕХНОЛОГИЯ КОМБИНИРОВАННОГО ЛАЗЕРНОГО ЛЕЧЕНИЯ ЭПИРЕТИНАЛЬНОГО ФИБРОЗА: ФИЗИКО-МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ

Х. П. Тахчиди<sup>1,2</sup>, Г. И. Желтов<sup>4</sup>, Г. Ф. Качалина<sup>2</sup>, Т. А. Касмынина<sup>2</sup>, Е. П. Тебина<sup>3</sup>✉

<sup>1</sup> Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва, Россия

<sup>2</sup> Научно-исследовательский центр офтальмологии, Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва, Россия

<sup>3</sup> Педиатрический факультет, Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва, Россия

<sup>4</sup> Институт физики имени Б. И. Степанова НАН Беларуси, Минск, Беларусь

Эпиретинальная мембрана (ЭРМ) возникает в результате пролиферативно-дистрофического процесса во внутренних слоях сетчатки и витреомакулярном интерфейсе. Особый интерес в лечении витреоретинальной патологии представляет применение лазерного излучения в макулярной зоне. При адекватном выборе режимов облучения (длины волны, длительности экспозиции и мощности излучения) лечебный эффект достигается при минимальном повреждающем действии на структуры сенсорной сетчатки. Этот фактор явился серьезным стимулом для развития и совершенствования лазерных технологий в лечении ЭРМ. В представленной работе проведен анализ биофизического отклика структурных элементов сетчатки (динамики температурных и акустических полей, термоденатурации, стимуляции репаративных процессов) при последовательном воздействии лазерного квазинепрерывного излучения и серии микроимпульсов с дальнейшей оценкой основных механизмов лечебного эффекта разработанной комбинированной лазерной технологии у пациентов с ЭРМ.

**Ключевые слова:** эпиретинальный фиброз, субпороговое микроимпульсное лазерное воздействие, комбинированная лазерная технология, оптическая когерентная томография

**Информация о вкладе авторов:** Х. П. Тахчиди, Г. Ф. Качалина — концепция и дизайн исследования; Е. П. Тебина — сбор и обработка материала; Т. А. Касмынина — лазерное лечение пациента; Г. И. Желтов, Т. А. Касмынина, Е. П. Тебина — написание текста; Г. И. Желтов, Х. П. Тахчиди — редактирование.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено этическим комитетом РНИМУ имени Н. И. Пирогова (протокол № 160 от 19 декабря 2016 г.).

✉ **Для корреспонденции:** Екатерина Павловна Тебина  
Волоколамское шоссе, д. 30, корп. 2, 123182; ekaterinatebina@mail.ru

**Статья получена:** 01.03.2019 **Статья принята к печати:** 15.03.2019 **Опубликована онлайн:** 30.04.2019

**DOI:** 10.24075/vrgmu.2019.032

## COMBINATION LASER THERAPY FOR EPIRETINAL MEMBRANE: A PHYSICO-MATHEMATICAL MODEL

Takhchidi KP<sup>1,2</sup>, Zheltov GI<sup>4</sup>, Kachalina GF<sup>2</sup>, Kasminina TA<sup>2</sup>, Tebina EP<sup>3</sup>✉

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

<sup>2</sup> Research Center for Ophthalmology, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

<sup>3</sup> Faculty of Pediatrics, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

<sup>4</sup> Stepanov Institute of Physics, Minsk, Belarus

An epiretinal membrane (ERM) is a product of abnormal cell proliferation on the inner surface of the retina and at the vitreomacular interface. Laser therapy is an interesting modality for treating pathologies of the vitreomacular interface. The wise choice of laser settings (wavelength, exposure time, power) minimizes damage to the retina and ensures a good therapeutic effect. This could be a serious impetus to the development and refinement of laser technologies for treating ERM. This work investigates the biophysical response of structural retinal components, including the dynamics of temperatures and acoustic oscillations, protein denaturation, and stimulation of tissue regeneration, to a quasi-cw laser beam and a subsequent series of laser micropulses. The manuscript also analyzes the mechanisms underlying the therapeutic effect of the proposed laser therapy in patients with ERM.

**Keywords:** epiretinal membrane, subthreshold micropulse laser photocoagulation, combination laser therapy, optical coherence tomography

**Author contribution:** Takhchidi KP and Kachalina GF conceived and designed the study; Tebina EP collected and analyzed the data; Kasminina TA performed laser therapy; Zheltov GI, Kasminina TA, and Tebina EP wrote the manuscript; Zheltov GI and Takhchidi KP revised the manuscript.

**Compliance with ethical standards:** the study was approved by Russian National Research Medical University (Protocol № 160 of December 19, 2016).

✉ **Correspondence should be addressed:** Ekaterina P. Tebina  
Volokolamskoe shosse 30, bld. 2, 123182; ekaterinatebina@mail.ru

**Received:** 01.03.2019 **Accepted:** 15.03.2019 **Published online:** 30.04.2019

**DOI:** 10.24075/brsmu.2019.032

Ежегодно среди глазной патологии, приводящей к слабовидению и слепоте, все чаще встречаются фиброзные заболевания сетчатки, которыми страдают миллионы людей во всем мире [1]. Эпиретинальная мембрана (ЭРМ) является результатом пролиферативно-дистрофического процесса во внутренних слоях сетчатки и витреомакулярном интерфейсе [2]. Он проявляется путем формирования на ретинальной поверхности соединительнотканной структуры, обладающей контракильными свойствами, вызывая складчатость

сетчатки с последующим формированием макулярного отверстия [2, 3].

Наиболее значительную роль в возникновении ЭРМ отводят: задней отслойке стекловидного тела (ЗОСТ), структурным анатомическим особенностям внутренней пограничной мембраны (ВПМ) — наличию микропор и нарушениям микроциркуляции капиллярного русла макулярной зоны [4–6]. По данным мировых исследований, в состав ЭРМ входят разные типы клеток: глиальные клетки (ретинальные клетки

Мюллера, астроциты и микроглия), гиалоциты, макрофаги, ретиальный пигментный эпителий (РПЭ) и фибробласты [7–8]. Независимо от происхождения исходных клеточных компонентов, ключевым моментом в процессе формирования и прогрессирования ЭРМ является их трансдифференцировка в миофибробластоподобные клетки, для которых характерно выраженное продуцирование трансформирующего фактора роста коллагена, что способствует сокращению ЭРМ [9–10]. Показано, что самая активная клеточная пролиферация при ЭРМ происходит в толще сетчатки задолго до появления клинических симптомов. После возникновения мембраны на ретиальной поверхности процесс пролиферации завершается [11].

Существует большое количество различных методов подавления клеточной пролиферации на ранних стадиях развития: интравитреальное введение высоких доз глюкокортикостероидов, лучевая терапия и применение цитостатиков [12]. Однако предложенные методы несут довольно высокий риск развития нежелательных побочных явлений и не зарекомендовали себя в лечении данной патологии. На сегодняшний день основные принципы ведения пациентов с ЭРМ сводят к двум аспектам: динамическому наблюдению за пролиферативным процессом и витреоретиальной хирургии [13].

Несмотря на значительный прогресс в изучении патогенетических механизмов развития ЭРМ, условия трансдифференцировки витреоретинальных клеток в миофибробласты не изучены. Нерешенным остается вопрос, стоит ли применять удаление ЭРМ хирургическим путем на этапе ее начального развития, или же оперативное вмешательство можно отложить до тех пор, пока не появятся характерные для нее клинические симптомы (снижение остроты зрения, метаморфопсии). Тем не менее добиться функционального успеха после проведения оперативного вмешательства удается далеко не всегда, при этом зачастую ЭРМ является рекуррентной [12].

Особый интерес в лечении патологии витреоретинального интерфейса представляет применение лазерного излучения в макулярной зоне [14–15]. При адекватном выборе режимов облучения (длина волны, длительность экспозиции и мощность излучения) лечебный эффект можно достигнуть при минимальном повреждающем действии на структуры сенсорной сетчатки [16–17]. Одним из последних достижений в рассматриваемой области является запатентованная и прошедшая первичную клиническую апробацию методика комбинированного лазерного лечения начальных стадий эпиретинального фиброза, которая включает избирательную точечную коагуляцию сетчатки в зоне ЭРМ желтым лазером и последующую субпороговую стимуляцию сериями микроимпульсов [18]. Результатом лечебного воздействия являются инволюция ЭРМ, улучшение остроты зрения, повышение светочувствительности сетчатки.

Дальнейшее применение и развитие предложенной методики во многом зависит от понимания механизмов ее лечебного воздействия. Первым шагом в решении этой задачи является углубленное изучение биофизических процессов взаимодействия излучения с отдельными структурными элементами сетчатки. Здесь, в частности, может быть использован метод математического моделирования, адаптированный к режимам лечебного воздействия на ЭРМ [17–20].

Нами была создана физико-математическая модель, позволяющая прогнозировать биофизические эффекты применяемых параметров лазерного воздействия на

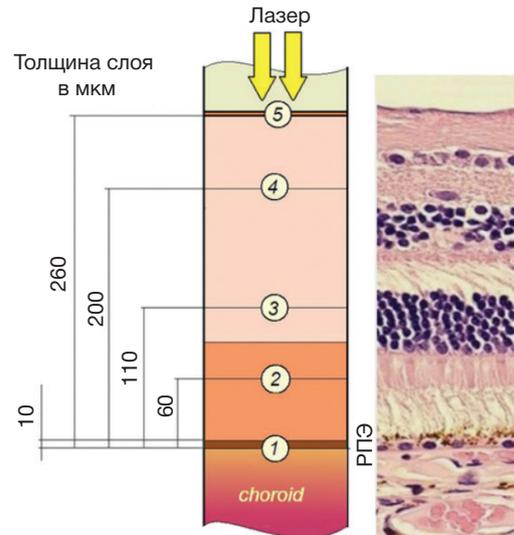


Рис. 1. Анатомо-топографическая структура модели хориоретинального комплекса. 1 — ретиально-пигментный эпителий (10 мкм), 2 — фоторецепторный слой (60 мкм), 3 — наружный зернистый слой (110 мкм), 4 — внутренний зернистый слой (200 мкм), 5 — внутренняя пограничная мембрана (260 мкм)

ткани пациентов. Целью данного исследования являлся анализ биофизического отклика структурных элементов сетчатки (динамики температурных и акустических полей, термоденатурации, стимуляции репаративных процессов) при последовательном воздействии лазерного квазинепрерывного излучения и серии микроимпульсов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Основываясь на результатах исследований, проведенных на моделях животных (кролики, приматы), были определены условия и механизмы формирования локальных первичных изменений нативной структуры тканей хориоретинального комплекса под воздействием лазерного излучения [17, 19].

Эти представления в совокупности с данными об оптико-спектральных и физических свойствах интраокулярных структур послужили базой для разработки физической модели взаимодействия потоков лазерного излучения с тканями глазного дна (рис. 1) [19]. Математическая интерпретация этой модели положена в основу расчетов и оптимизации параметров излучения, необходимых для стабилизации ретиальной архитектоники и ингибирования клеточной пролиферации на ранних стадиях развития ЭРМ.

Модель представляет собой многослойную систему, где геометрические размеры, физические и оптические свойства слоев равнозначны свойствам основных анатомических структур глазного дна [21]. В наиболее

$$\rho(Z)C_p(Z) \frac{\partial T}{\partial t} + F^{(k)}(U, V) = \frac{1}{r} \frac{\partial}{\partial r} \left[ r \kappa(Z) \frac{\partial T}{\partial r} \right] + \frac{\partial}{\partial Z} \left[ \kappa(Z) \frac{\partial T}{\partial Z} \right] + Q(t)q(r, Z, k, s);$$

$$q_i(r, Z) = \frac{E_{i-1} (k_i + s_i) R_{i-1}^2}{r_{i-1}^2} \exp \left[ -k_i (Z - Z_i) - \frac{r^2}{r_s^2} \right]$$

Рис. 2. Уравнение теплообмена для каждого слоя: *i* — номер слоя; *T* (*r*, *Z*, *t*) — превышение температуры над физиологической нормой (37 °С); *C<sub>p</sub>* (*Z*), *ρ* (*Z*), *κ* (*Z*), — теплоемкость, плотность и теплопроводность соответственно; *Q*(*t*) — зависимость от времени интенсивности поглощаемого излучения, *q* — объемная мощность тепловыделения, *k* и *s* — показатели поглощения и рассеяния; *F<sup>(k)</sup>* — функция, определяемая скоростями конвекции в радиальном *V* и осевом *U* направлениях; *R<sub>i-1</sub>* и *E<sub>i-1</sub>* — радиус пятна по уровню exp(−1) и облученность на оси лазерного Гауссова пучка на границе раздела с предыдущим слоем

общей форме модели учитывают особенности распространения лазерного пучка в переднем отрезке глаза, поглощение и рассеяние излучения структурными элементами нейроэпителия и сосудистой оболочки, а также такие факторы, как наличие кровотока в хориоидее с градиентом скорости на участке от мембраны Бруха до склеры. Лазерное излучение поглощается меланопротеиновыми гранулами (МПГ) и преобразуется в тепло.

Оптические свойства интраокулярных структур в переднем отрезке глазного яблока выбраны с ориентацией на возраст пациента выше 40 лет. Концентрация пигмента в РПЭ принята равной 0,2 и характерна для человека европейского типа. Заявленная комбинированная технология лазерного лечения ЭРМ включает сочетание непрерывной лазеркоагуляции по типу «решетки» со следующими энергетическими параметрами — длина волны 577 нм, мощность 50 мВт, длительность импульса 0,05 с, диаметр пятна 100 мкм, расстояние между лазеркоагулятами 150 мкм и субпорогового микроимпульсного лазерного воздействия — длина волны 577 нм, длительность пакета 30 мс, длительность микроимпульса 50 мкс, скважность 4,7%, частота следования микроимпульсов 1000 Гц, диаметр пятна 100 мкм, мощность 50 мВт [18]. Эти параметры использовались в качестве начальных условий для расчетов. Температурное поле в тканях хориоретинального комплекса определяли посредством численного решения двумерного уравнения теплообмена [19, 22]. Уравнение для каждого слоя модели представлено на рис. 2. В расчете диаметр облучаемой области в плоскости пигментного эпителия принят равным 100 мкм, в соответствии с диаметром пятна. Радиальное распределение облученности считается Гауссовым. Было использовано лазерное излучение длиной волны 577 нм. С учетом возраста и обычных оптических потерь в переднем отрезке глаза мощность излучения, поглощаемая в хориоретинальном комплексе, принята равной 0,035 Вт [21, 23]. В этом случае при радиусе пучка  $r = 50$  мкм облученность тканей в плоскости внутренней пограничной мембраны составляет  $E \approx 4,5 \cdot 10^6$  Вт/м<sup>2</sup>. Форма импульса лазерного излучения (в уравнении она определяет функцию  $Q(t)$ ) принята прямоугольной.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

Ниже представлена динамика формирования и последующей эволюции температурного поля при облучении сетчатки лазерным импульсом с приведенными параметрами. Результаты расчета распределения температуры на оси лазерного пучка ( $r = 0$ ) представлены на рис. 3. Кривая 1 отражает уровень нагрева тканей (функция  $T(Z, r = 0)$ ) к моменту окончания лазерного импульса. Комментируя характер этой зависимости, отметим следующее: усредненный показатель оптического поглощения РПЭ для излучения желтого лазера —  $k_{\text{РПЭ}}$  в рассматриваемом случае имеет порядок  $3-10^{-4}$  м<sup>-1</sup>. В этом случае примерно 30% энергии падающего излучения поглощают пигментные гранулы РПЭ, 70% распространяется далее в капиллярный слой и хориоидею, поглощается гемоглобином крови, что вызывает адекватный нагрев тканей (кривая 1, рис. 3).

В прилегающей к РПЭ области хориоидеи создается зона повышенного нагрева, превышающая температуру РПЭ. Эта область служит своеобразным буфером, обеспечивающим направленное распространение теплового фронта к внутренним слоям нейроэпителия. При этом она не только препятствует отводу тепловой энергии от РПЭ

в сторону хориоидеи, но и осуществляет своеобразную «подпитку» нейроэпителия, направленного к внутренним областям. При остывании в рассматриваемых условиях тепловой фронт достигает внутренней пограничной мембраны примерно через 0,3 с после начала облучения. В дальнейшем процесс остывания продолжается несколько секунд и стимулирует фототермическую регенерацию всех структурных элементов нейроэпителия.

Отметим также, что относительно невысокий (в частности, по сравнению с  $k_i$  зеленой области спектра) показатель поглощения излучения РПЭ  $k_{\text{РПЭ}}$  снижает критичность лучевой стойкости тканей глазного дна к индивидуальной степени пигментации пациентов. Это качество крайне важно для современной офтальмохирургии, с учетом отсутствия поглощения желтой линии спектра макулярными пигментами [20, 21, 24].

Динамика нагрева и остывания тканей  $T(t, Z, r = 0)$  в отдельных слоях сетчатки вблизи оси лазерного пучка показана на рис. 4. На графике выделены области, соответствующие определенному доминирующему опотермическому воздействию излучения на ткани сетчатки.

Показано, что импульсный нагрев в течение 0,05 с примерно на 35 °С выше физиологической нормы приводит к термической денатурации белков РПЭ и сенсорной сетчатки [19, 25]. Около 70% белковых молекул подвергаются при этом необратимому воздействию. Указанное значение температуры для рассматриваемых условий называют пороговым. Повышение температуры над пороговым значением усугубляет необратимые деструктивные изменения тканей: на рис. 5 область нагрева тканей, расположенная выше пороговой температуры, определена термином «denaturation».

Импульсный нагрев тканей в интервале примерно 10–25 °С не вызывает необратимых изменений структуры тканей, при этом имеет место терапевтическое воздействие, включающее стимуляцию регенеративных процессов в тканях сетчатки [26]. Эта область определена на рисунке термином «Photothermal stimulation».

Для промежуточного интервала импульсного нагрева, равного 25–35 °С, характерна конкуренция деструктивных и репаративных процессов. Любые оценки степени доминирования одного из этих процессов могут иметь не более чем оценочный характер. Математическое моделирование не обеспечивает приемлемой точности этих оценок. Указанная область названа «The staging area».

Таким образом, при выбранных энергетических режимах облучения сетчатки модель прогнозирует

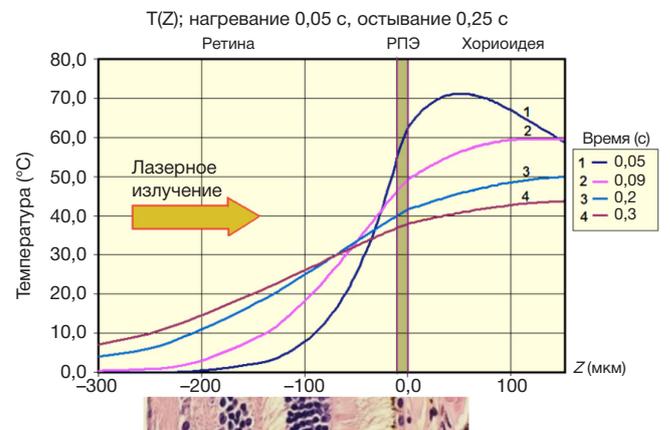


Рис. 3. Зависимость нагрева тканей сетчатки от длительности импульса. Координаты  $Z$  ( $r = 0$ ) толщины хориоретинального комплекса к моменту окончания импульса излучения,  $t = 0,05$  с (1) и в процессе остывания через 0,09 с (2), 0,2 с (3) и 0,3 с (4) от начала облучения

полную денатурацию белковых структур РПЭ и локальную, полную или частичную, коагуляцию сенсорной сетчатки (кривая 1, рис. 4). Наиболее эффективное терапевтическое фототермическое действие излучения на ткани реализуется в области наружного и внутреннего ядерного слоев и захватывает частично внутренний плексиформный слой и слой ганглиозных клеток. Отметим также, что длительность терапевтического нагрева указанных областей определяет процесс остывания тканей в облучаемой области. Время остывания в рассматриваемом случае во много раз превышает длительность непосредственного лазерного воздействия и достигает нескольких секунд.

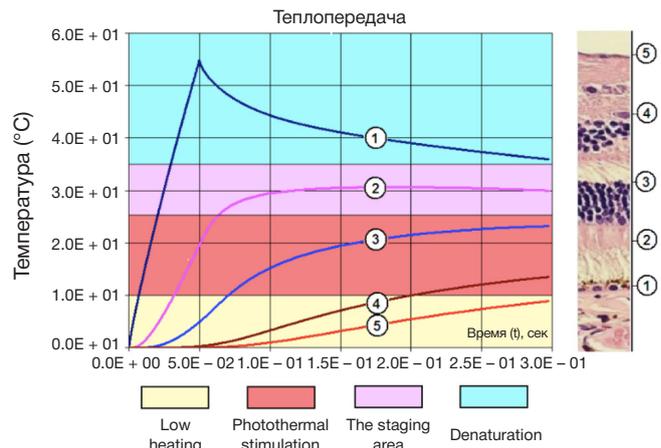
В области сетчатки, близкой к внутренней пограничной мембране и формирующейся ЭРМ, вероятность эффективной фототермической стимуляции остается конечной, но существенно снижается (кривая 5, рис. 4). Это обстоятельство практически исключает непосредственную фотостимуляцию роста патологической ЭРМ. Для демонстрации радиального распределения температуры в рассматриваемых условиях представлены изотермы для 10, 25 и 35 °C в плоскости  $r, Z$  (рис. 5). Выбранные интервалы температур соответствуют данным на рис. 3. Таким образом, уменьшение длительности импульса до 0,03 с сдвигает область эффективной фототермической стимуляции ближе к внутреннему ядерному слою. Увеличение длительности импульса до 0,07 с, наоборот, углубляет зону терапевтического нагрева, охватывает ЭРМ и может непосредственно стимулировать ее рост.

**Оценка термомеханического действия излучения на ткани при стимуляции в микроимпульсном режиме**

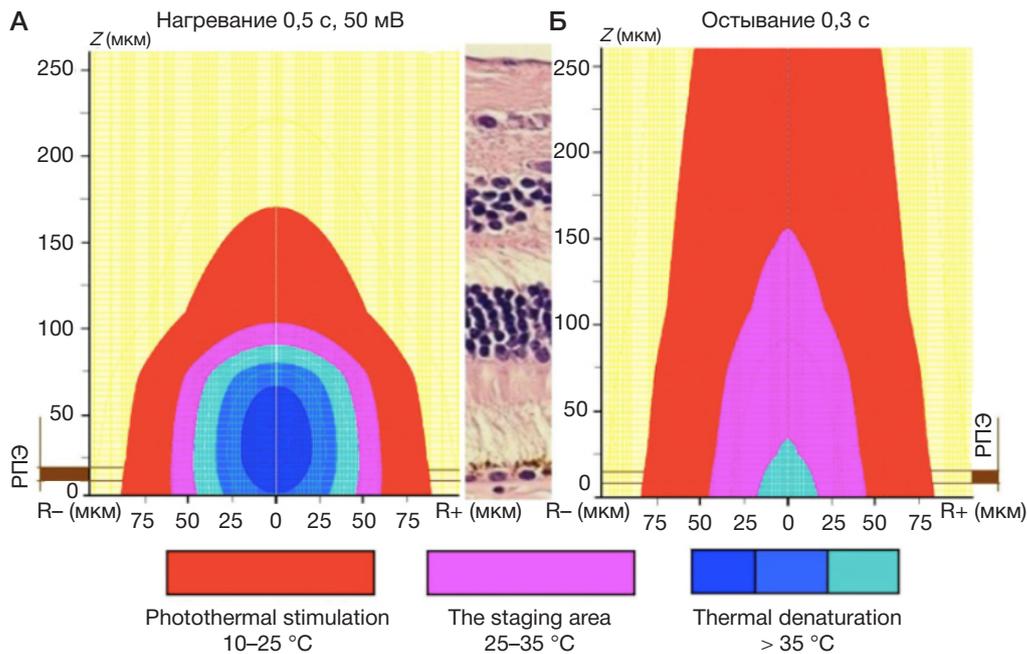
Для оценки термомеханического действия коротких импульсов лазерного излучения на биологические структуры использовали более сложный математический аппарат [27, 28]. Воздействие коротких импульсов сопровождается генерацией механических (акустических) колебаний. Для импульсов длительностью 50 мкс при мощности желтого лазера 50 мВт амплитуда механических колебаний имеет порядок десятых долей бар (1 бар ≈ 1 атм).

Порог механического (кавитационного) разрушения биоткани в этом случае имеет порядок 30–40 бар [28, 29].

Расчеты показывают, что при выбранной мощности лазера 50 мВт и длительности лазерного импульса 50 мкс нагрев на оси лазерного пучка в самой горячей точке пигментного эпителия не превышает 0,15 °C. При частоте следования 1000 Гц следующий короткий импульс прибывает через  $10^{-3}$  с (1 мс). Какой бы уровень нагрева ни был, остывание — медленный процесс. В промежутке между импульсами РПЭ полностью не остывает и, таким образом, от импульса к импульсу происходит накопление нагрева. За период 0,03 с формируется постоянная составляющая нагрева, близкая 2 °C. Пороговая температура, как сказано выше, составляет 30–35 °C. Нагрев и остывание для всех частей сетчатки



**Рис. 4.** Динамика нагрева и остывания  $T(t, Z_r, r = 0)$  в зонах сетчатки, соответствующих  $Z_r$ : 1 — ретиально-пигментный эпителий (0,0 мкм), 2 — фоторецепторный слой (60 мкм), 3 — наружный зернистый слой (110 мкм), 4 — внутренний зернистый слой (200 мкм), 5 — внутренняя пограничная мембрана (260 мкм). Синим обозначена зона необратимой денатурации белковых молекул при температуре выше 25 °C. Красным обозначена зона фототермальной стимуляции, где температура достигает диапазона от 10 до 25 °C, при данной температуре терапевтический эффект достигается, при этом необратимая денатурация практически не происходит. Промежуточная зона, обозначенная сиреневым, является зоной перехода репаративных процессов к необратимой денатурации белковых молекул



**Рис. 5.** Распределение уровня нагрева (А) и уровня остывания (Б) тканей сетчатки  $T(r, Z)$  в сагиттальной плоскости к моменту окончания лазерного импульса при  $t = 0,05$  с и при остывании для  $t = 0,3$  с

происходит по законам, аналогичным показанным на рис. 2–4, однако в данном случае нагрев в 20 раз ниже.

Таким образом, и термическое, и механическое действие излучения на ткани при выбранном для стимуляции режиме достаточно «легкое». Фотостимулированное нарушение нативной структуры нейроэпителлия практически исключено. Терапевтический эффект обусловлен термомеханическим воздействием низкоинтенсивного излучения с указанными параметрами.

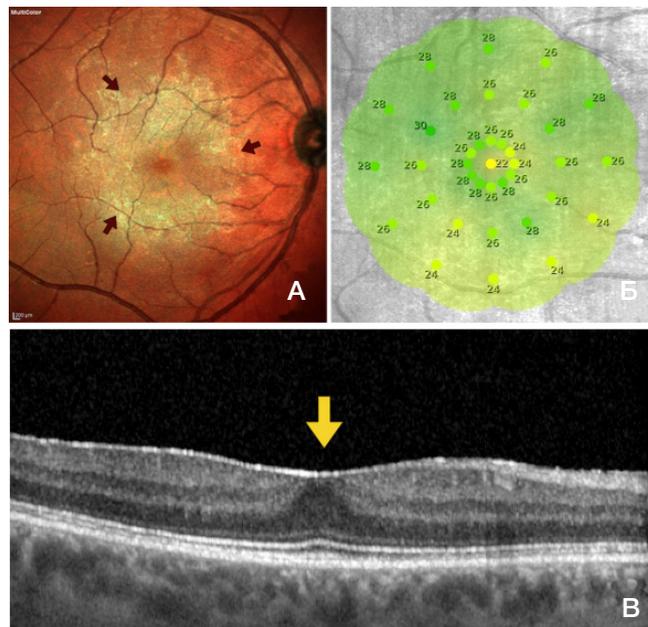
Для демонстрации эффективности и безопасности предложенной технологии приводим следующий клинический случай.

Пациент И., 68 лет. Жалобы на снижение остроты зрения и «искривления» правым глазом. При поступлении некоррегированная острота зрения (НКОЗ) составила 0,6, максимально коррегированная острота зрения (МКОЗ) — 1,0. При биомикроскопии: OD — оптические среды прозрачны. Диск зрительного нерва (ДЗН) бледно-розовый, границы четкие. В макулярной зоне визуализируется «целлофановая» мембрана.

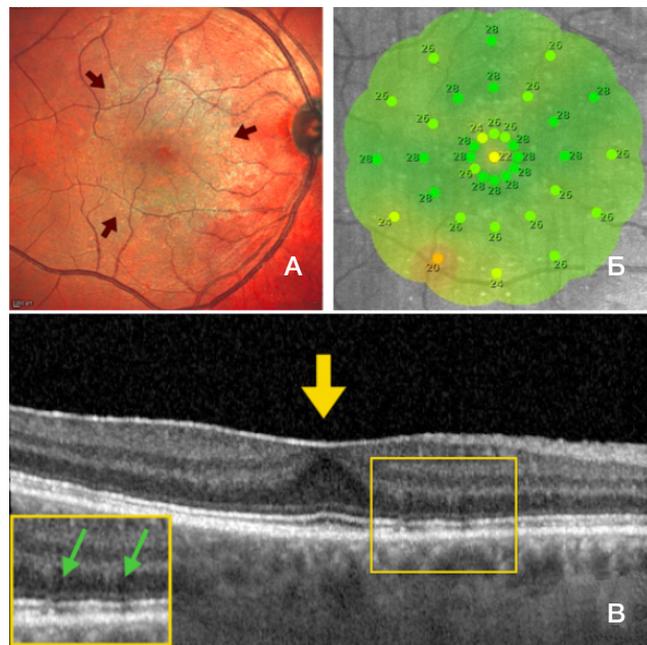
Пациенту было проведено комплексное мультимодальное обследование, включающее в себя: мультиспектральное лазерное сканирование сетчатки «Multicolor», с использованием монохроматических фильтров: синего (BR; 488 нм), зеленого (GR; 515 нм) и инфракрасного (IR; 820 нм); спектральную оптическую когерентную томографию (СОКТ), оптическую когерентную томографию ангиографию (ОКТА) в режиме «En Face» с помощью «Spectralis OCT» (Heidelberg Engineering, Inc; Германия) и компьютерную микропериметрию с помощью MAIA (CenterVue; Италия).

В результате мультиспектрального исследования в режиме «Multicolor» были визуализированы очаговые желто-зеленые фокусы от поверхности ЭРМ, характеризующие ее проминирование (рис. 6А). По результатам компьютерной микропериметрии в центральной зоне средняя

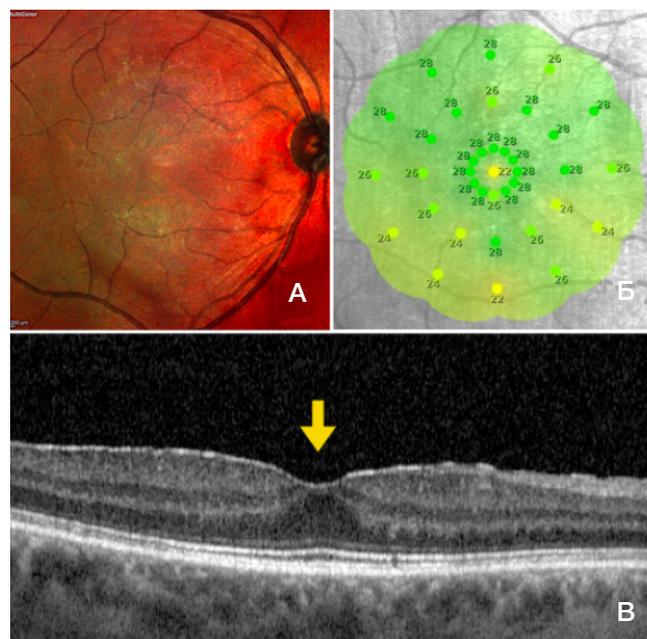
светочувствительность сетчатки составила 26,3 дБ (рис. 6Б). По данным ОКТ-томограммы, проходящей через фовеа, визуализировалась гиперрефлективная линия, плотно связанная с внутренней пограничной мембраной, при этом фовеолярный профиль был сглажен. Отмечалось увеличение



**Рис. 6.** Исследование глазного дна до начала лечения. Снимок глазного дна в режиме Multicolor в желто-зеленом цвете визуализируются поверхность и границы ЭРМ (красная стрелка) (А); компьютерная микропериметрия макулярной зоны: средняя величина светочувствительности — 26,3 дБ (Б); СОКТ: на ретиальной поверхности мембраны определяется линия гиперрефлективности, полностью слитая с внутренней пограничной мембраной; фовеолярный профиль сглажен (желтая стрелка), толщина сетчатки в центральной зоне составила 257 мкм (В)



**Рис. 7.** Исследование глазного дна после проведения лазерной коагуляции по типу «решетки». Снимок глазного дна в режиме «Multicolor»: в макулярной зоне наблюдается снижение плотности и «ступенчатость» границ ЭРМ (красная стрелка) (А); компьютерная микропериметрия макулярной зоны: средняя величина светочувствительности — 26,5 дБ (Б); СОКТ: на ретиальной поверхности мембраны определяется линия гиперрефлективности, полностью слитая с ВГМ, фовеолярный профиль сглажен (желтая стрелка), толщина сетчатки в центральной зоне незначительно снижена до 253 мкм (В). На скане ОКТ зеленой стрелкой обозначены лазеркоагуляты, архитектура ретиальных слоев остается неизменной



**Рис. 8.** Исследование глазного дна после комбинированного лазерного лечения. Снимок глазного дна в режиме "Multicolor": визуализируется инволюция ЭРМ (А); компьютерная микропериметрия: средняя величина светочувствительности сетчатки — 26,6 дБ (Б); СОКТ: на ретиальной поверхности мембраны плотность гиперрефлективной линии уменьшилась (ЭРМ), вновь формируется фовеолярный профиль (желтая стрелка), толщина сетчатки в центральной зоне составила 246 мкм (В)

центральной толщины сетчатки до 257 мкм. Наружная пограничная мембрана, линия сочленения наружных и внутренних сегментов фоторецепторов, комплекс пигментного эпителия-хориокапилляров и хориоидея не изменены (рис. 6В).

На основании проведенного офтальмологического обследования пациенту был поставлен диагноз: ОД Эпиретинальный фиброз, 0–1 стадия. Предложено проведение лазерного лечения по комбинированной технологии, включающей в себя непрерывное лазерное воздействие по типу «решетки» длиной волны 577 нм и субпороговое микроимпульсное лазерное воздействие длиной волны 577 нм (3 сеанса с периодичностью месяц).

На первом этапе лечения проводили непрерывную лазерную коагуляцию сетчатки по типу «решетки», исключая аваскулярную зону, со следующими энергетическими параметрами: длина волны — 577 нм, мощность — 50 мВт, длительность импульса — 0,05 с, диаметр пятна — 100 мкм, расстояние между лазеркоагулятами — 150 мкм. Через 2 недели проведено контрольное офтальмологическое исследование: ОД НКОЗ — 0,7; МКОЗ — 1,0. По данным мультиспектрального исследования в режиме «Multicolor» в центральной зоне наблюдали снижение плотности и «стусшеванность» границ ЭРМ, по всей поверхности мембраны, исключая аваскулярную зону, были отмечены лазерные коагуляты (рис. 7А). По данным компьютерной микропериметрии средняя светочувствительность сетчатки составила 26,5 дБ (рис. 7Б). По данным СОКТ: фовеолярный профиль сглажен, видна гиперрефлективная линия, плотно прилегающая к ретиальной поверхности (ЭРМ). Отмечено снижение толщины сетчатки в центральной зоне до 253 мкм. Наружная пограничная мембрана, линия сочленения наружных и

внутренних сегментов фоторецепторов, комплекс пигментного эпителия хориокапилляров, хориоидея не изменены (рис. 7В).

После проведения трех сеансов субпорогового микроимпульсного лазерного воздействия с периодичностью раз в месяц, на контрольном осмотре через 6 месяцев выполнено комплексное офтальмологическое обследование: НКОЗ составило 0,9, МКОЗ — 1,0. По данным мультиспектрального исследования в режиме «Multicolor», в центральной зоне визуализируется инволюция ЭРМ (рис. 8А). По данным компьютерной микропериметрии, средняя светочувствительность сетчатки составила 26,6 дБ (рис. 8Б). По данным СОКТ, отмечается формирование фовеолярного профиля, центральная толщина сетчатки снижена до 246 мкм. Наружная пограничная мембрана, линия сочленения наружных и внутренних сегментов фоторецепторов, комплекс пигментного эпителия — хориокапилляров, хориоидея не изменены (рис. 8В). На ретиальной томограмме в послеоперационном периоде отмечена корреляция зон коагуляции с зонами фототермической стимуляции, отраженной на рис. 3 и 4.

## Выводы

Разработана новая технология комбинированного лазерного лечения ЭРМ при начальных стадиях ее формирования. С использованием методов математического моделирования проведены углубленные исследования динамики термомеханического действия лазерного излучения на структурные элементы нейроретина в процессе лечебного воздействия на ЭРМ. По результатам исследований показаны основные механизмы лечебного эффекта комбинированного лазерного воздействия при ЭРМ.

## Литература

- Leask A, Abraham D. TGF- $\beta$  signaling and the fibrotic response. *The FASEB Journal*. 2004; 18 (7): 816–27.
- Качалина Г. Ф., Касмынина Т. А., Иванова Е. В., Куранова О. И. Лазерное лечение трансудативной макулопатии, вызванной наличием эпиретинальной мембраны. Современные технологии лечения витреоретинальной патологии. В сборнике тезисов. ФГБУ «МНТК «Микрохирургия глаза». 2012; 94–6.
- Patronas M, Kroll A, Lou P, Ryan E. A Review of Vitreoretinal Interface Pathology. *International Ophthalmology Clinics*. 2009; 49 (1): 133–43.
- Пономерёва Е. Н., Казарян А. А. Структурно-функциональные особенности макулярной зоны сетчатки при идиопатической эпиретинальной мембране. *Российский офтальмологический журнал*. 2013; (2): 66–9.
- Guidry C. The role of Müller cells in fibrocontractive retinal disorders. *Progress in Retinal and Eye Research*. 2005; 24 (1): 75–86.
- Harada C, Mitamura Y, Harada T. The role of cytokines and trophic factors in epiretinal membranes: Involvement of signal transduction in glial cells. *Progress in Retinal and Eye Research*. 2006; 25 (2): 149–64.
- Zhao F, Gandorfer A, Haritoglou C, Scheler R, Schaumberger M, Kampik A, et al. Epiretinal Cell Proliferation in Macular Pucker and Vitreomacular Traction Syndrome. *Retina*. 2013; 33 (1): 77–88.
- Joshi M, Agrawal S, Christoforidis J. Inflammatory Mechanisms of Idiopathic Epiretinal Membrane Formation. *Mediators of Inflammation*. 2013; (2013): 1–6.
- Hinz B, Phan SH, Thannickal VJ, et al. The myofibroblast: one function, multiple origins. *Am J Pathol*. 2007; (170): 1807–16.
- Захаров В. Д., Борзенко С. А., Горшком И. М., Колесник С. В., Колесник А. И., Миридонова А. В. Этиопатогенетические аспекты и роль структур витреоретинального интерфейса в формировании идиопатических эпиретинальных мембран. *Практическая медицина*. 2018; (114): 71–6.
- Качалина Г. Ф., Дога А. В., Касмынина Т. А., Куранова О. И. Эпиретинальный фиброз: патогенез, исходы, способы лечения. *Офтальмохирургия*. 2013; (4): 108–10.
- Куранова О. И. Изучение эффективности микроимпульсного лазерного воздействия длиной волны 577 нм при макулярном отеке после хирургического удаления идиопатической эпиретинальной мембраны [диссертация]. 2014.
- Bu S, Kuijer R, Li X, Hooymans J, Los L. Idiopathic epiretinal membrane. *Retina*. 2014; 34 (12): 2317–35.
- Большунов А. В. Вопросы лазерной офтальмологии. М., 2013; 316 с.
- Краснов М. М., Сапрыкин П. И., Доронин П. П., Никольская Г. М., Акопян В. С., Мамедов Н. Г. Электронно-микроскопическое изучение тканей глазного дна при лазеркоагуляции. *Вестник офтальмологии*. 1973; (2): 9–12.
- Федорук Н. А., Федоров А. А., Большунов А. В. Морфологические и гистохимические особенности субпорогового лазерного воздействия на структуры хориоретинального комплекса. *Вестник офтальмологии*. 2013; (5): 73–81.
- Желтов Г. И., Романов Г. С., Романов О. Г., Иванова Е. В. Селективное действие лазерных импульсов на ретиальный пигментный эпителий. *Физические основы. Новое в офтальмологии*. 2012; (3): 37–43.
- Тахчиди Х. П., Качалина Г. Ф., Касмынина Т. А., Тебина Е. П. Способ комбинированного лазерного лечения начальной стадии эпиретинального фиброза. Патент РФ №2634684. 02.11.2017.

19. Желтов Г. И. Воздействие интенсивного оптического излучения на ткани глаз: исследования и приложения [диссертация]. 1996.
20. Желтов Г. И. Биофизика деструктивного действия надпорогового лазерного излучения на ткани глазного дна. II Всероссийский семинар: «МАКУЛА 2006». Доклад в сборнике материалов конференции. 2006; 71–85.
21. Jacobs S. Safety with Lasers and Other Optical Sources, by D. Sliney and M. Wolbarsht. Medical Physics. 1981; 8 (5): 725–6.
22. Карслоу Г., Егер Д. Теплопроводность твердых тел. М.: Наука, 1964; 488.
23. Линник Л. А., Желтов Г. И., Глазков В. Н., Пухлик Е. С., Привалов А. П. Изменение энергетических порогов лазерокоагуляции тканей сетчатки с возрастом больных. Офтальмологический журнал. 1988; 6 (302), 355–8.
24. Желтов Г. И. Действие надпорогового лазерного излучения на ткани глазного дна. Офтальмология в Беларуси. 2009; 3 (03): 24–40.
25. Barnes FS. Biological Damage Resulting from Thermal Pulses. In: Wolbarsht ML, Ed. Laser Application in Medicine and Biology. Ntw York: Plenum Press, 1984; 205–22.
26. Клепинина О. Б. Субпороговое микроимпульсное лазерное воздействие длиной волны 577 нм при лечении центральной серозной хориоретинопатии. Тамбов, 2014; 61.
27. Romanov OG, Romanov GS, Zheltov GI. Numerical modelling of photo-thermal and photo-mechanical effects in absorbing biological structures under action of short laser pulses Proceedings of SPIE. 2013; (8803). DOI: 10.1117/12.2032462.
28. Zheltov G, Lisinetskii V, Grabtchikov A, Orlovich V. Low-threshold cavitation in water using IR laser pulse trains. Applied Optics. 2008; 47 (20): 3549–54.
29. Oraevsky A, Jacques S, Esenaliev R, Tittel F. Pulsed laser ablation of soft tissues, gels, and aqueous solutions at temperatures below 100 °C. Lasers in Surgery and Medicine. 1996; 18 (3): 231–40.

## References

1. Leask A, Abraham D. TGF- $\beta$  signaling and the fibrotic response. The FASEB Journal. 2004; 18 (7): 816–27.
2. Kachalina GF, Kasminina TA, Ivanova EV, Kuranova OI. Laser treatment of transudative maculopathy caused by the epiretinal membrane. Modern technologies of treatment of vitreoretinal pathology. S. Fyodorov Eye Microsurgery Federal State Institution. 2012; 94–6.
3. Patronas M, Kroll A, Lou P, Ryan E. a Review of Vitreoretinal Interface Pathology. International Ophthalmology Clinics. 2009; 49 (1): 133–43.
4. Ponomareva EN, Kazaryan AA. The electroretinogram and the pattern of optical coherence tomography in patients with idiopathic epiretinal membrane. Russian Ophthalmological Journal. 2013; (2): 66–9.
5. Guidry C. The role of Müller cells in fibrocontractive retinal disorders. Progress in Retinal and Eye Research. 2005; 24 (1): 75–86.
6. Harada C, Mitamura Y, Harada T. The role of cytokines and trophic factors in epiretinal membranes: Involvement of signal transduction in glial cells. Progress in Retinal and Eye Research. 2006; 25 (2): 149–64.
7. Zhao F, Gandorfer A, Haritoglou C, Scheler R, Schaumberger M, Kampik a et al. Epiretinal Cell Proliferation in Macular Pucker and Vitreomacular Traction Syndrome. Retina. 2013; 33 (1): 77–88.
8. Joshi M, Agrawal S, Christoforidis J. Inflammatory Mechanisms of Idiopathic Epiretinal Membrane Formation. Mediators of Inflammation. 2013; (2013): 1–6.
9. Hinz B, Phan SH, Thannickal VJ, et al. The myofibroblast: one function, multiple origins. Am J Pathol. 2007; (170): 1807–16.
10. Zakharov VD, Borzenok SA, Gorshkov IM, Kolesnik SV, Kolesnik AI, Miridonova AV. Etiological and pathogenetic aspects and role of vitreoretinal interface structures in idiopathic epiretinal membranes formation. Practical medicine. 2018; (114): 71–76.
11. Kachalina GF, Doga AV, Kasmyrina TA, Kuranova OI. Epiretinal fibrosis: pathogenesis, outcomes, treatment methods. Ophthalmosurgery. 2013; 4: 108–10.
12. Kuranova OI. The study of the effectiveness of micropulse laser irradiation with a wavelength of 577 nm in macular edema after surgical removal of idiopathic epiretinal membrane [dissertation]. 2014.
13. Bu S, Kuijjer R, Li X, Hooymans J, Los L. Idiopathic epiretinal membrane. Retina. 2014; 34 (12): 2317–35.
14. Bolshunov AV. Questions of laser ophthalmology. M., 2013; 316.
15. Krasnov MM, Saprykin PI, Doronin PP, Nikolskaya GM, Akopyan VS, Mamedov NG. Electron-microscopic examination of the fundus tissue during laser coagulation. Bulletin of Ophthalmology. 1973; (2): 9–12.
16. Fedoruk NA, Fedorov AA, Bol'shunov AV. Morphological and histochemical effects of subthreshold laser therapy on the chorioretinal complex/ Bulletin of Ophthalmology. 2013; (5): 73–81.
17. Zheltov GI, Romanov GS, Romanov OG, Ivanova EV. Selective effect of laser pulses on the retinal pigment epithelium. Physical basis. New in ophthalmology. 2012; (3): 37–43.
18. Tahchidi HP, Kachalina GF, Kasmyrina TA, Tebina EP. The method of combined laser treatment of the initial stage of epiretinal fibrosis RF № 2634684. 02.11.2017.
19. Zheltov GI. Effect of intense optical radiation on eye tissue: research and applications. Extended abstract of candidate's thesis [dissertation]. 1996.
20. Zheltov GI. Biophysics of the destructive action of the above-threshold laser radiation on the fundus tissue. II All Russian seminar: "MAKULA 2006". Report in the conference proceedings. 2006; 71–85.
21. Jacobs S. Safety with Lasers and Other Optical Sources, by D. Sliney and M. Wolbarsht. Medical Physics. 1981; 8 (5): 725–6.
22. Karslow G, Eger D. Thermal conductivity of solids. M.: Science, 1964; 488.
23. Linnik LA, Zheltov GI, Glazkov VN, Puhlik ES, Privalov AP. Change of energy thresholds of laser coagulation of retinal tissues with the age of patients. Ophthalmological journal. 1988; 6 (302): 355–8.
24. Zheltov GI. Effects of above-threshold laser radiation on the fundus tissue. Ophthalmology in Belarus. 2009; 3 (03): 24–40.
25. Barnes FS. Biological Damage Resulting from Thermal Pulses. In: Wolbarsht ML, Ed. Laser Application in Medicine and Biology. Ntw York: Plenum Press, 1984; 205–22.
26. Klepinina OB Subthreshold micropulse laser treatment with a wavelength of 577 nm in the treatment of central serous chorioretinopathy. Tambov, 2014; 61.
27. Romanov OG, Romanov GS, Zheltov GI. Numerical modelling of photo-thermal and photo-mechanical effects in absorbing biological structures under action of short laser pulses Proceedings of SPIE. 2013; (8803). DOI: 10.1117/12.2032462.
28. Zheltov G, Lisinetskii V, Grabtchikov A, Orlovich V. Low-threshold cavitation in water using IR laser pulse trains. Applied Optics. 2008; 47 (20): 3549–54.
29. Oraevsky A, Jacques S, Esenaliev R, Tittel F. Pulsed laser ablation of soft tissues, gels, and aqueous solutions at temperatures below 100 °C. Lasers in Surgery and Medicine. 1996; 18 (3): 231–40.

## КЛИНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА РАЗРАБОТАННОЙ ТЕХНОЛОГИИ КОМБИНИРОВАННОГО ЛАЗЕРНОГО ЛЕЧЕНИЯ ПРИ НАЧАЛЬНЫХ СТАДИЯХ ИДИОПАТИЧЕСКОЙ ЭПИРЕТИНАЛЬНОЙ МЕМБРАНЫ

Х. П. Тахчиди<sup>1,2</sup>, Г. Ф. Качалина<sup>2</sup>, Т. А. Касмынина<sup>2</sup>, Е. П. Тебина<sup>3</sup> ✉

<sup>1</sup> Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва, Россия

<sup>2</sup> Научно-исследовательский центр офтальмологии, Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва, Россия

<sup>3</sup> Педиатрический факультет, Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва, Россия

Одной из актуальных проблем витреоретинальной патологии является процесс формирования эпиретинальной мембраны (ЭРМ) на ретинальной поверхности макулярной зоны. До настоящего времени не существует эффективных методов, оказывающих антипролиферативное и антиконстрикторное действие на фиброзный процесс на начальных этапах его развития. Целью исследования являлась оценка эффективности и безопасности технологии комбинированного лазерного лечения пациентов с начальными стадиями (0–1 стадия) идиопатической ЭРМ. В клиническое исследование были включены 92 пациента (64,7 ± 9,6 лет). Основную группу составили 32 пациента (32 глаза), которым было проведено лазерное лечение по комбинированной технологии. Группу сравнения составили 30 пациентов (30 глаз), лечение которых осуществлялось с применением лазерной коагуляции по типу «решетки». В контрольную группу были включены 30 пациентов (30 глаз), у которых было установлено динамическое наблюдение за естественным течением пролиферативного процесса без лазерного и консервативного лечения. По результатам офтальмологического обследования проводилась оценка некоррегированной остроты зрения, максимально коррегированной остроты зрения, центральной толщины сетчатки и центральной светочувствительности сетчатки. Разработанная технология комбинированного лазерного лечения показала высокую эффективность, заключающуюся в сохранении/увеличении зрительно-функциональных показателей и стабилизации/улучшении морфофункциональных показателей сетчатки в течение всего периода наблюдения. Безопасность и эффективность разработанной лазерной технологии в отношении морфофункциональных структур сенсорной сетчатки отражалась в увеличении показателей светочувствительности сетчатки в различные сроки наблюдения.

**Ключевые слова:** идиопатическая эпиретинальная мембрана, субпороговое микроимпульсное лазерное воздействие, комбинированная лазерная технология, оптическая когерентная томография

**Информация о вкладе авторов:** Х. П. Тахчиди, Г. Ф. Качалина — концепция и дизайн исследования; Е. П. Тебина — сбор и обработка материала; Т. А. Касмынина — лазерное лечение пациента; Т. А. Касмынина, Е. П. Тебина — написание текста; Х. П. Тахчиди — редактирование.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено этическим комитетом РНИМУ имени Н. И. Пирогова (протокол № 160 от 19 декабря 2016 г.).

✉ **Для корреспонденции:** Екатерина Павловна Тебина  
Волоколамское шоссе, д. 30, корп. 2, г. Москва, 123182; ekaterinatebina@mail.ru

**Статья получена:** 18.03.2019 **Статья принята к печати:** 02.04.2019 **Опубликована онлайн:** 30.04.2019

**DOI:** 10.24075/vrgmu.2019.033

## COMBINED LASER TREATMENT OF EARLY IDIOPATHIC EPIRETINAL MEMBRANE: CLINICAL EVALUATION OF THE DEVELOPED TECHNIQUE

Takhchidi KP<sup>1,2</sup>, Kachalina GF<sup>2</sup>, Kasminina TA<sup>2</sup>, Tebina EP<sup>3</sup> ✉

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

<sup>2</sup> Research Center for Ophthalmology, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

<sup>3</sup> Faculty of Pediatrics, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

Process of development of epiretinal membrane (ERM) on the retinal surface of macular area is one of the important problems associated with vitreoretinal pathologies. Up to the present day, there has not been developed an effective method to arrest fibrosis at the early stages of its development. This study aimed to evaluate efficacy and safety of the new combined laser technique designed to treat early idiopathic ERM (stages 0–1). Ninety-two patients aged 64.7 ± 9.6 years (mean) participated in the clinical research. They were divided into three groups: treatment group ( $n = 32$ ), patients whose ERM was treated following the new combined laser technique; comparison group ( $n = 30$ ), patients who underwent grid laser coagulation; control group ( $n = 30$ ), no treatment, observation of the natural course. Based on the results of examination of the patients, we assessed uncorrected visual acuity, best corrected visual acuity, central retinal thickness, central retinal sensitivity. Assessed against the results registered in comparison and control groups, the developed combined laser treatment technique applied in the treatment group proved to be highly effective in maintaining/improving visual functional indicators and stabilizing/improving morphofunctional indicators throughout the entire period of observation. As pertains to the morphological and functional structures of sensory retina, the technique enabled retinal sensitivity improvement at different stages of observation, which reflects its safety and efficacy.

**Keywords:** idiopathic epiretinal membrane, subthreshold micropulse laser exposure, combined laser technology, optical coherent tomography

**Author contribution:** Takhchidi KP and Kachalina GF conceived and designed the study; Tebina EP collected and analyzed the data; Kasminina TA performed laser therapy; Kasminina TA, and Tebina EP wrote the manuscript; Takhchidi KP revised the manuscript.

**Compliance with ethical standards:** the study was approved by Russian National Research Medical University (Protocol № 160 of December 19, 2016).

✉ **Correspondence should be addressed:** Ekaterina P. Tebina  
Volokolamskoe shosse 30, bld. 2, 123182; ekaterinatebina@mail.ru

**Received:** 18.03.2019 **Accepted:** 02.04.2019 **Published online:** 30.04.2019

**DOI:** 10.24075/brsmu.2019.033

За последние годы изучения фиброзных процессов в офтальмологии проведено немало научных исследований, посвященных проблеме формирования соединительной

ткани в полости глазного яблока [1–4]. Тем не менее особое место среди витреоретинальной патологии занимает фиброзное поражение макулярной зоны, приводящее к

значительному снижению и зачастую к необратимой потере зрительной функции у людей трудоспособного возраста.

Несмотря на прогресс в изучении этиопатогенетических механизмов формирования эпиретинальной мембраны (ЭРМ), аспекты их развития до сих пор остаются неизвестными [5]. К основным этиологическим факторам данной патологии относят: нарушение биомеханических процессов на границе витреоретинального интерфейса, а именно — заднюю отслойку стекловидного тела (ЗОСТ), наличие «микропор» во внутренней пограничной мембране (ВПМ) и патологические изменения в микроциркуляторном русле макулярной зоны [6–8]. Вне зависимости от патогенетического механизма развития ЭРМ ключевую роль в ее формировании и прогрессировании отводят миграции и пролиферации различных типов клеток, таких как глиальные клетки (ретинальные клетки Мюллера, астроциты и микроглия), гиалоциты, макрофаги, ретинальный пигментный эпителий (РПЭ) и фибробласты на ретинальной поверхности [9, 10]. Под воздействием цитокинов и факторов роста представленный ряд клеток подвергается трансдифференцировке в фенотип, схожий с миофибробластами, которые при асептическом воспалении подвергаются апоптозу [11, 12]. В случае фиброзных заболеваний миофибробласты активизируются и при длительной персистенции приводят к чрезмерному отложению коллагена с последующим его ремоделированием [13]. Выделяют три основные стадии развития ЭРМ: 0 — «целлофановой макулопатии», 1 — «гофрированной целлофановой макулопатии» и 2 — «макулярного сморщивания» [14]. В зависимости от стадии развития ЭРМ клинические проявления заболевания могут варьироваться от полного отсутствия симптомов до значительного ухудшения зрительной функции [15]. На сегодняшний день не существует безопасных и эффективных методов, способных затормозить клеточную пролиферацию и замедлить прогрессирование фиброзного процесса на его ранних стадиях.

ЭРМ на поздних стадиях его развития успешно лечится при помощи витреоретинальной хирургии. Несмотря на эффективность оперативного вмешательства, в ходе гистологических исследований было установлено, что в процессе пиллинга ВПМ происходит повреждение клеток Мюллера с нарушением архитектоники и прочности сетчатки [16, 17]. В результате нарушения биомеханических свойств сетчатки восстановление

зрительной функции в послеоперационном периоде происходит не полностью, а лишь в 5–25% случаев [18]. К тому же данный вид лечения применим при наличии выраженных клинических симптомов, связанных с изменением и/или снижением зрительной функции. До этого момента основной тактикой ведения пациентов с ЭРМ является динамическое наблюдение [19].

Таким образом, актуальным остается вопрос разработки нового эффективного и безопасного метода лечения ЭРМ на начальных стадиях. С целью стабилизации и/или улучшения показателей зрительной функции у пациентов с ЭРМ на базе Научно-исследовательского центра офтальмологии РНИМУ имени Н. И. Пирогова была разработана комбинированная лазерная технология, сочетающая в себе две разные по механизму действия методики: лазерную коагуляцию по типу «решетки» и субпороговое микроимпульсное воздействие лазерного излучения с длиной волны 577 нм (патент РФ № 2634684 от 2 ноября 2017 г.) [20]. В статье представлены результаты клинического исследования эффективности и безопасности разработанной методики лечения пациентов с начальными стадиями (0–1) идиопатической эпиретинальной мембраны.

## ПАЦИЕНТЫ И МЕТОДЫ

В исследование включено 92 пациента (64,7 ± 9,6 лет). Критерии включения: пациенты любого пола; наличие начальной стадии идиопатической ЭРМ (0–1 стадия) с сопутствующей патологией хрусталика: артифакция или начальная катаракта.

Все пациенты методом простой рандомизации были разделены на три группы, в зависимости от предполагаемой тактики ведения. Основную группу составили 32 пациента (32 глаза), которым было проведено лазерное лечение по комбинированной технологии. Группу сравнения составили 30 пациентов (30 глаз), лечение которых осуществляли с применением лазерной коагуляции по типу «решетки». В контрольную группу были включены 30 пациентов (30 глаз), у которых было установлено динамическое наблюдение за естественным течением пролиферативного процесса без лазерного и консервативного лечения.

Технология комбинированного лазерного лечения включает в себя сочетание лазерной коагуляции по типу «решетки» и субпорогового микроимпульсного лазерного воздействия [20]. Проведение лазерного лечения

Таблица 1. Протокол разработанной комбинированной лазерной технологии для лечения пациентов с ЭРМ

Энергетические параметры	Лазерная коагуляция по типу «решетки»	
	Длина волны (нм)	577
	Диаметр пятна (мкм)	100
	Мощность излучения (мВт)	50
	Длительность микроимпульса (мкс)	50
	Количество аппликаторов	60–90
	Субпороговое микроимпульсное лазерное воздействие	
	Длина волны (нм)	577
	Диаметр пятна (мкм)	100
	Мощность излучения (мВт)	50
	Длительность микроимпульса (мкс)	50
	Длительность пакета микроимпульсов (мс)	30
Сквозность (%)	4,7	

осуществляли на установке «IRIDEX IQ 577» (IRIDEX Corporation, Mountain View; США), которая позволяет работать как в непрерывном, так и в микроимпульсном режимах.

Первым этапом лечения основной группе проводили лазерную коагуляцию сетчатки по типу «решетки» по всей поверхности ЭРМ, исключая аваскулярную зону, со следующими энергетическими параметрами: длина волны 577 нм, мощность 50 мВт, длительность импульса 0,05 с, диаметр пятна 100 мкм, расстояние между лазеркоагулятами 150 мкм. Через 2 недели проводили второй этап комбинированного лазерного лечения: субпороговое микроимпульсное лазерное воздействие длиной волны 577 нм, длительностью пакета 30 мс, длительностью микроимпульса 50 мкс, скважностью 4,7%, диаметром пятна 100 мкм, мощностью 50 мВт (табл. 1). В основной группе было проведено три сеанса субпорогового

микроимпульсного лазерного воздействия с интервалом 1 месяц, в связи с отсутствием статистически значимых изменений после 4-го сеанса.

Все пациенты были обследованы с помощью стандартных офтальмологических и специальных методов исследования: мультиспектрального исследования с использованием различных фильтров (Blue, Green, Infrared Reflectance, MultiColor), спектральной оптической когерентной томографии (СОКТ) с помощью «Spectralis OCT» (Heidelberg Engineering Inc; Германия) и микропериметрии MAIA (CenterVue; Италия).

Обследования всех клинических групп проводили до начала исследования, а также в сроки — 3 месяца, 6 месяцев, 1 год, 2 года, 3 года, 4 года и 5 лет. Дополнительно в первых двух группах обследования проводили после каждого этапа лазерного воздействия.

Таблица 2. Динамика клинико-функциональных показателей пациентов с ЭРМ в течение 5 лет

Период наблюдения	Основная группа	Группа сравнения	Контрольная группа	ANOVA, <i>p</i>
<b>Средняя некорректированная острота зрения</b>				
До лечения	0,45 ± 0,31	0,44 ± 0,26	0,64 ± 0,23	0,01
3 месяца	0,57 ± 0,3*	0,47 ± 0,27*	0,63 ± 0,23*	0,08
6 месяцев	0,59 ± 0,31*	0,43 ± 0,27*	0,6 ± 0,24*	0,13
1 год	0,61 ± 0,31*	0,42 ± 0,27*	0,56 ± 0,26*	0,04
2 год	0,61 ± 0,3*	0,42 ± 0,27*	0,53 ± 0,25*	0,03
3 год	0,6 ± 0,3*	0,42 ± 0,27*	0,48 ± 0,26*	0,03
4 год	0,61 ± 0,2*	0,42 ± 0,27*	0,45 ± 0,27*	0,01
5 год	0,61 ± 0,29*	0,41 ± 0,27*	0,43 ± 0,28*	0,01
<b>Средняя максимально корригированная острота зрения</b>				
До лечения	0,9 ± 0,13	0,86 ± 0,15	0,87 ± 0,14	0,53
3 месяца	0,95 ± 0,1*	0,85 ± 0,16	0,85 ± 0,14*	0,007
6 месяцев	0,95 ± 0,1*	0,85 ± 0,16	0,85 ± 0,14*	0,007
1 год	0,95 ± 0,1*	0,83 ± 0,17*	0,83 ± 0,17*	0,001
2 год	0,95 ± 0,1*	0,81 ± 0,18*	0,8 ± 0,17*	0,000
3 год	0,94 ± 0,1*	0,78 ± 0,19*	0,75 ± 0,2*	0,000
4 год	0,94 ± 0,1*	0,76 ± 0,19*	0,7 ± 0,23*	0,000
5 год	0,94 ± 0,1*	0,73 ± 0,21*	0,68 ± 0,24*	0,000
<b>Средняя светочувствительность сетчатки в центральной зоне</b>				
До лечения	26,3 ± 1,65	26,3 ± 1,57	27,1 ± 1,52	0,13
3 месяца	27,0 ± 1,5*	26,6 ± 1,68	26,8 ± 1,56*	0,61
6 месяцев	27,1 ± 1,5*	26,5 ± 1,73	26,6 ± 1,62*	0,51
1 год	27,1 ± 1,5*	26,2 ± 1,5	26,2 ± 1,68*	0,06
2 год	27,1 ± 1,5*	25,9 ± 1,52*	26 ± 1,68*	0,01
3 год	27,1 ± 1,5*	25,7 ± 1,69*	25,7 ± 1,78*	0,002
4 год	27,1 ± 1,5*	25,6 ± 1,71*	25,5 ± 1,92*	0,000
5 год	27,1 ± 1,5*	25,5 ± 1,79*	25,4 ± 1,88*	0,000
<b>Средняя толщина сетчатки в центральной зоне</b>				
До лечения	282,8 ± 27,1	292,4 ± 62,2	301,4 ± 44,8	0,37
3 месяца	277,6 ± 42,9	291,7 ± 63,6	308,8 ± 45,1*	0,06
6 месяцев	277,5 ± 42,5	293,6 ± 64,6	316,6 ± 43,2*	0,01
1 год	277,7 ± 44,4	300 ± 65,6*	323,6 ± 43,6*	0,003
2 год	277,1 ± 41,5	303,9 ± 65,1*	331,5 ± 49*	0,000
3 год	274,9 ± 41,2*	304 ± 63,9*	338,1 ± 48,1*	0,000
4 год	274,9 ± 41,8*	306,5 ± 63,4*	345,9 ± 48,1*	0,000
5 год	275,1 ± 42,2*	309,7 ± 63,2*	349,7 ± 49,1*	0,000

Примечание: \* — данные статистически значимо отличаются от исходных значений, *t*-критерий Стьюдента для повторных измерений (*p* < 0,05), ANOVA (*p* < 0,05).

Клиническую оценку безопасности лазерного лечения выполняли на основе данных светочувствительности сетчатки в центральной зоне.

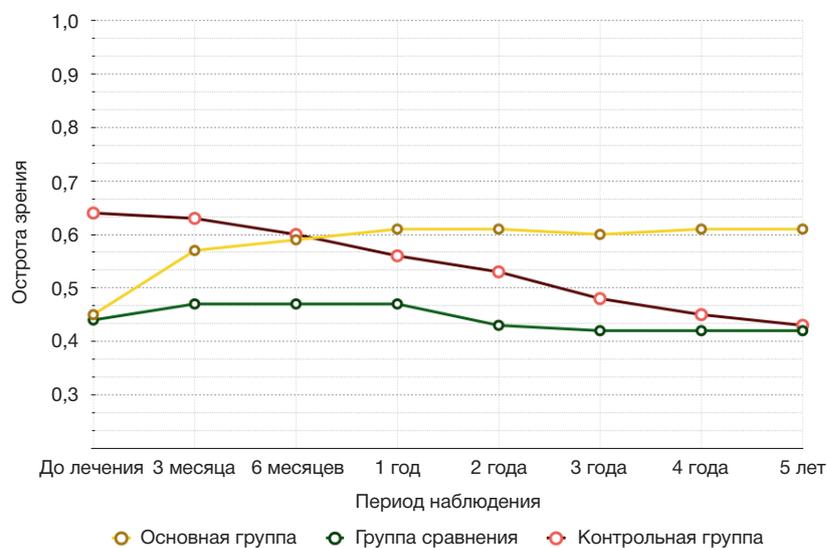
Основными исследуемыми показателями являлись некоррегированная острота зрения (НКОЗ), максимально коррегированная острота зрения (МКОЗ), толщина сетчатки в центральной зоне (ЦТС) и центральная светочувствительность сетчатки. Показатели подчинялись нормальному распределению и оценивались с помощью методов параметрической статистики. Для оценки различий между полученными результатами лечения в различные сроки наблюдения относительно исходных значений в каждой группе применяли *t*-критерий Стьюдента для повторных измерений. Для оценки достоверности различий при сравнении результатов более чем двух независимых групп использовали однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA). Статистически значимыми считали результаты при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ

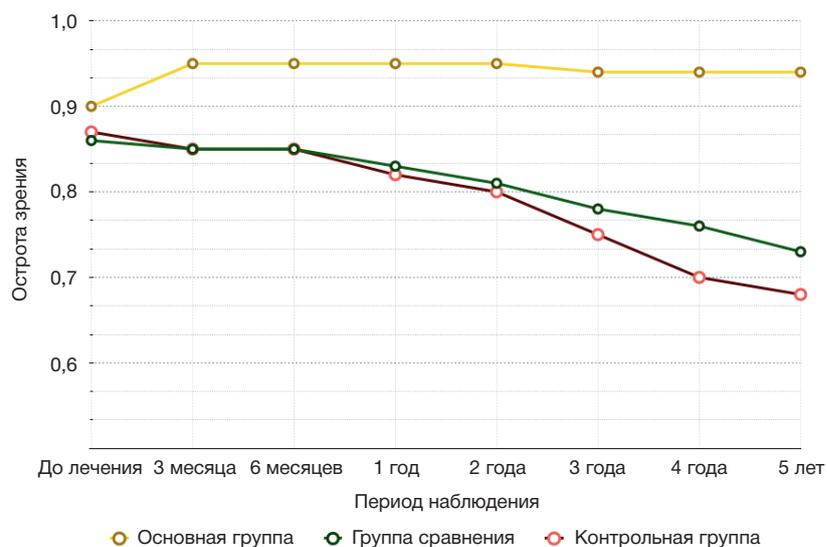
В основной группе пациентов (32 глаза) НКОЗ оказалась равной  $0,45 \pm 0,31$ , МКОЗ составила  $0,9 \pm 0,13$ . По данным компьютерной микропериметрии, средняя светочувствительность (СЧ) сетчатки составила  $26,3 \pm 1,65$  дБ. По данным ОКТ, средняя толщина сетчатки в центральной зоне достигала значений  $282,8 \pm 27,1$  мкм.

В группе сравнения (30 глаз) предоперационные показатели средней НКОЗ составили  $0,44 \pm 0,26$ , средняя МКОЗ —  $0,86 \pm 0,15$ . Средняя СЧ сетчатки была равна  $26,3 \pm 1,57$ . По данным СОКТ, средняя толщина сетчатки в центральной зоне составила  $292,4 \pm 62,2$  мкм.

По результатам обследования группы контроля (30 глаз), средняя НКОЗ —  $0,64 \pm 0,23$ , МКОЗ —  $0,87 \pm 0,14$ . По результатам компьютерной микропериметрии, средняя СЧ сетчатки составила  $27,1 \pm 1,52$  дБ. По данным СОКТ,



**Рис. 1.** Динамика средней НКОЗ пациентов исследуемых групп. В основной группе пациентов (желтая линия) показатели средней НКОЗ достигли статистически достоверного увеличения в сроки с 3-го по 12-й месяцы наблюдения с сохранением максимальных значений до окончания срока наблюдения. В группе сравнения (зеленая линия) значения средней НКОЗ достигли статистически значимого увеличения в сроки до 3-х месяцев с дальнейшим снижением показателей. В группе контроля (красная линия) показатели средней НКОЗ имели достоверное снижение на всех сроках наблюдения



**Рис. 2.** Динамика средней МКОЗ пациентов исследуемых групп. В основной группе пациентов (желтая линия) показатели средней МКОЗ достигли статистически достоверного увеличения в сроки с 3-го по 12-й месяцы наблюдения и сохраняли максимальные значения до окончания всего срока наблюдения. В группе сравнения (зеленая линия) средняя МКОЗ не имела статистически значимых различий в первые 3 месяца; в дальнейшем ее показатели снижались. В группе контроля (красная линия) показатели средней МКОЗ снижались на всех сроках наблюдения

средняя толщина сетчатки в центральной зоне достигала значений  $301,4 \pm 44,8$  мкм.

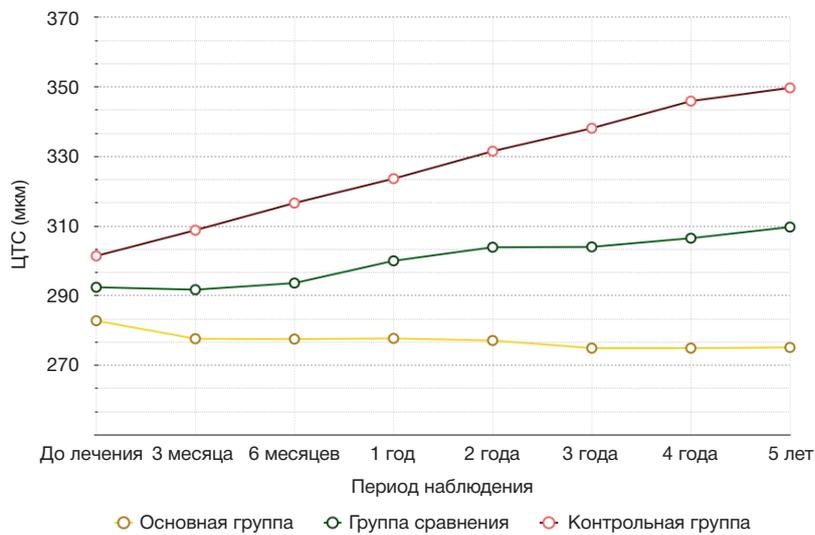
Анализ клинико-функциональных результатов лечения и динамического наблюдения пациентов с ЭРМ в клинических группах представлен в табл. 2.

В группе контроля показатели средней НКОЗ и средней МКОЗ имели достоверное снижение на всех сроках наблюдения (рис. 1, 2). По данным ОКТ, значения средней ЦТС статистически достоверно увеличивались в период от 3-х месяцев до окончания наблюдения (рис. 3). Средняя СЧ сетчатки в центральной зоне статистически значимо снижалась в сроки от 3-х месяцев до окончания наблюдения (рис. 4). По данным мультиспектрального исследования было отмечено прогрессирование пролиферативного процесса на ретинальной поверхности (рис. 5А, Б).

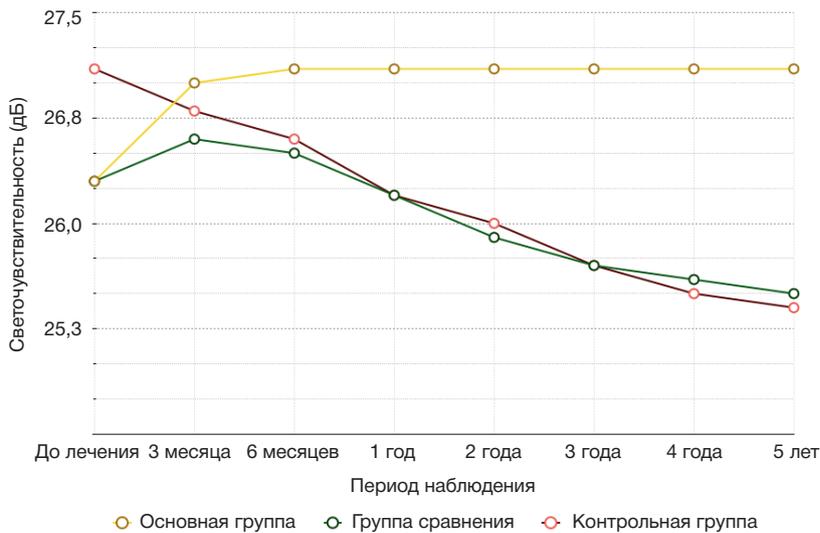
В группе сравнения значения средней НКОЗ достигли статистически значимого увеличения в сроки до 3-х месяцев,

однако с 6 месяцев до окончания наблюдения выявлено статистически значимое снижение показателей (рис. 1). Средняя МКОЗ не имела статистически значимых различий в первые 3 месяца наблюдения, однако после 12 месяцев отмечено постепенное снижение показателя (рис. 2). При анализе средней ЦТС в первые 6 месяцев наблюдения различий от исходных значений не выявлено, однако после 12 месяцев отмечено статистически значимое увеличение ЦТС (рис. 3) и прогрессирование формирования ЭРМ (рис. 6А, Б). По данным компьютерной микропериметрии, показатели средней светочувствительности сетчатки не имели статистически значимых различий в первые 12 месяцев, при этом статистически значимое снижение значений наблюдали в сроки от 2 до 5 лет (рис. 4).

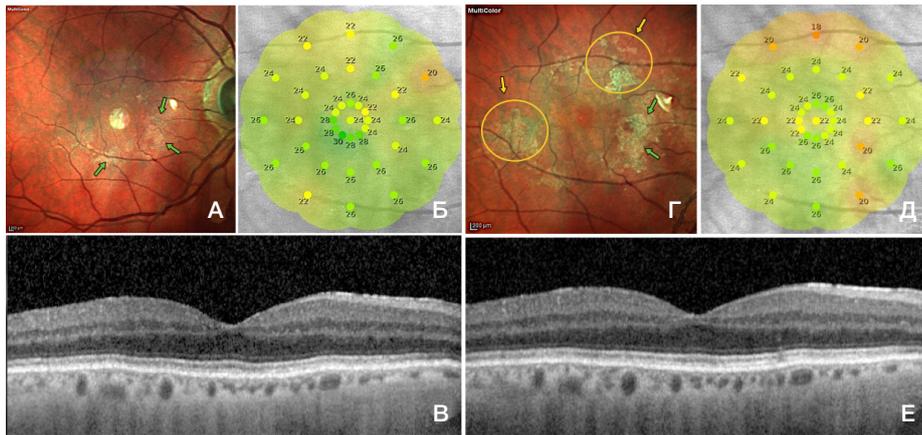
При сравнении результатов лечения и динамического наблюдения между клиническими группами было установлено, что только в основной группе наблюдалось статистически значимое увеличение зрительно-функциональных показателей



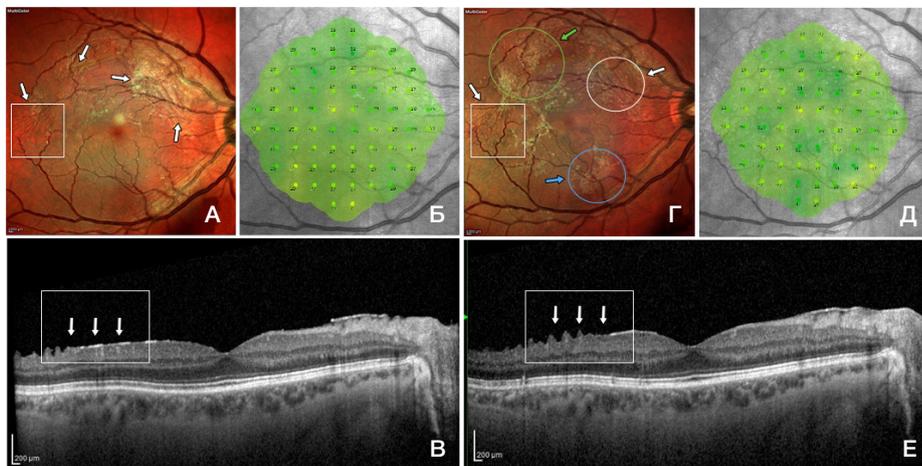
**Рис. 3.** Динамика средней ЦТС в исследуемых группах пациентов. В основной группе (желтая линия) при анализе средней ЦТС в первые 6 месяцев наблюдения статистически значимых различий с исходными значениями не выявлено, однако в сроки от 12 месяцев наблюдения прослеживается статистически значимое уменьшение показателей. В группе сравнения (зеленая линия) при анализе средней ЦТС в первые 6 месяцев наблюдения статистически значимых различий с исходными значениями не выявлено, однако в сроки от 12 месяцев наблюдения прослеживается статистически значимое увеличение показателей ЦТС. В группе контроля (красная линия) показатели средней ЦТС имели статистически достоверное увеличение в сроки от 3-х месяцев до окончания сроков наблюдения



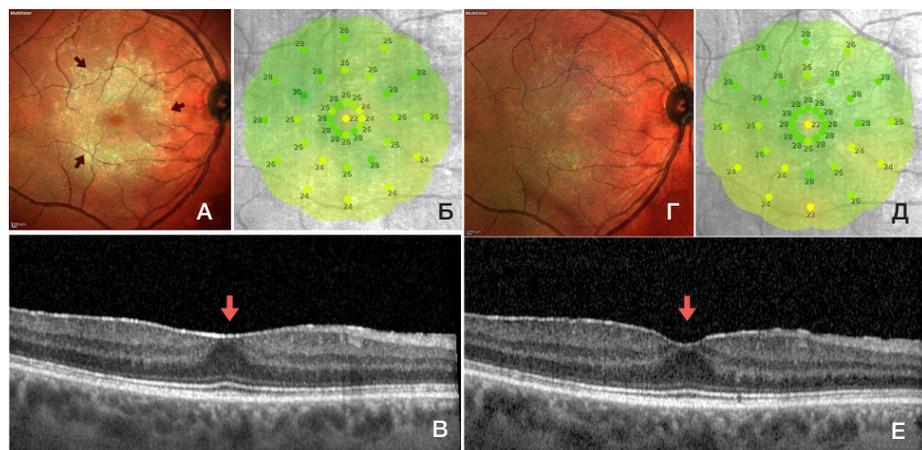
**Рис. 4.** Динамика средней СЧ сетчатки в исследуемых группах пациентов. В основной группе (желтая линия) средняя СЧ сетчатки имела достоверное статистически значимое увеличение показателей в сроки с 3-го по 12-й месяцы наблюдения, после чего сохраняла максимальные значения до окончания срока наблюдения. В группе сравнения (зеленая линия) показатели средней СЧ сетчатки не имели статистически значимых различий в первые 12 месяцев, однако после двух лет наблюдения показатель снижался. В группе контроля (красная линия) показатели средней СЧ сетчатки достоверно снижались после 3-го месяца наблюдения



**Рис. 5.** Контрольная группа. Пациент Э., 58 лет. В начале исследования: по данным мультиспектрального исследования «Multicolor», в желто-зеленом цвете визуализируются поверхность и границы ЭРМ (А); по данным компьютерной микропериметрии, средняя СЧ сетчатки — 24,9 дБ (Б); по данным СОКТ, на поверхности ВПМ определяется линия гиперрефлексивности, соответствующая ЭРМ, фовеолярный профиль сохранен (В). В срок наблюдения 1 год: по данным мультиспектрального исследования, на поверхности сетчатки отмечается тенденция к прогрессированию пролиферативного процесса и появлению новых очагов ЭРМ (желтая стрелка), а также увеличение площади фиброзного очага в динамике (зеленая стрелка) (Г); средняя СЧ сетчатки — 23,5 дБ (Д); по данным СОКТ, на поверхности ВПМ сохраняется наличие ЭРМ, фовеолярный профиль сохранен (Е)



**Рис. 6.** Группа сравнения. Пациент С., 56 лет. В начале исследования: по данным мультиспектрального исследования «Multicolor», в желто-зеленом цвете визуализируются поверхность и границы ЭРМ (белая стрелка) (А); по данным компьютерной микропериметрии, средняя СЧ сетчатки — 28,2 дБ (Б); по данным СОКТ, на поверхности ВПМ определяется линия гиперрефлексивности, соответствующая ЭРМ (белая стрелка), фовеолярный профиль сохранен, толщина сетчатки в центральной зоне — 239 мкм (В). В двухлетний срок наблюдения по данным мультиспектрального исследования, на фоне лазерных коагулятов определяются участки инволюции ЭРМ (белая стрелка), участки активации ЭРМ (зеленая стрелка) и участки образования новых очагов фиброза (синяя стрелка) (Г); средняя СЧ сетчатки — 27,8 дБ (Д); по данным СОКТ, линия гиперрефлексивности (ЭРМ) практически отсутствует (белая стрелка), соответствующий зоне на «Multicolor» (белый квадрат) фовеолярный профиль сохранен, толщина сетчатки в центральной зоне — 237 мкм (Е)



**Рис. 7.** Основная группа. Пациент И., 68 лет. До начала исследования: по данным мультиспектрального исследования («Multicolor») в желто-зеленом цвете, визуализируются поверхность и границы ЭРМ в начале исследования (красная стрелка) (А); по данным компьютерной микропериметрии, средняя СЧ сетчатки — 26,3 дБ (Б); по данным СОКТ, на поверхности ВПМ определяется линия гиперрефлексивности (соответствующая ЭРМ), фовеолярный профиль сглажен (красная стрелка), толщина сетчатки в центральной зоне составила 257 мкм (В). В пятилетний срок наблюдения по данным «Multicolor», определяется полная инволюция ЭРМ (Г); средняя светочувствительность сетчатки — 26,6 дБ (Д); по данным СОКТ: визуализируется менее «плотная» линия гиперрефлексивности (ЭРМ) с формированием фовеолярного профиля (красная стрелка), толщина сетчатки в центральной зоне составила 234 мкм (Е)

(НКОЗ, МКОЗ и СЧ) и уменьшение значений средней ЦТС с инволюцией ЭРМ (рис. 7А, Б). Данные показатели оставались максимально стабильными на всех сроках наблюдения, в отличие от группы сравнения, в которой был зарегистрирован кратковременный подъем показателей в сроки до 3 месяцев (НКОЗ, МКОЗ, средняя ЦТС) с последующим их плавным снижением. В группе контроля зрительно-функциональные показатели статистически достоверно снизились на всех сроках наблюдения (рис. 1–4).

При проведении лазерного лечения биомеханического повреждения сенсорной сетчатки не было обнаружено ни в одном случае, что подтверждается данными компьютерной микропериметрии и СОКТ.

## ВЫВОДЫ

Предложенная технология комбинированного лазерного лечения показала высокую эффективность по отношению к группе контроля и группе сравнения, отражаясь в сохранении/увеличении зрительно-функциональных показателей и стабилизации/улучшении морфо-функциональных показателей сетчатки в течение всего периода наблюдения. Показана безопасность разработанной технологии в отношении морфо-функциональных структур сенсорной сетчатки, которая отражается в увеличении показателей светочувствительности сетчатки на различных сроках наблюдения.

## Литература

1. Балашова Л. М., Зайцева Н. С., Саксонова Е. О. и др. Патогенетические факторы развития пролиферативной витреоретинопатии при дистрофической отслойке сетчатки. Проллиферативный синдром в офтальмологии. 2000; (1): 12–3.
2. Campochiaro PA. Pathogenic mechanisms in proliferative vitreoretinopathy. Archives of ophthalmology. 1997; 115 (2): 407–8.
3. Pastor JC. Proliferative vitreoretinopathy: an overview. Survey of Ophthalmology. 1998; 43 (1): 3–18.
4. Качалина Г. Ф., Дога А. В., Касмынина Т. А., Куранова О. И. Эпиретинальный фиброз: патогенез, исходы, способы лечения. Офтальмохирургия. 2013; (4): 108–10.
5. Захаров В. Д., Борзенко С. А., Горшков И. М., Колесник С. В., Колесник А. И., Миридонова А. В. Этиопатогенетические аспекты и роль структур витреоретинального интерфейса в формировании идиопатических эпиретинальных мембран. Практическая медицина. 2018; 114 (3): 71–6.
6. Пономерёва Е. Н., Казарян А. А. Структурно-функциональные особенности макулярной зоны сетчатки при идиопатической эпиретинальной мембране. Российский офтальмологический журнал. 2013; 6 (2): 66–9.
7. Guidry C. The role of Muller cells in fibrocontractive retinal disorders. Progress in Retinal and Eye Research. 2005; 24 (1): 75–86.
8. Harada C, Mitamura Y, Harada T. The role of cytokines and trophic factors in epiretinal membranes: Involvement of signal transduction in glial cells. Progress in Retinal and Eye Research. 2006; 25 (2): 149–64.
9. Zhao F, Gandorfer A, Haritoglou C. Epiretinal cell proliferation in macular pucker and vitreomacular traction syndrome: analysis of flat-mounted internal limiting membrane specimens. Retina. 2013; 33 (1): 77–88.
10. Joshi M, Agrawal S, Christoforidis JB. Inflammatory mechanisms of idiopathic epiretinal membrane formation. Mediators Inflammation. 2013; DOI: 10.1155/2013/192582.
11. Spica S, Giusti I, Rieder F, Latella G. Cellular and molecular mechanisms of intestinal fibrosis. World Journal of Gastroenterology. 2012; 18 (28): 3635–61.
12. Шурыгина И. А. и др. Фибробласты и их роль в развитии соединительной ткани. Сибирский медицинский журнал (Иркутск). 2012; 110 (3): 8–12.
13. Hinz B, Gabbiani G. Fibrosis: recent advances in myofibroblast biology and new therapeutic perspectives. Molecular Biology Reports. 2010; (2): 78.
14. Gass JDM. Macular dysfunction caused by epiretinal membrane contraction. In: Stereoscopic Atlas of Macular Diseases: Diagnosis and Treatment. 1997; 2 (4): 938–50.
15. Куранова О. И. Изучение эффективности микроимпульсного лазерного воздействия длиной волны 577 нм при макулярном отеке после хирургического удаления идиопатической эпиретинальной мембраны (диссертация). 2014; 33.
16. Захаров В. Д., Борзенко С. А., Горшков И. М., Колесник С. В., Колесник А. И., Куприянова А. Г., Островский Д. С., Миридонова А. В. Клинико-экспериментальная оценка раннего хирургического лечения идиопатических эпиретинальных мембран у пациентов с начальными признаками патологического процесса. Современные технологии в офтальмологии. 2018; 21 (1): 127–30.
17. Pichi F, Lembo A, Morara M, Veronese C, Alkabes M, Nucci P, Ciardella A. Early and late inner retinal changes after inner limiting membrane peeling. International Ophthalmology. 2013; 34 (2): 437–46.
18. Mazit C, Scholtes F. Assessment of macular profile using optical coherence tomography after epiretinal membrane surgery. Journal Français D'Ophtalmologie. 2008; 31 (7): 667–72.
19. Bu S, Kuijter R, Li X, Hooymans J, Los L. Idiopathic epiretinal membrane. Retina. 2014; 34 (12): 2317–35.
20. Тахчиди Х. П., Качалина Г. Ф., Касмынина Т. А., Тебина Е. П. Способ комбинированного лазерного лечения начальной стадии эпиретинального фиброза. Патент РФ № 2634684. 02.11.2017.

## References

1. Balashova LM, Zaiceva NS, Saksonova EO i dr. Patogeneticheskie faktory razvitiya proliferativnoy vitreoretinopatii pri distroficheskoy otsojke setchatki. Proliferativnyy sindrom v oftal'mologii. 2000; (1): 12–3.
2. Campochiaro PA. Pathogenic mechanisms in proliferative vitreoretinopathy. Archives of ophthalmology. 1997; 115 (2): 407–8.
3. Pastor JC. Proliferative vitreoretinopathy: an overview. Survey of Ophthalmology. 1998; 43 (1): 3–18.
4. Kachalina GF, Doga AV, Kasmyнина TA, Kuranova OI. Epiretinal'nyy fibroz: patogenez, iskhody, sposoby lecheniya. Oftal'mohirurgiya. 2013; (4): 108–10.
5. Zaharov VD, Borzenok SA, Gorshkom IM, Kolesnik SV, Kolesnik AI, Miridonova AV. Etiopatogeneticheskie aspekty i rol' struktur vitreoretinal'nogo interfejsa v formirovaniy i diopaticheskikh epiretinal'nykh membran. Prakticheskaya medicina. 2018; 114 (3): 71–6.
6. Ponomeryova EN, Kazaryan AA. Strukturno-funkcional'nye osobennosti makulyarnoy zony setchatki pri idiopaticheskoy epiretinal'noj membrane. Rossijskij oftal'mologicheskij zhurnal. 2013; 6 (2): 66–9.
7. Guidry C. The role of Muller cells in fibrocontractive retinal disorders. Progress in Retinal and Eye Research. 2005; 24 (1): 75–86.
8. Harada C, Mitamura Y, Harada T. The role of cytokines and

- trophic factors in epiretinal membranes: Involvement of signal transduction in glial cells. *Progress in Retinal and Eye Research*. 2006; 25 (2): 149–64.
9. Zhao F, Gandorfer A, Haritoglou C. Epiretinal cell proliferation in macular pucker and vitreomacular traction syndrome: analysis of flat-mounted internal limiting membrane specimens. *Retina*. 2013; 33 (1): 77–88.
  10. Joshi M, Agrawal S, Christoforidis JB. Inflammatory mechanisms of idiopathic epiretinal membrane formation. *Mediators Inflammation*. 2013; DOI: 10.1155/2013/192582.
  11. Specia S, Giusti I, Rieder F, Latella G. Cellular and molecular mechanisms of intestinal fibrosis. *World Journal of Gastroenterology*. 2012; 18 (28): 3635–61.
  12. Shurygina IA i dr. Fibroblasty I ih rol' v razvitii soedinitel'noj tkani. *Sibirskii medicinski zhurnal*. 2012; 110 (3): 8–12.
  13. Hinz B, Gabbiani G. Fibrosis: recent advances in myofibroblast biology and new therapeutic perspectives. *Molecular Biology Reports*. 2010; (2): 78.
  14. Gass JDM. Macular dysfunction caused by epiretinal membrane contraction. In: *Stereoscopic Atlas of Macular Diseases: Diagnosis and Treatment*. 1997; 2 (4): 938–50.
  15. Kuranova OI. Izuchenie effektivnosti mikroimpul'snogo lazernogo vozdejstviya dlinoj volny 577 nm pri makulyarnom oteke posle hirurgicheskogo udaleniya idiopaticheskoj epiretinal'noj membrany (dissertation). 2014; 33.
  16. Zaharov VD, Borzenok SA, Gorshkov IM, Kolesnik SV, Kolesnik AI, Kupriyanova AG, Ostrovskij DS, Miridonova AV. Kliniko-eksperimental'naya ocenka rannego hirurgicheskogo lecheniya idiopaticheskih epiretinal'nyh membran u pacientov s nachal'nymi priznakami patologicheskogo processa. *Sovremennye tekhnologii v oftal'mologii*. 2018; 21 (1): 127–30.
  17. Pichi F, Lembo A, Morara M, Veronese C, Alkabes M, Nucci P, Ciardella A. Early and late inner retinal changes after inner limiting membrane peeling. *International Ophthalmology*. 2013; 34 (2): 437–46.
  18. Mazit C, Scholtes F. Assessment of macular profile using optical coherens tomography after epiretinal membrane surgery. *Journal Français D'Ophtalmologie*. 2008; 31 (7): 667–72.
  19. Bu S, Kuijjer R, Li X, Hooymans J, Los L. Idiopathic epiretinal membrane. *Retina*. 2014; 34 (12): 2317–35.
  20. Tahchidi HP, Kachalina GF, Kasmynina TA, Tebina EP. Sposob kombinirovannogo lazernogo lecheniya nachal'noj stadii epiretinal'nogo fibroza. *Russian Federation Patent RF № 2634684*. 02.11.2017.